



HAL
open science

Effets motivationnels de la nicotine chez le rat. Implication des endocannabinoïdes et d'autres systèmes de neurotransmission.

Benoit Forget

► **To cite this version:**

Benoit Forget. Effets motivationnels de la nicotine chez le rat. Implication des endocannabinoïdes et d'autres systèmes de neurotransmission.. Neurosciences [q-bio.NC]. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2007. Français. NNT: . tel-00194206

HAL Id: tel-00194206

<https://theses.hal.science/tel-00194206>

Submitted on 5 Dec 2007

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



**Thèse de Doctorat
de l'Université PIERRE ET MARIE CURIE**

Spécialité
NEUROSCIENCES

Présentée par
Benoît FORGET

Pour obtenir le grade de
DOCTEUR de L'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE

**Effets motivationnels de la nicotine chez le rat.
Implication des endocannabinoïdes et d'autres systèmes de
neurotransmission**

Soutenance le Vendredi 06 Juillet 2007 en présence du jury composé de :

Monsieur le Professeur François COURAUD	Président du jury
Madame le Docteur Florence NOBLE	Rapporteur
Madame le Professeur Catherine BELZUNG	Rapporteur
Monsieur le Docteur Ivan BERLIN	Examineur
Madame le Docteur Sylvie GRANON	Examineur
Monsieur le Docteur Marcello SOLINAS	Examineur
Madame le Docteur Marie-Hélène THIÉBOT	Directeur de thèse

Remerciements

Ce travail a été réalisé au sein de l'UMR 677 (NeuroPsychoPharmacologie). Je tiens à remercier Monsieur le Docteur Michel Hamon pour m'avoir accueilli dans son laboratoire, et plus encore pour ses précieux conseils scientifiques et ses corrections toujours judicieuses.

Je remercie Monsieur le Professeur François Couraud qui me fait l'honneur de présider le jury de cette thèse.

J'exprime toute ma gratitude à Madame le Docteur Florence Noble et à Madame le Professeur Catherine Belzung pour avoir accepté de faire le rapport de ce travail et pour le temps qu'elles y ont consacré.

Je remercie les Docteurs Ivan Berlin, Sylvie Granon et Marcello Solinas d'avoir bien voulu examiner cette thèse.

Je tiens à exprimer ma sincère reconnaissance à Madame le Docteur Marie-Hélène Thiébot qui a initié et dirigé ce travail. Merci d'une part pour m'avoir accepté au sein de ton équipe, et d'autre part pour ta grande disponibilité, ta bonne humeur, ta rigueur et tes compétences scientifiques. Je te suis aussi très reconnaissant pour avoir su me laisser progressivement une certaine autonomie et avoir toujours respecté mes idées. Ces années passées sous ta direction auront été extrêmement enrichissantes.

Merci Valérie Cornillault et Saïda Loukrissi pour votre gentillesse et votre bonne humeur constante.

Je remercie Françoise Saurini et Sandrine Barthélémy qui ont participé à une partie du travail expérimental présenté ici.

Je tiens également à remercier la Société de Tabacologie qui a financé mes 3 années de thèse, la Fondation pour la Recherche Médicale qui a financé 6 mois supplémentaires, ainsi que la MILDT qui a financé une partie du projet.

J'ai noué de sincères amitiés au sein du laboratoire. Merci à Alban, Alice, Patricia, Elodie, Sophie et Tibo ; ces années ne se seraient certainement pas passées aussi sereinement sans vous. Les apéros, les soirées et pour certains les vacances que l'on a passées ensemble resteront inoubliables, et il y en aura d'autres. Mais je n'oublie pas tous les autres étudiants (ainsi que les statutaires) qui ont aussi grandement contribué à la bonne ambiance au sein du laboratoire.

Merci aussi à tous mes amis « hors labo » qui m'ont aidé à m'aérer l'esprit et à ne pas penser qu'au travail (même si ce n'était pas trop difficile...).

Je remercie infiniment tous mes petits rats sans qui ce travail n'aurait pas été possible.

Enfin, un grand merci à mes Parents qui m'ont toujours soutenu, et à mon frère qui m'a précédé dans les études doctorales et m'a fait profiter de ses conseils.

TABLE des MATIÈRES

LISTE DES PRINCIPALES ABRÉVIATIONS	4
LISTE DES PUBLICATIONS.....	5
RÉSUMÉ	6
AVANT PROPOS	8
INTRODUCTION.....	10
<i>I. Tabac et Nicotine</i>	<i>11</i>
A. Le Tabac	11
1. Historique et Généralités.....	11
2. Dépendance au Tabac	13
3. Génétique de la Consommation de Tabac.....	17
4. Stratégies Thérapeutiques	18
B. La Nicotine	20
1. Historique et Généralités.....	20
2. Récepteurs Nicotiniques	21
3. Localisation des Récepteurs Nicotiniques dans le Système Nerveux Central	26
C. Système Cholinergique	27
1. Métabolisme de l'Acétylcholine.....	28
2. Anatomie.....	28
3. Système Cholinergique et Processus de Récompense	30
<i>II. Effets Comportementaux de la Nicotine chez l'Animal.....</i>	<i>31</i>
A. Appétence pour la Nicotine	32
1. Auto-administration.....	32
2. Conditionnement de Place.....	36
3. Discrimination de Drogue.....	38
B. Dépendance à la Nicotine	39
1. Mesure des Symptômes de Sevrage	39
2. « Modèles » de Rechute	40
3. Sensibilisation Comportementale.....	41
C. Autres Effets de la Nicotine	42
1. Cognition.....	42

2. Anxiété	46
3. Activité Motrice.....	47
4. Plasticité Synaptique.....	47
<i>III. Systèmes Neurobiologiques Impliqués dans l'Action de la Nicotine</i>	53
1. Système Dopaminergique	53
2. Système Endocannabinoïde.....	65
3. Système Sérotoninergique.....	82
4. Système Noradrénergique	91
<i>IV. Objectifs de l'étude</i>	97
MATÉRIELS ET MÉTHODES.....	99
<i>I. Animaux</i>	100
<i>II. Procédure de Conditionnement de Place</i>	100
1. Dispositif expérimental.....	100
2. Procédure Générale de Conditionnement	101
3. Analyses Statistiques des Résultats Comportementaux.....	103
<i>III. Autoradiographie</i>	104
1. Prélèvement des cerveaux	104
2. Préparation des coupes.....	104
3. Liaison spécifique du [³⁵ S]GTP-γS induite par la stimulation des récepteurs 5-HT _{1A}	104
4. Liaison spécifique du [³⁵ S]GTP-γS induite par la stimulation des récepteurs CB1	105
5. Liaison spécifique du [³⁵ S]GTP-γS induite par la stimulation des récepteurs dopaminergiques D ₂	106
6. Exposition des lames et développement des films autoradiographiques	106
7. Quantification de la densité optique du marquage autoradiographique	106
8. Liaison spécifique du [³ H]-rimonabant.....	107
9. Analyses Statistiques des Résultats d'Autoradiographie	108
RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX.....	109
<i>I. Les récepteurs cannabinoïdes CB1 sont impliqués dans les effets appétitifs de la nicotine chez le rat</i>	110
A. Introduction	110
B. Résumé des résultats	111
1. Mise en place de la CPP induite par la nicotine.....	111
2. Effet du rimonabant sur l'acquisition de la PPC induite par la nicotine.....	112

3 . Effet du rimonabant sur l'expression à court terme de la PPC induite par la nicotine.....	113
4. Effet du rimonabant sur l'expression à long terme de la PPC induite par la nicotine...	113
C. Conclusions	114
<i>II. Implication des récepteurs nicotiniques dans l'acquisition de la préférence de place induite par la nicotine (Étude complémentaire à l'Article 1).....</i>	<i>116</i>
A. Introduction	116
B. Résultats	117
1. Effet de la mécamylamine sur la PPC induite par la nicotine.....	117
2. Effet de la dihydro-β-érythroïdine sur la PPC induite par la nicotine.....	120
C. Conclusions	123
<i>III. Le système endocannabinoïde est impliqué de façon différentielle dans l'expression à court et à long terme de la préférence de place conditionnée induite par la nicotine chez le rat.....</i>	<i>124</i>
A. Introduction	124
B. Résumé des résultats	125
1. Effet de l'administration chronique de rimonabant post-acquisition sur l'expression à long terme de la PPC induite par la nicotine.....	125
2. Effet du conditionnement à la nicotine, avec ou sans traitement chronique de 3 semaines par le rimonabant, sur la liaison du [³⁵ S]GTP-γS induite par le WIN 55,212-2.....	128
C. Conclusions	129
<i>IV. Études biochimiques complémentaires aux Articles 1 et 2.....</i>	<i>131</i>
A. Introduction	131
B. Résultats	132
1. Effet du conditionnement à la nicotine sur la fonctionnalité des récepteurs CB1 évaluée par mesure de la liaison du [³⁵ S]GTP-γS induite par le WIN 55,212-2.....	132
2. Effet du conditionnement à la nicotine sur la liaison du [³ H]-rimonabant.....	136
3. Effet du conditionnement à la nicotine sur la fonctionnalité des récepteurs dopaminergiques D2 évaluée par la mesure de la liaison du [³⁵ S]GTP-γS induite par la N-n-propylnorapomorphine.....	138
4. Effets du conditionnement à la nicotine avec ou sans rimonabant sur la fonctionnalité des récepteurs CB1 et D2.....	140
C. Conclusion	143
<i>V. Implication des récepteurs α1-adrénergiques dans les effets appétitifs de la nicotine.....</i>	<i>144</i>
A. Introduction	144
B. Résultats	145
1. Effet de la prazosine sur l'acquisition de la PPC induite par la nicotine.....	145

2. Effet de la prazosine sur l'expression à court terme de la PPC induite par la nicotine	147
3. Effet de la prazosine sur l'expression à long terme de la PPC induite par la nicotine ..	148
C. Conclusion	149
VI. Implication des récepteurs 5-HT_{1A} dans les effets appétitifs de la nicotine	169
A. Introduction	169
B. Résultats	170
1. Effet du WAY 100635 sur l'acquisition de la PPC induite par la nicotine	170
2. Effet du WAY 100635 sur l'expression de la PPC induite par la nicotine.....	172
3. Effets du conditionnement à la nicotine sur la fonctionnalité des récepteurs 5-HT _{1A} évaluée par mesure de la liaison de [³⁵ S]GTP- γ S induite par la 5-carboxamidotryptamine.....	173
C. Conclusion	175
VII. Réinstallation par une dose-test de nicotine de la PPC induite par cette drogue....	177
A. Introduction	177
B. Protocole expérimental	177
C. Résultats	178
D. Conclusion	181
DISCUSSION	182
I. Synthèse des résultats.....	183
II. Discussion des Résultats	186
A. PPC induite par la nicotine et nAChRs impliqués	186
1. Établissement de la PPC induite par la nicotine.....	186
2. Expression de la PPC induite par la nicotine	189
B. Implication du système endocannabinoïde dans les effets appétitifs de la nicotine	191
1. Implication des endocannabinoïdes dans l'acquisition de la PPC.....	191
2. Implication des endocannabinoïdes dans l'expression à court terme de la PPC.....	194
3. Hypothèse alternative.....	194
C. Implication des récepteurs α 1-adrénérgiques dans les effets appétitifs de la nicotine	196
1. Acquisition de la PPC	198
2. Expression à court terme de la PPC.....	200
D. Différences entre l'expression à court et à long terme de la PPC induite par la nicotine	201
1. Hypothèse du transfert de la trace mnésique.....	202
2. Hypothèse de la reconsolidation de la trace mnésique	203
3. Hypothèse de l'implication d'une plasticité synaptique dépendante des endocannabinoïdes	204
E. Extinction et réinstallation de la PPC induite par la nicotine	205

1. Extinction.....	206
2. Réinstallation par une dose-test de nicotine.....	206
F. État fonctionnel des récepteurs CB1, D2 et 5-HT _{1A}	207
1. Fonctionnalité des récepteurs CB1.....	208
2. Fonctionnalité des récepteurs D2.....	209
3. Fonctionnalité des récepteurs 5-HT _{1A}	210
G. Activité locomotrice.....	210
1. nAChRs impliqués.....	211
2. Implication des récepteurs CB1 et α 1-adrénergiques.....	211
H. Mécanisme d'action de la nicotine au cours du conditionnement de place.....	212
1. Acquisition de la PPC induite par la nicotine.....	212
2. Expression de la PPC induite par la nicotine.....	214
3. Différences entre l'expression à court et long terme de la PPC.....	216
4. Réinstallation de la PPC.....	217
<i>III. Perspectives.....</i>	<i>218</i>

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	220
---	------------

ARTICLES 1 ET 2.....	269
-----------------------------	------------

Liste des principales abréviations

Certaines abréviations sont laissées en anglais du fait de leur usage courant au sein de la communauté scientifique française

ACh – acetylcholine
 ADHD – « attention deficit and hyperactivity disorder »
 AEA – arachidonyléthanolamide
 AMPc : Adénosine monophosphate cyclique
 ARNm – acide ribo-nucléique messenger
 ATV – aire tegmentale ventrale
 CxPF – cortex préfrontal
 DA – dopamine
 Δ^9 -THC – delta-9-tétrahydrocannabinol
 DH- β -E – dihydro- β -erythroidine
 DSM IV – Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders – Revision IV
 e-CB – endocannabinoïdes
 GABA – acide γ -aminobutyrique
 IMAO – inhibiteur des monoamines oxydases
 IRMf – imagerie à résonance magnétique fonctionnelle
 LC – locus coeruleus
 LTD – long-term depression
 LTP – long-term potentiation
 MAP Kinase – Mitogen-activated protein kinase
 MAO – monoamine oxydase
 MLA – N-méthyllycaconitine
 MSN – medium spiny neuron
 NA – noradrénaline
 NAcc – noyau accumbens
 nAChR – récepteur nicotinique de l'acétylcholine
 nAChR $\beta 2^*$ – récepteur nicotinique de l'acétylcholine contenant la sous-unité $\beta 2$
 NMDA – N-méthyl-D-aspartate
 NRD – noyau raphé dorsal
 PPC – préférence de place conditionnée
 SN – substance noire
 SNc – substance noire « pars compacta »
 SNr – substance noire « pars reticulata »
 SNC – système nerveux central
 TDL – noyau tegmental latero-dorsal
 TPP – noyau tegmental pédonculopontin
 2-AG – Sn-2-arachidonoylglycerol
 $[^{35}\text{S}]\text{GTP}-\gamma\text{S}$ – Guanosine triphosphate-gamma-S, radiomarké par le soufre 35
 5-CSRTT – « 5-choice serial reaction time test »

Liste des publications

ARTICLES ORIGINAUX

Forget B, Hamon M, Thiébot MH (2007) Involvement of $\alpha 1$ -adrenoceptors in the appetitive value of nicotine in rats (en preparation)

Forget B, Barthélémy S, Saurini F, Hamon M, Thiébot MH (2006) differential involvement of the endocannabinoid system in short- and long-term expression of incentive learning supported by nicotine in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 189 (1): 59-69

Forget B, Hamon M, Thiébot MH (2005) Cannabinoid CB1 receptors are involved in motivational effects of nicotine in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 181: 722-34

COMMUNICATIONS

Forget B, Hamon M, Thiébot MH. (2006) The central cannabinoid CB1 receptors are necessary to the perception of the motivational value of nicotine and to the short-term, but not long term, ability of nicotine-paired cues to elicit approach behavior in rats. 14th meeting of "the Doctoral School: Brain, Cognition, Behaviour", Roscoff, France (27, 28, 29 September 2006).

Forget B, Hamon M, Thiébot MH. (2006) Implication des récepteurs CB1 et 5-HT_{1A} dans la perception de la valeur appétitive de la nicotine chez le rat. Communication orale (invité par le Pr Lechat) au "service de pharmacologie", La Salpêtrière, Paris, France.

Forget B, Hamon M, Thiébot MH. (2005) Differential involvement of the endocannabinoid system in the establishment and the short- and long-term expression of nicotine-induced conditioned place preference in rats. EBPS meeting, Barcelone, Espagne (September). *Behav Pharmacol*, 16(suppl. 1): s99 (abstract 104).

Forget B, Hamon M, Thiébot MH. (2004) Involvement of the endocannabinoid system in the incentive value of nicotine. EBPS workshop on Neurobehavioural Plasticity, Rome, Italie (September). *Behav Pharmacol*, 15: A16 (abstract P27).

Forget B, Hamon M, Thiébot MH. (2004) Implication du système endocannabinoïde dans les effets appétitifs de la nicotine. Communication orale au congrès "Comorbidité: addictions et troubles psychoaffectifs - Alcool, Tabac et autres Toxicomanies", Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière, France.

Forget B, Hamon M, Thiébot MH. (2004) Implication du système endocannabinoïde dans les effets appétitifs de la nicotine chez le rat. 7^{ème} congrès de la société de tabacologie, Tours, France.

Forget B, Thiébot MH. (2003) Mesure de la valeur appétitive de la nicotine chez le rat - Effet du rimonabant. *Actualité sur les Addictions*, 2003, La Salpêtrière, Paris, France.

RÉSUMÉ

La consommation de tabac est un problème majeur de santé publique. La nicotine, principal composant psychoactif du tabac, est tenue pour responsable essentielle de la dépendance tabagique.

L'intensité de la valeur « plaisante » de la nicotine peut être approchée chez l'animal par la procédure de conditionnement de place. Celle-ci repose sur le principe que des stimuli environnementaux explicites, associés de façon répétée à la drogue, en acquièrent les propriétés renforçantes. L'environnement devient alors un stimulus conditionné et le fait que l'animal y passe plus de temps, en l'absence de drogue, est interprété comme indiquant que les effets subjectifs de la drogue ont été perçus comme « plaisants ».

Nous avons montré, chez le rat, que la nicotine induit une préférence de place conditionnée (PPC) reproductible et durable (pendant au moins 12 semaines), et ceci à très faible dose (0,06 mg/kg), qui est donc perçue comme « plaisante » par les animaux.

Nous avons étudié l'implication des systèmes endocannabinoïde, noradrénergique et sérotoninergique à différentes phases de la PPC induite par la nicotine en utilisant respectivement des antagonistes sélectifs des récepteurs CB1 (rimonabant), α 1-adrénergiques (prazosine) et 5-HT_{1A} (WAY 100635), comme outils pharmacologiques. Le blocage des récepteurs CB1 et α 1-adrénergiques s'oppose à la fois à l'établissement et à l'expression à court terme (24 h après la dernière séance de conditionnement) de la PPC induite par la nicotine. En revanche, il n'empêche pas l'expression à long terme (3 semaines après le conditionnement) de ce comportement, ce qui indique que des changements neuroadaptatifs se mettent en place dans les semaines qui suivent le conditionnement, rendant l'expression à long terme indépendante de la stimulation de ces 2 récepteurs.

En l'absence de tout traitement ultérieur, la capacité du rimonabant à s'opposer à l'expression de la PPC induite par la nicotine disparaît progressivement lorsque la séance-test a lieu 1, 2 ou 3 semaines après le conditionnement. En revanche, l'administration quotidienne de rimonabant après ce conditionnement permet à une injection supplémentaire de l'antagoniste CB1, 30 min avant la séance-test, d'inhiber efficacement l'expression à long terme de la PPC (sans altérer la fonctionnalité des récepteurs CB1). Il semble donc que les changements neuroadaptatifs qui se développent progressivement pendant les 3 semaines post-acquisition soient sous la dépendance d'endocannabinoïdes.

Par ailleurs, le blocage des récepteurs 5-HT_{1A} tend à s'opposer à l'établissement, mais pas à l'expression à court terme de la PPC induite par la nicotine.

Nous avons aussi montré, au niveau biochimique, que le conditionnement à la nicotine, avec ou sans rimonabant, ne modifiait pas la fonctionnalité des récepteurs CB₁, D₂ et 5-HT_{1A} dans les structures cérébrales étudiées.

Enfin, un déconditionnement actif n'éteint la PPC induite par la nicotine que chez une partie des animaux, et l'administration d'une dose-test de nicotine induit une réactivation de la PPC chez ces rats.

Dans leur ensemble, ces données laissent à penser que les récepteurs CB₁ et/ou α ₁-adrénergiques jouent un rôle majeur dans les mécanismes qui sous-tendent les effets plaisants de la nicotine. Leur blocage pourrait constituer une nouvelle stratégie thérapeutique pour l'aide au sevrage tabagique.

AVANT PROPOS

L'usage du tabac est un problème majeur de santé publique. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime ainsi qu'un tiers de la population adulte globale fume et l'usage du tabac dans les pays développés est considéré comme la principale cause de mort prématurée (Peto et coll. 1992). Aux Etats-Unis, 70% des fumeurs disent vouloir arrêter, mais seulement 3% y parviennent chaque année (Benowitz 1999), d'où l'importance de trouver de nouvelles thérapeutiques efficaces. Pour ce faire, il est primordial de comprendre quels sont les processus qui sous-tendent les effets psychotropes du tabac.

La nicotine est le principal composant psychoactif du tabac et est tenue pour responsable essentielle de la dépendance tabagique, même si ce n'est pas la seule. Dans ce travail, nous allons donc nous intéresser particulièrement à cette molécule.

De nombreux facteurs peuvent intervenir dans les conduites addictives, quelle que soit la substance consommée. Cela va de l'individu lui-même, de son expérience passée et de son état présent, au contexte environnemental dans lequel il évolue.

Les mécanismes du développement de la dépendance aux drogues et du syndrome de sevrage ont fait l'objet de très nombreuses études neurobiologiques. D'ores et déjà, la neurobiologie et la pharmacologie expérimentales fournissent des éléments quant aux mécanismes, unitaires ou intégrés, qui sous-tendent la réponse à la drogue et le développement de l'addiction. Elles peuvent aussi donner des indications sur les mécanismes qui interviennent dans la perception par l'individu de l'intensité des effets de la drogue.

La littérature ayant trait au tabac et à la nicotine est très riche. Nous allons donc essayer dans un premier temps de présenter « l'état des lieux » des connaissances concernant la consommation de tabac et la dépendance qu'elle entraîne.

Dans un deuxième temps nous nous intéresserons plus particulièrement aux recherches animales sur les effets de la nicotine. Sans être exhaustif, nous allons présenter ses effets comportementaux dans différentes procédures expérimentales, ses effets neurophysiologiques, ainsi que l'implication des différents systèmes neurobiologiques que nous avons étudiés.

Enfin, nous présenterons nos travaux sur l'implication des systèmes endocannabinoïde, noradrénergique et sérotoninergique dans la perception de la valeur appétitive de la nicotine chez le rat, évaluée par une procédure de préférence de place conditionnée ; et conclurons sur les perspectives envisageables.

INTRODUCTION

I. Tabac et Nicotine

A. Le Tabac

1. Historique et Généralités

Le tabac est utilisé depuis les temps précolombiens par les Indiens d'Amérique du Sud à des fins religieuses, médicinales et récréatives (Figure 1.1). Le tabac pouvait y être fumé, prisé, chiqué ou bu après mélange à une boisson.

En 1556, André Thévet rapporte des plants de tabac et les cultive en France, mais c'est à Jean Nicot qu'il doit d'être popularisé après son introduction à la cour de France en 1561. Le tabac fut décrit à la reine Catherine de Médicis comme pouvant soulager ses terribles migraines. Elle donna l'ordre de le cultiver dans diverses provinces. On l'appela « l'herbe à la Reine » ou encore « la Catherinaire ». L'usage du tabac se popularisa progressivement et devint la marque du raffinement bourgeois, mais ce n'est qu'en 1825 que la cigarette fut introduite en France.

Depuis le début des années 1950, des preuves des effets nocifs du tabac se sont accumulées, et on considère maintenant le tabac comme une drogue pouvant entraîner une forte dépendance et créer de graves problèmes de santé publique.

Selon l'OMS, le tabac est actuellement responsable de près de 5 millions de décès par an dans le monde, et d'après le rapport *Tobacco Control Country Profiles* (TCCP), la dépendance tabagique touche actuellement un milliard d'individus. Si le tabagisme suit son rythme actuel, le tabac sera responsable d'un milliard de décès au cours du XXI^{ème} siècle.

En France, l'enquête sur les *Représentations, Opinions et Perceptions sur les Psychotropes* (EROPP) de 2002 indique que près de 12 millions de personnes parmi les 18-75 ans sont des fumeurs réguliers et la prévalence chez les 18-25 ans est proche de 50% (chiffre incluant les fumeurs occasionnels). Le tabagisme est reconnu comme la première cause de décès évitable (60 000 par an).



Figure 1.1 - Première illustration du tabac.

Source : Gravure de 1571 extraite de *Segunda parte del libro* de Monardes d'après *Herbals* d'Agnes Arber (1912). Image du domaine public. Artiste : Inconnu.

2. Dépendance au Tabac

Les définitions de la dépendance qui tiennent lieu aujourd'hui de référence sont issues du DSM IV (Tableau 1.1) et de la CIM-10 (Tableau 1.2). Elles ne sont pas spécifiques de la substance et sont issues de la description sémiologique du syndrome de dépendance à l'alcool proposée par Edwards et Gross en 1976 (Edwards et Gross 1976).

Comme pour l'usage d'autres substances, le comportement tabagique est entretenu et renforcé par une dépendance. D'après la principale étude américaine (Breslau et coll. 2001), dans une population où 75% des individus sont ou ont été fumeurs, la prévalence vie entière de dépendance au tabac est de 30% parmi ceux qui ont fumé occasionnellement et de 50% parmi ceux qui ont fumé régulièrement.

De nombreux fumeurs déclarent avoir envie d'arrêter, même si seule une minorité envisage de le faire dans un délai proche. Parmi ceux qui tentent effectivement d'arrêter de fumer, les rechutes sont fréquentes et les arrêts généralement de courte durée.

Tableau 1.1 : Critères de la dépendance selon le DSM IV

La dépendance est un mode d'utilisation inapproprié d'une substance, entraînant une détresse ou un dysfonctionnement cliniquement significatif, comme en témoignent trois (ou plus) des manifestations suivantes, survenant à n'importe quel moment sur la même période de douze mois:

- 1 - Tolérance, définie par l'une ou l'autre des manifestations suivantes :
 - a. Besoin de quantités notablement plus fortes de la substance pour obtenir une intoxication ou l'effet désiré.
 - b. Effet notablement diminué en cas d'usage continu de la même quantité de substance.
- 2 - Sevrage caractérisé par l'une ou l'autre des manifestations suivantes :
 - a. Syndrome de sevrage caractéristique de la substance.
 - b. La même substance (ou une substance apparentée) est prise dans le but de soulager ou d'éviter les symptômes de sevrage.
- 3 - Substance souvent prise en quantité supérieure ou sur un laps de temps plus long que ce que la personne avait envisagé.
- 4 - Désir persistant ou efforts infructueux pour réduire ou contrôler l'utilisation de la substance.
- 5 - Temps considérable passé à faire le nécessaire pour se procurer la substance, la consommer ou à récupérer de ses effets.
- 6 - D'importantes activités sociales, occupationnelles ou de loisirs sont abandonnées ou réduites en raison de l'utilisation de la substance.
- 7 - Poursuite de l'utilisation de la substance malgré la connaissance de l'existence d'un problème physique ou psychologique persistant ou récurrent déterminé ou exacerbé par la substance.

Préciser :

Avec dépendance physique : signes de tolérance ou de sevrage (item 1 ou 2 présent);

Sans dépendance physique : pas de signe de tolérance ou de sevrage (item 1 ou 2 absent).

DSM IV : Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders – Revision IV (American Psychiatric Association, 1994).

Tableau 1.2 : Critères de la dépendance selon la CIM-10

<p>Certains symptômes du trouble ont persisté au moins un mois ou sont survenus de façon répétée sur une période prolongée.</p> <p>Au moins trois des manifestations suivantes sont présentes en même temps au cours de la dernière année:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 - Désir puissant ou compulsif d'utiliser une substance psychoactive. 2 - Difficultés à contrôler l'utilisation de la substance (début ou interruption de la consommation au niveau de l'utilisation). 3 - Syndrome de sevrage physiologique quand le sujet diminue ou arrête la consommation d'une substance psychoactive, comme en témoignent la survenue d'un syndrome de sevrage caractéristique de la substance, ou l'utilisation de la même substance (ou d'une substance apparentée) pour soulager ou éviter les symptômes de sevrage. 4 - Mise en évidence d'une tolérance aux effets de la substance psychoactive : le sujet a besoin d'une quantité plus importante de la substance pour obtenir l'effet désiré. 5 - Abandon progressif d'autres sources de plaisir et d'intérêt au profit de l'utilisation de la substance psychoactive, et augmentation du temps passé à se procurer la substance, la consommer ou récupérer ses effets. 6 - Poursuite de la consommation de la substance malgré la survenue de conséquences manifestement nocives. <p>CIM-10 : Classification Internationale des Maladies et des problèmes de santé connexes, ou ICD-10 : International Classification of Diseases (World Health Organisation, 1991)</p>
--

D'autres instruments diagnostic ont été développés afin de mesurer des aspects plus spécifiques de la dépendance tabagique. Les plus fréquemment utilisés sont :

- Le test de Fagerström (*Fagerström Test for Nicotine Dependence*), qui comprend 8 questions et a pour vocation l'évaluation de la dépendance physique (Heatherton et coll. 1991) (Tableau 1.3).
- Le *Minnesota Nicotine Withdrawal Scale*, auto-questionnaire qui permet de coter de 0 à 4 les symptômes de sevrage du DSM IV, bien que non totalement validé (Cappelleri et coll. 2005) (Tableau 1.4).
- Le *Questionnaire of Smoking Urges (QSU)*, destiné à mesurer le désir compulsif ; il permet d'évaluer les attentes des effets positifs (plaisir) et les attentes de soulagement du syndrome de sevrage et d'affects négatifs. Il contient originellement 32 items (Tiffany et Drobes 1991) mais il en existe une version abrégée de 10 items (Cox et coll. 2001) (Tableau 1.5).

Tableau 1.3 : Test de Fagerström (dépendance à la nicotine)

Combien de temps après vous être réveillé, fumez-vous votre première cigarette ?	
moins de 5 minutes	6 à 30 minutes
31 à 60 minutes	après 60 minutes
Trouvez-vous difficile de ne pas fumer dans les endroits interdits (ex : cinémas, bibliothèques,...) ?	
oui	non
Quelle cigarette trouvez-vous la plus indispensable ?	
la première	une autre
Combien de cigarettes fumez-vous par jour en moyenne ?	
10 ou moins	11 à 20
21 à 30	31 ou plus
Fumez-vous de façon plus rapprochée dans la première heure après le réveil que pendant le reste de la journée ?	
oui	non
Fumez-vous même si une maladie vous oblige à rester au lit ?	
oui	non

D'après Heatherton et coll (1991).

Tableau 1.4 : Minnesota Nicotine Withdrawal Scale

Please rate yourself for the period for the last _____						
0 = none, 1 = slight, 2 = mild, 3 = moderate, 4 = severe						
1.	Angry, irritable, frustrated	0	1	2	3	4
2.	Anxious, nervous	0	1	2	3	4
3.	Depressed mood, sad	0	1	2	3	4
4.	Desire or craving to smoke	0	1	2	3	4
5.	Difficulty concentrating	0	1	2	3	4
6.	Increased appetite, hungry, weight gain	0	1	2	3	4
7.	Insomnia, sleep problems, awakening at night	0	1	2	3	4
8.	Restless	0	1	2	3	4
9.	Impatient	0	1	2	3	4
10.	Constipation	0	1	2	3	4
11.	Dizziness	0	1	2	3	4
12.	Coughing	0	1	2	3	4
13.	Dreaming or nightmares	0	1	2	3	4
14.	Nausea	0	1	2	3	4
15.	Sore throat	0	1	2	3	4
Heart rate : _____ bpm		Weight : _____ kg				

Ce questionnaire n'est pas entièrement validé (Cappelleri et coll. 2005)

Tableau 1.5 : Brief Questionnaire of Smoking Urges (QSU-brief)

Please rate yourself on a 100-point scale from 0 = strongly disagree, to 100 = strongly agree	
1.	I have a desire for a cigarette right now
2.	Nothing would be better than smoking a cigarette right now
3.	If it were possible, I probably would smoke now
4.	I could control things better right now if I could smoke
5.	All I want right now is a cigarette
6.	I have an urge for a cigarette
7.	A cigarette would taste good now
8.	I would do almost anything for a cigarette now
9.	Smoking would make me less depressed
10.	I am going to smoke as soon as possible

D'après Sanderson Cox et coll (2001)

Le tabagisme débute à l'adolescence. La grande majorité des personnes commencent à fumer dans leur jeunesse. Au États Unis, plus de 60% des jeunes ont une expérience avec le tabac et le tiers à la moitié d'entre eux deviennent des fumeurs réguliers (Henningfield et coll. 2003). Les adolescents semblent ressentir moins d'effets aversifs et plus d'effets positifs que les adultes lors de leur première expérience tabagique (DiFranza et coll. 2000).

Devenus dépendants, les fumeurs décrivent des effets plaisants, éveillants, relaxants et « coupe-faim » du tabac, une augmentation de l'attention et une baisse de l'anxiété (Benowitz 1999).

La fumée de tabac contient plus de 3000 substances différentes, et on ne connaît pas avec certitude celles qui sont susceptibles de rendre compte de ses propriétés toxicomanogènes. Dans l'état actuel des connaissances, la NICOTINE apparaît comme le principal constituant responsable des propriétés addictives du tabac, mais d'autres substances y participent très certainement.

C'est le cas par exemple des alcaloïdes secondaires issus du métabolisme de la nicotine (comme la cotinine et la norcotinine), de l'acétaldéhyde (également principal métabolite de l'éthanol), des bêta-carbolines comme l'harmane et le norharmane ou encore d'autres inhibiteurs des monoamines oxydases (IMAO) (Molimard 2001).

Des facteurs autres que la substance elle-même peuvent participer à la dépendance tabagique. Ainsi la cigarette représente un système « idéal » de délivrance de drogue : les fumeurs ajustent précisément la dose reçue afin d'obtenir le plus d'effets positifs tout en évitant les effets aversifs. De plus, les cigarettes sont d'excellents vecteurs de conditionnement car la dose absorbée par bouffée est précise, répétée et l'effet rapide (Benowitz 1999). Ainsi les associations entre la consommation, les effets de la cigarette et l'environnement sont favorisées, ce qui contribue à renforcer la dépendance.

Les stimuli sensoriels locaux associés à la cigarette, tels que la sensation de chaleur, les perceptions gustatives et olfactives, les sensations particulières dans les voies respiratoires hautes, ou encore le plaisir que procure l'inhalation de la fumée, pourraient aussi contribuer à l'initiation, au développement et au maintien de la dépendance tabagique (Pickworth et coll. 2002).

3. Génétique de la Consommation de Tabac

Comme pour tous les autres produits psychoactifs, les individus ne sont pas égaux face aux dangers du tabac. Par exemple, lors de leur première exposition, certaines personnes seront plus sensibles aux effets aversifs du tabac et d'autres plus sensibles à ses effets renforçants.

Il a été clairement démontré que des facteurs aussi bien génétiques qu'environnementaux influencent la dépendance aux drogues et notamment au tabac (True et coll. 1997). L'influence génétique est de l'ordre de 60% sur la probabilité qu'un individu devienne fumeur (soit environ 40% pour l'environnement), et de 70% pour le maintien de la consommation de tabac (Heath et coll. 1995, 1999; Sullivan et Kendler 1999; McGue et coll. 2000). De plus, une fois le tabagisme initié, les facteurs génétiques semblent déterminer dans une large part (86%) la quantité de tabac fumée (Kaprio et coll. 1982; Koopmans et coll. 1999).

D'autres aspects du tabagisme, tels que l'âge de début de consommation (Heath et coll. 1999; Koopmans et coll. 1999) et le gain de poids après l'arrêt (Swan et Carmelli 1995) sont aussi influencés par des facteurs génétiques.

Cependant, ces données épidémiologiques n'apportent aucune indication quant à la nature des facteurs génétiques impliqués. En revanche, des études d'associations pratiquées sur de nombreuses séries regroupant diverses catégories de fumeurs, ex-fumeurs et non-fumeurs, et portant sur des polymorphismes de différents gènes candidats, ont permis d'identifier certains gènes qui semblent plus particulièrement impliqués. Ainsi, 3 grandes classes de facteurs génétiques de vulnérabilités sont maintenant reconnues :

1) Les gènes impliqués dans le métabolisme de la nicotine. Le cytochrome P450 2A6 (CYP2A6) est la principale enzyme responsable de l'inactivation métabolique de la nicotine en cotinine chez l'Homme (environ 90%) (Messina et coll. 1997) et son polymorphisme génique pourrait contribuer aux différences interindividuelles dans les risques de dépendance au tabac, dans l'âge de commencement du tabagisme et dans son maintien (Gu et coll. 2000; Tyndale et Sellers 2002).

2) Les gènes impliqués dans les mécanismes d'action des substances addictives contenues dans le tabac. Il s'agit en particulier des gènes codant la sous-unité $\alpha 4$ des récepteurs nicotiques de l'acétylcholine (nAChRs) (Tritto et coll. 2001), le récepteur dopaminergique D2 (Spitz et coll.

1998), les transporteurs de la dopamine (DAT) (Sabol et coll. 1999) et de la sérotonine (SERT) (Ishikawa et coll. 1999), ou encore la monoamine oxydase A (MAOA) (McKinney et coll. 2000).

3) La troisième classe rassemble les gènes pouvant être impliqués directement ou indirectement, tels que ceux de la variabilité des réponses au stress, aux saveurs, aux odeurs ou ceux en rapport avec la vulnérabilité à l'obésité.

4. Stratégies Thérapeutiques

Les seuls traitements médicamenteux ayant obtenu une autorisation de mise sur le marché avec pour indication l'« arrêt de consommation du tabac » sont les traitements substitutifs nicotiques (TSN), le bupropion et très récemment la varénicline.

Les Traitements Substitutifs Nicotiques

Cinq TSNs ont été approuvés pour traiter la dépendance tabagique : le timbre transdermique, la gomme à mâcher, le spray nasal, l'inhalateur et les pastilles sublinguales ou à sucer (Hughes et coll. 1999; Anderson et coll. 2002).

Les TSNs à action rapide (gommes, spray, inhalateur et pastilles) semblent aider les fumeurs, en soulageant le besoin des effets positifs de la nicotine et en réduisant la recherche compulsive de cigarette (craving) (Shiffman et coll. 2003). Les TSNs à action lente (timbres transdermiques) qui délivrent un niveau bas et constant de nicotine peuvent plutôt soulager les symptômes de sevrage (Fiore et coll. 1994; Hughes et coll. 1999).

Tous les TSNs ont une efficacité significativement supérieure au placebo dans les études cliniques, avec des Odds ratios (taux d'efficacité) de 1,5 à 2,5 (Fiore et coll. 1994; Anderson et coll. 2002).

Le bupropion

Le bupropion (Zyban[®]) est un antidépresseur atypique qui a été accepté en 1997 aux États-Unis par la Food and Drug Administration (FDA) comme première pharmacothérapie non nicotinique d'aide à l'arrêt du tabac. Ses effets anti-tabac semblent indépendants de son action antidépressive (Ascher et coll. 1995).

Son efficacité pour l'arrêt tabagique a été démontrée à la dose de 300 mg/jour (Hurt et coll. 1997) et des études récentes ont étendu son utilisation à la prévention de la rechute (Hays et coll. 2001). Malheureusement, le bupropion a une efficacité très limitée chez certains fumeurs. De plus, il présente des propriétés pharmacologiques de type amphétamine qui peuvent être à risque chez une proportion élevée de sujets.

La varénicline

La varénicline (Chantix[®] aux USA ; Champix[®] en Europe), agoniste partiel des nAChRs $\alpha 4\beta 2$ (voir chapitre sur les différents sous types de récepteurs nicotiques, p. 26) (Coe et coll. 2005), a été acceptée en 2006 pour l'aide à l'arrêt du tabac. Elle semble atténuer l'envie de fumer, les symptômes du sevrage, ainsi que l'effet renforçant de la cigarette.

Deux études cliniques de phase III ont montré qu'un traitement de 12 semaines par la varénicline entraîne des taux d'abstinence significativement supérieurs au placebo et au bupropion. A long terme (entre les semaines 9 et 52), la probabilité de rester abstinent est de 2,7 à 3,1 fois plus élevée avec 12 semaines de varénicline qu'avec le placebo et est aussi significativement supérieure au traitement par le bupropion (Gonzales et coll. 2006; Keating et Siddiqui 2006). La varénicline semble donc être actuellement la thérapie la plus efficace pour l'aide à l'arrêt du tabac.

B. La Nicotine

1. Historique et Généralités

La nicotine, appelée ainsi en hommage à Jean Nicot, a été découverte en 1809 par Vauquelin, professeur de chimie à l'École de Médecine de Paris, puis isolée sous sa forme pure par Posselt et Reimann en 1828.

La nicotine représente environ 10% du poids sec de la plante et 90 à 95% de son contenu total en alcaloïdes.

La dose de nicotine absorbée dépend de la manière de fumer et du type de tabac consommé. D'après la machine à fumer standardisée, le fumeur inhalerait environ 1 mg de nicotine par cigarette, mais on sait que chaque sujet adapte sa manière de fumer de façon à obtenir la quantité de nicotine (et/ou d'autres substances) dont il a besoin. Une fois inhalée, il ne faut que 7 secondes à la nicotine pour atteindre ses récepteurs cérébraux (Benowitz 1990).

Après une cigarette, le taux sanguin de nicotine est de l'ordre de 0,1 à 0,5 μM et sa demi-vie plasmatique varie de 30 à 120 minutes. La nicotine est essentiellement métabolisée par C-oxydation par le CYP2B1/2 chez le rat ou par le CYP2A6 chez l'Homme et la souris, au niveau des microsomes hépatiques (Messina et coll. 1997) (Figure 1.2).

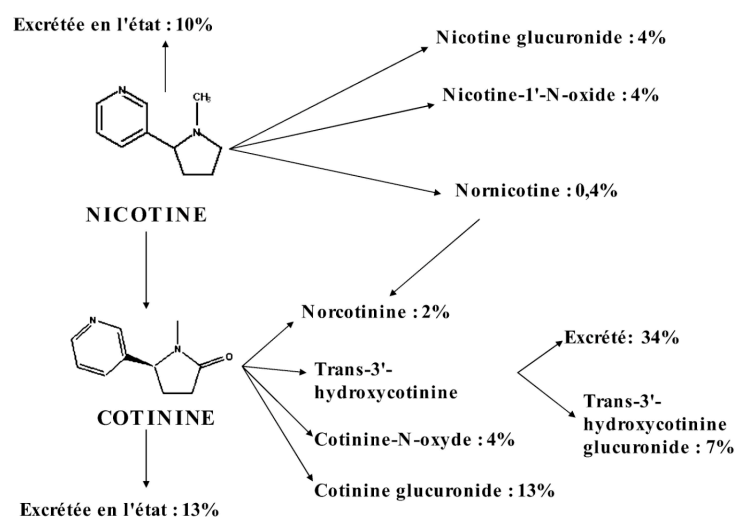


Figure 1.2 - Métabolisme de la nicotine (d'après Vainio et Tuominen 2001)

Les % indiqués correspondent aux quantités relatives des différents métabolites présents dans les urines.

2. Récepteurs Nicotiniques

La nicotine est un agoniste de l'un des deux types de récepteurs de l'acétylcholine, les récepteurs nicotiniques (nAChRs). Ceux-ci font partie de la superfamille des récepteurs canaux ioniques activés par des ligands (Ligand-Gated Ion Channels, LGIC) (Karlén et Akabas 1995).

a) Structure

Les nAChRs (Figure 1.3) sont des protéines transmembranaires pentamériques (5 sous-unités organisées symétriquement autour du canal ionique) constituées de 4 types différents de sous-unités appelées α , β , γ et δ selon leur poids moléculaire (Weill et coll. 1974). La sous-unité ϵ a été découverte plus récemment (Reynolds et Karlén 1978). Douze sous-unités homologues ($\alpha 2$ - $\alpha 10$ et $\beta 2$ - $\beta 4$) ont été identifiées dans le système nerveux des Mammifères (Sargent 1993; Cordero-Erausquin et coll. 2000) et les 12 gènes correspondants caractérisés (Heinemann et coll. 1990;

Sargent 1993; Elgoyhen et coll. 1994; McGehee et Role 1995; Lindstrom 1996; Elgoyhen et coll. 2001). L'assemblage de ces différentes sous-unités rend possible l'existence d'un grand nombre de récepteurs possédant des propriétés pharmacologiques différentes. Les sous-unités α 1, β 1, γ et ϵ sont caractéristiques des nAChRs musculaires.

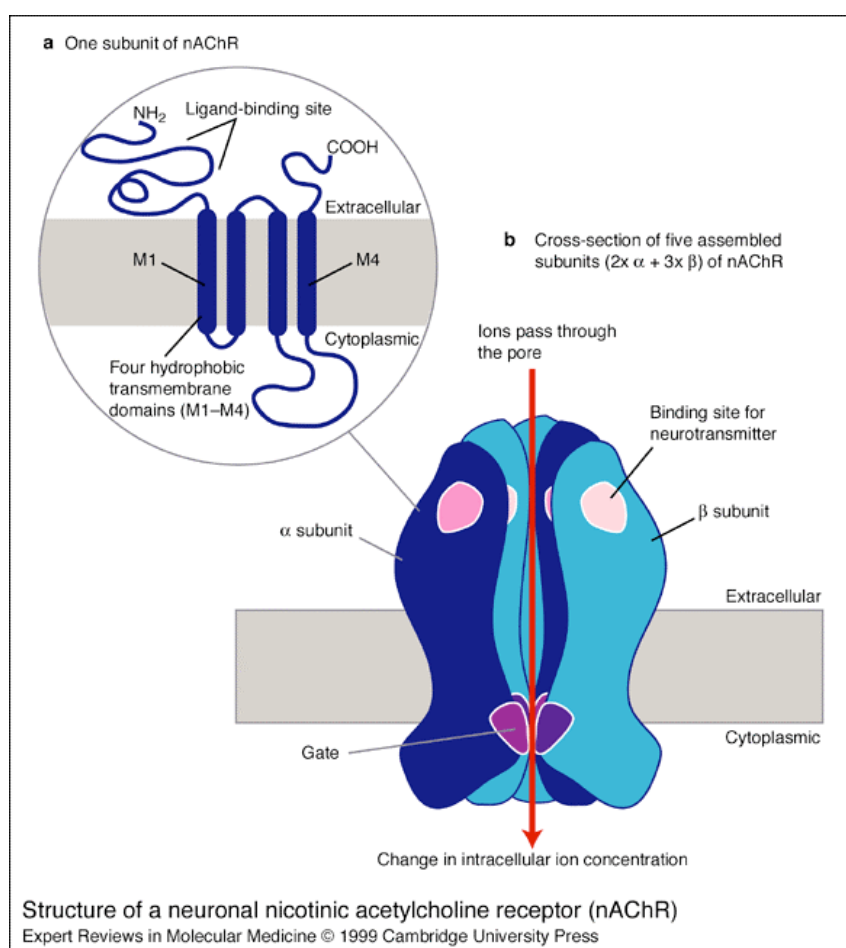


Figure 1.3 - Représentation schématique de la structure d'un récepteur nicotinique de l'acétylcholine (nAChR)

a : pattern transmembranaire d'une sous-unité d'un nAChR

b : coupe longitudinale d'un nAChR

b) Sous-types de Récepteurs Nicotiniques

Un sous-type de nAChR est défini par la combinaison des sous-unités qui le composent (Lindstrom 2003). Il existe des nAChRs hétéromériques (composés de sous-unités différentes) et des nAChRs homomériques (formés de sous-unités identiques).

Les nAChRs hétéromériques neuronaux sont généralement constitués de deux types de sous-unités [α 2, α 3, α 4 ou α 6 combinées avec β 2 ou β 4 dans une stœchiométrie $(\alpha)_2(\beta)_3$]. Ils peuvent aussi être formés de 3 ou 4 types différents de sous-unités [$(\alpha$ 3) $_2$ α 5(β 4) $_2$, $(\alpha$ 3) $_2$ α 5 β 2 β 4, ...]. Les nAChRs hétéromériques neuronaux les plus représentés sont de la forme $(\alpha$ 4) $_2$ (β 2) $_3$.

Les nAChRs homomériques sont constitués de 5 sous-unités identiques qui peuvent être α 7, α 8 ou α 9. Contrairement aux nAChRs hétéromériques neuronaux, ces récepteurs sont inhibés de façon compétitive par les neurotoxines peptidiques α , comme l' α -bungarotoxine, provenant du venin de certains serpents (Naja et Bungarus). La forme prédominante de ce type de récepteurs est celle constituée de l'homomère α 7 qui est à peu près aussi abondante dans le cerveau que le type α 4 β 2. La Figure 1.4a schématise la répartition de différents sous-types de nAChRs dans le cerveau de rat.

Les sites de liaison des agonistes sont localisés à l'interface entre deux sous-unités adjacentes. Dans le cas des homorécepteurs α 7, il y a 5 sites de liaison, chacun situé entre deux sous-unités α 7, et dans le cas des hétérorécepteurs α 4 β 2, il y a 2 sites de liaison situés entre les sous-unités α 4 et β 2 (Corringer et coll. 2000) (Figure 1.4b).

La reconstitution de nAChRs dans des systèmes hôtes a montré que les propriétés physiologiques et pharmacologiques de ces récepteurs, en particulier leur activation et leur désensibilisation, dépendent à la fois des sous-unités α et β (Couturier et coll. 1990; Gross et coll. 1991; Luetje et Patrick 1991). Les hétérorécepteurs qui contiennent les sous-unités α 4 et β 2 et les homorécepteurs α 7 ont respectivement une haute affinité et une basse affinité pour la nicotine (Couturier et coll. 1990; McGehee et Role 1995). Chez les primates, les sites de liaison à haute affinité pourraient correspondre à la présence de la sous-unité α 2 et non pas α 4 comme chez les rongeurs (Han et coll. 2000, 2003).

Il a été montré récemment que des concentrations sub-micromolaires de nicotine (équivalentes aux concentrations obtenues par les fumeurs) activent à la fois les nAChRs α 4 β 2 et α 7, mais les α 4 β 2 se désensibilisent en quelques minutes contrairement aux α 7 qui restent ainsi disponibles pour l'activation (Mansvelder et McGehee 2002; Woollorton et coll. 2003).

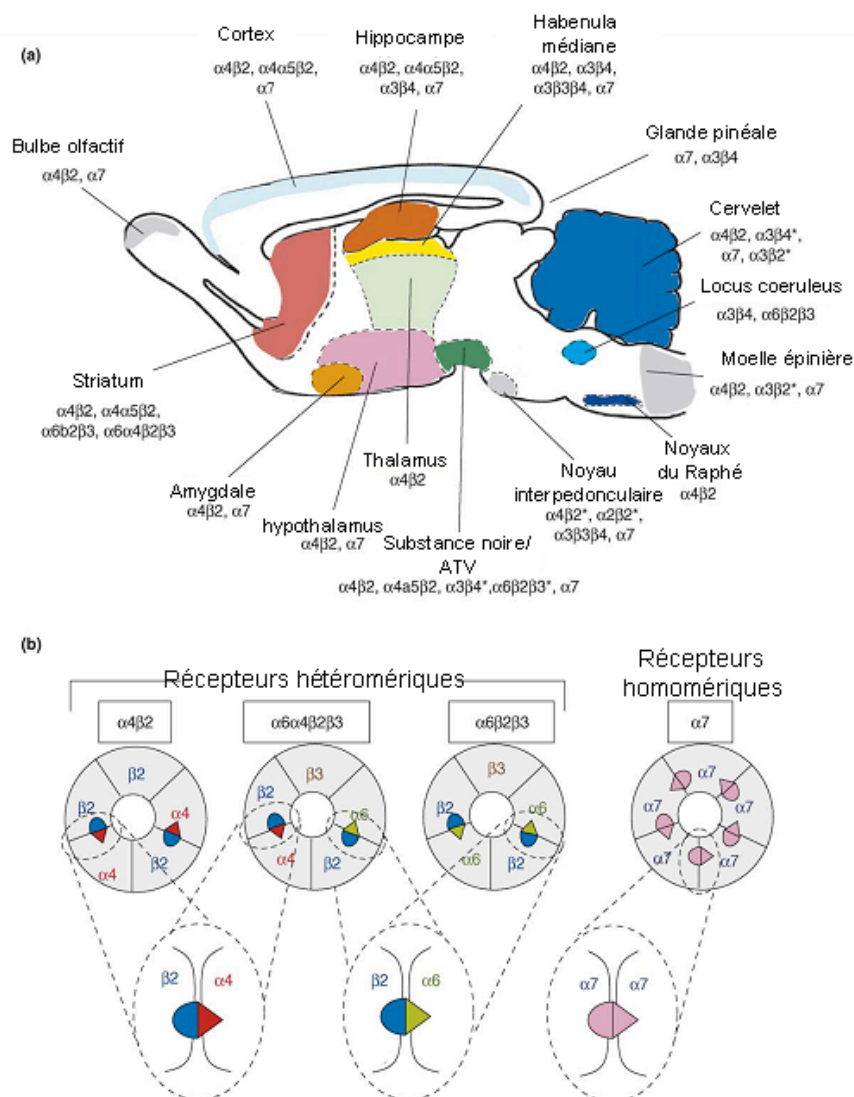


Figure 1.4 - Sous-types de récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine.

a : localisation des différents sous-types de nAChRs dans le cerveau de rat.

b : exemple de plusieurs nAChRs et de leurs sites de liaison de l'acétylcholine.

(d'après Gotti et coll. 2006)

Le Tableau 1.6 indique les affinités des principaux agonistes et antagonistes nicotiniques pour les récepteurs de types $\alpha 4\beta 2$ et $\alpha 7$. Une étude sur des nAChRs (de rats) reconstitués dans des ovocytes de xénope a mis en évidence des différences d'affinité pour les ligands en fonction des

sous-unités qui composent ces récepteurs. Par exemple, l'ordre d'affinité pour quelques agonistes est, pour les récepteurs $\alpha 4\beta 2$: ACh = nicotine > cytosine ; pour les récepteurs $\alpha 4\beta 4$: cytosine > nicotine > ACh; pour les homorécepteurs $\alpha 7$: nicotine > cytosine > ACh (Role 1992). D'autres études ont montré que les nAChRs humains étaient aussi pharmacologiquement et fonctionnellement différents selon leur composition (Gopalakrishnan et coll. 1995, 1996).

		Affinité (Ki nM) pour les récepteurs	
		$\alpha 4\beta 2$	$\alpha 7$
agonistes	Acétylcholine	6,8 - 57	4 000 - 10 830
	(-)-Nicotine	1 - 11	400 - 8 900
	(-)-Cytisine	0,14 - 2,7	1 400 - 3 883
	(±)-Epibatidine	0,01 - 0,05	20,6 - 233
	Lobeline	4 - 50	11 000 - 13 100
antagonistes	Dihydro- β -érythroïdine	13,9 - 1 900	25 000 - 57 900
	Methyllycaconitine	3 700 - 6 100	0,69 - 10,3
	Hexamethonium	28 000 - >1 000 000	800 000 - 880 000
	Mécamylamine	822 000 - >1 000 000	>1 000 000
	α -bungarotoxine	>1 000	0,35 - 3,5

Tableau 1.6 - Affinités relatives des ligands les plus représentatifs pour les sous- types $\alpha 4\beta 2$ et $\alpha 7$ des récepteurs nicotiniques.

Du fait de leur haute affinité pour la nicotine et de leur abondance dans le cerveau, les récepteurs $\alpha 4\beta 2$ pourraient être la cible majeure responsable des propriétés psychoactives de la nicotine. d'ailleurs, un traitement chronique par la nicotine chez les rongeurs entraîne une *augmentation* du nombre de nAChRs $\alpha 4\beta 2$ (Gentry et Lukas 2002), mimant l'effet observé post-mortem dans le cerveau de fumeurs (Benwell et coll. 1988; Breese et coll. 1997).

c) Action des Ligands sur les Récepteurs Nicotiniques

La liaison des agonistes aux nAChRs neuronaux entraîne l'ouverture du canal qui laisse pénétrer dans le milieu intracellulaire les ions chargés positivement, en particulier le Na^+ et le Ca^{2+} . L'état des neurones s'en trouve modifié *via* deux mécanismes principaux. D'une part, l'entrée de cations provoque une dépolarisation de la membrane plasmique qui se traduit par une excitation neuronale et par l'activation d'autres canaux ioniques voltage-dépendants. D'autre part, l'entrée de calcium dans la cellule agit, directement ou indirectement, sur des cascades intracellulaires participant, entre autres, à la régulation de l'expression de certains gènes.

Les nAChRs peuvent exister sous trois états conformationnels : inactif (ou de repos), actif (ou ouvert) et désensibilisé (Edelstein et Changeux 1998). Les différents ligands stabilisent de façon différentielle et sélective l'état du récepteur pour lequel ils ont la plus forte affinité. Ainsi les agonistes stabilisent l'état actif (au moins de manière transitoire) et leur présence continue induit la désensibilisation du récepteur, tandis que les antagonistes stabilisent l'état inactif (pour revue, voir Changeux et coll. 1998).

D'autres molécules peuvent aussi modifier l'équilibre entre les différents états conformationnels du récepteur en se fixant sur d'autres sites et ainsi stabiliser les états actif ou inactif ; ce sont des effecteurs dits « allostériques ». L'activité des nAChRs peut ainsi être modulée par des phosphorylations (pour revue, voir Haganir et Greengard 1990), les ions calcium (Galzi et coll. 1996), des insecticides (Krause et coll. 1998), le peptide β -amyloïde (Dineley et coll. 2002) ou encore des hormones stéroïdes (Valera et coll. 1992).

3. Localisation des Récepteurs Nicotiniques dans le Système Nerveux Central

Les récepteurs nicotiniques sont largement distribués dans le système nerveux central (SNC) et les tissus périphériques. Il existe toutefois des différences marquantes de distribution entre les primates et les rongeurs ainsi qu'entre le rat et la souris, ce qui peut expliquer l'hétérogénéité des résultats concernant la physiologie des nAChRs dans différentes espèces.

Les $\alpha 4\beta 2$ sont les plus exprimés dans le SNC. Chez le rat, on les trouve pratiquement dans la totalité du cerveau, et ils représentent la majorité des nAChRs dans certaines régions cérébrales telles que le cortex, le striatum, le colliculus supérieur, le cervelet et le thalamus (Hill et coll. 1993;

Rogers et coll. 1998; Picciotto et Zoli 2002; Turner et Kellar 2005). Les sous-unités $\alpha 4$ et $\beta 2$ peuvent aussi s'associer à la sous-unité $\alpha 5$. Le cortex contient ainsi environ 70% de nAChRs de type $\alpha 4\beta 2$ et 15% de type $\alpha 4\alpha 5\beta 2$ (Zoli et coll. 2002) (Figure 1.4 a).

Les ARNm codant la sous-unité $\alpha 5$ ont une distribution assez vaste. Ils sont co-localisés avec les ARNm codant $\alpha 4$ et $\beta 2$ dans les noyaux dopaminergiques, le cortex et l'hippocampe, et avec ceux codant $\alpha 3$ et $\beta 4$ dans la glande pinéale et les ganglions rachidiens (Wada et coll. 1990).

Les sous-unités $\alpha 3$ et $\beta 4$ se trouvent principalement dans l'habénula médiane, la glande pinéale, le noyau inter-pédonculaire, le noyau du tractus solitaire, l'area postrema et le noyau moteur du nerf vague (Dineley-Miller et Patrick 1992; Le Novère et coll. 1996).

Les ARNm des sous-unités $\alpha 6$ et $\beta 3$ sont localisés principalement dans les noyaux catécholaminergiques [substance noire pars compacta (SNc), aire tegmentale ventrale (ATV), aire rétrobulbaire et locus coeruleus (LC)] (Deneris et coll. 1989; Le Novère et coll. 1996; Lena et coll. 1999; Klink et coll. 2001).

Le cervelet contient au moins 4 sous-types différents de nAChRs : $\alpha 4\beta 2$, $\alpha 3\beta 2$, $\alpha 3\beta 4$, et $\alpha 7$ (Turner et Kellar 2005).

L'homorécepteur $\alpha 7$ est exprimé de façon diffuse dans tout le SNC. Chez le rat, on le trouve notamment au niveau du cortex, de l'hippocampe, du noyau supra-optique, de l'amygdale, du bulbe olfactif et de l'hypothalamus (Seguela et coll. 1993).

C. Système Cholinergique

Nous nous intéresserons ici uniquement au système cholinergique du SNC. Il convient cependant de préciser que des neurones cholinergiques se trouvent également dans les nerfs moteurs et le système nerveux autonome : neurones pré-ganglionnaires sympathiques et parasympathiques et post-ganglionnaires parasympathiques.

1. Métabolisme de l'Acétylcholine

L'acétylcholine (ACh) est synthétisée dans le cytoplasme des neurones cholinergiques à partir de la choline et de l'acétyl CoA par la choline-acétyltransférase. L'ACh est ensuite transportée dans les vésicules synaptiques par le transporteur vésiculaire de l'ACh (VACHT). Lors de la dépolarisation du neurone cholinergique, l'ACh est libérée dans la fente synaptique où elle peut se lier aux récepteurs nicotiniques et muscariniques. L'ACh libérée est rapidement hydrolysée par l'acétylcholinestérase (AChE) en choline et en acétate. La choline est ensuite recyclée dans les terminaisons cholinergiques par le transporteur membranaire de la choline (ChT) (Birks et Macintosh 1957; Ribeiro et coll. 2006).

2. Anatomie

Les neurones cholinergiques sont largement distribués dans le SNC. Ce sont soit des neurones de projection, soit des interneurons. On recense 8 groupes essentiels de neurones de projection (Ch1-Ch8) (Mesulam 1989) qui peuvent être répartis en 2 groupes majeurs : les neurones cholinergiques du télencéphale basal (« basal forebrain ») et ceux du tronc cérébral (Figure 1.5).

(a) Neurones cholinergiques du « basal forebrain »

Les corps cellulaires des neurones cholinergiques du « basal forebrain » sont répartis dans le septum médian (Ch1), la bande diagonale de Broca (Ch2 et Ch3) et le noyau basal magnocellulaire (de Meynert) (Ch4). Ils projettent sur l'hippocampe (Ch1 et Ch2), le système olfactif (Ch3), l'amygdale, le cortex (Ch4) et le néocortex (Ch3 et Ch4) (Woolf 1997). L'amygdale et l'hippocampe reçoivent la plus forte innervation cholinergique provenant du « basal forebrain ».

(b) Neurones cholinergiques du tronc cérébral

Les corps cellulaires des neurones cholinergiques du tronc cérébral sont situés dans le noyau du tegmentum pédonculopontin (TPP, Ch5) et dans le noyau du tegmentum dorso-latéral (TDL, Ch6), mais quelques neurones des aires adjacentes de la zone périaqueducule, du LC et du faisceau longitudinal médian sont également cholinergiques (groupe Ch6). Les neurones des groupes Ch5 et Ch6 innervent de façon importante le striatum et le noyau subthalamique, modérément le globus pallidus et l'ATV, et faiblement la SNc (Mesulam 1989).

Les neurones cholinergiques de l'habénula médiane (Ch7) projettent majoritairement sur le noyau interpédonculaire. Les neurones cholinergiques du noyau parabigéminale (Ch8) innervent quant à eux les colliculi supérieurs.

(c) Interneurones

Certaines structures comme le striatum et le cortex préfrontal possèdent une innervation cholinergique intrinsèque (Woolf 1991). Dans le striatum des rongeurs, les interneurones cholinergiques représentent moins de 5% du nombre total de neurones (Oorschot 1996). Ils ont toutefois un rôle physiologique important (Tepper et Bolam 2004).

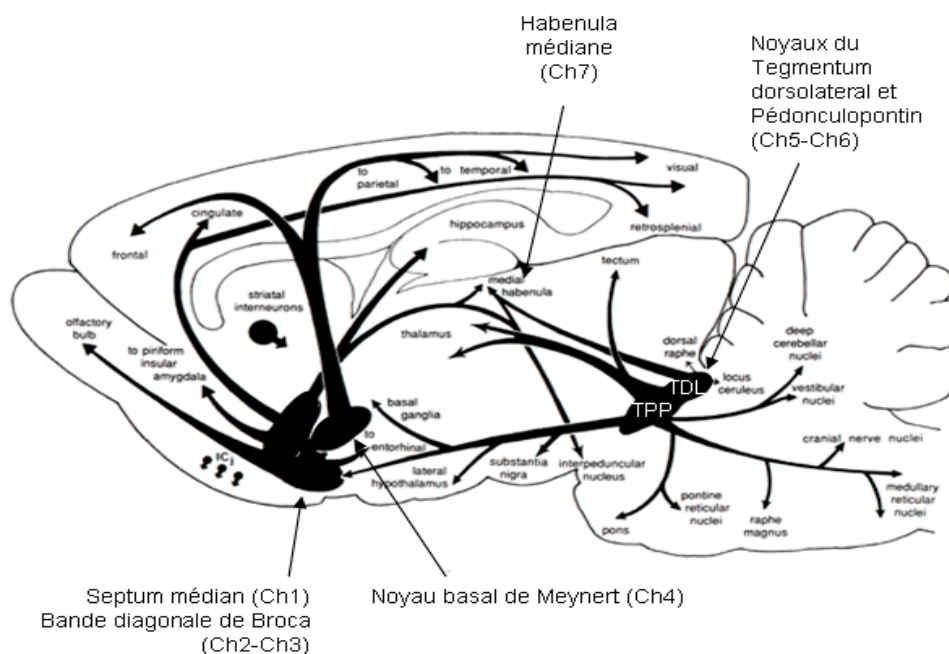


Figure 1.5 - Principaux groupes de neurones cholinergiques et leurs projections dans le cerveau de rat (d'après Woolf, 1991)

3. Système Cholinergique et Processus de Récompense

On a longtemps pensé que les neurones cholinergiques du TPP étaient impliqués principalement dans les processus sensoriels et le contrôle extrapyramidal (Woolf et Butcher 1986), alors que ceux du TDL étaient plus particulièrement associés au fonctionnement du système limbique (Woolf et Butcher 1986; Hallanger et coll. 1987). Mais du fait de leurs connexions avec l'ATV et de leur capacité à moduler l'activité du système dopaminergique mésolimbique, les neurones cholinergiques du TPP et du TDL peuvent jouer un rôle dans les processus de récompense (Laviolette et van der Kooy 2004). Ainsi, la stimulation électrique du TPP entraîne une libération de dopamine dans le striatum (Forster et Blaha 2003), alors que celle du TDL provoque le même effet au niveau du noyau accumbens (NAcc) (Forster et Blaha 2000).

Certains effets moteurs ou appétitifs de la nicotine semblent dépendre de l'intégrité du TPP, car la lésion de cette structure atténue la réponse hyperlocomotrice (Laviolette et coll. 2002), l'auto-administration (Lanca et coll. 2000) et la préférence de place conditionnée (PPC) induite par la nicotine (Laviolette et coll. 2002). Cependant, il semble que les sites d'action primaires de la nicotine ne se trouvent pas sur les neurones cholinergiques dans cette structure, car l'administration aiguë de nicotine active majoritairement les cellules non cholinergiques du TPP, notamment les neurones glutamatergiques et GABAergiques (Jose Lanca et coll. 2000).

II. Effets Comportementaux de la Nicotine chez l'Animal

Compte tenu de la grande hétérogénéité symptomatique des pathologies psychiatriques, il est admis qu'un modèle animal ne peut prétendre mimer une pathologie humaine dans son ensemble. Il peut, au mieux, reproduire certains symptômes associés à la pathologie.

La validité d'un modèle animal repose sur un certain nombre de critères (McKinney et Bunney 1969) :

- L'homologie : similitude des conditions inductrices.
- L'isomorphisme : similitude des états comportementaux induits et des mécanismes neurobiologiques sous-jacents.
- La prédictivité : réponse aux techniques thérapeutiques cliniquement efficaces.
- La reproductibilité : stabilité de la variable, mesure objective et reproductible des effets comportementaux.

Il est très difficile de satisfaire la totalité de ces critères et il est souvent admis qu'un modèle soit validé sur la base de deux critères, la reproductibilité et la prédictivité. Différentes procédures expérimentales répondant à ces deux critères ont été mises en place en vue d'évaluer l'appétence des animaux pour les drogues (consommation, pouvoir attractif, perception de leurs effets psychoactifs) en général, et pour la nicotine en particulier.

A. Appétence pour la Nicotine

1. Auto-administration

(a) Procédure Générale

L'auto-administration (intraveineuse, intracérébro-ventriculaire ou intracérébrale) d'une drogue psychoactive est généralement considérée comme la mesure la plus directe de ses effets renforçants. Dans les procédures d'auto-administration intraveineuse, un cathéter est implanté dans la jugulaire permettant à l'animal de s'auto-administrer une petite dose unitaire de drogue par pression sur un levier ou par introduction du museau dans un trou (nose poke). L'infusion de la drogue renforce les réponses et, si la fréquence de celles-ci augmente significativement au cours des séances expérimentales, on considère que la drogue a des effets récompensants (Figure 1.6 a).

Dans ces procédures, des stimuli extéroceptifs, sonores ou visuels, sont souvent associés à l'infusion de la drogue. Ceux-ci gagnent progressivement une valeur motivationnelle par un conditionnement de type pavlovien et des processus d'apprentissage associatif. Dans tous les cas, les stimuli acquièrent la capacité de maintenir le comportement de recherche et de prise de drogue, et peuvent par eux-mêmes réinstaller ce comportement lorsqu'il est éteint (de Wit et Stewart 1981; Stewart 1983; Meil et See 1996; Arroyo et coll. 1998; Self et Nestler 1998; Le Foll et Goldberg 2005). Ces stimuli peuvent ainsi devenir des éléments renforçants déterminants dans le comportement d'auto-administration de drogue.

Deux protocoles de renforcement sont principalement utilisés pour étudier le comportement d'auto-administration. Les infusions y sont délivrées soit en « proportion fixe », soit en « proportion progressive ». Dans les programmes de renforcement en « proportion fixe », l'animal doit émettre un nombre fixe et prédéfini de réponses pour obtenir chaque injection de drogue ; par exemple, dans un programme de renforcement en « proportion fixe » d'ordre 2, deux appuis sur le levier sont nécessaires pour obtenir une injection (Fixed Ratio 2 ; FR2). Dans les programmes de renforcement en « proportion progressive » (Progressive Ratio ; PR), le nombre de réponses requis pour obtenir des injections successives augmente progressivement, selon un algorithme déterminé, jusqu'à ce que le sujet arrête de répondre. On considère que le nombre d'appuis nécessaires à la délivrance de la dernière injection reçue avant la cessation des réponses (point de rupture ;

breaking point) est un indice de l'effort consenti pour obtenir la drogue et donc en reflète la valeur renforçante ressentie par l'animal.

La plupart des drogues toxicomanogènes chez l'Homme sont des renforcement positifs effectifs chez l'animal dans cette procédure, alors que, dans la majorité des cas, les drogues non toxicomanogènes ne le sont pas (Katz et Goldberg 1988).

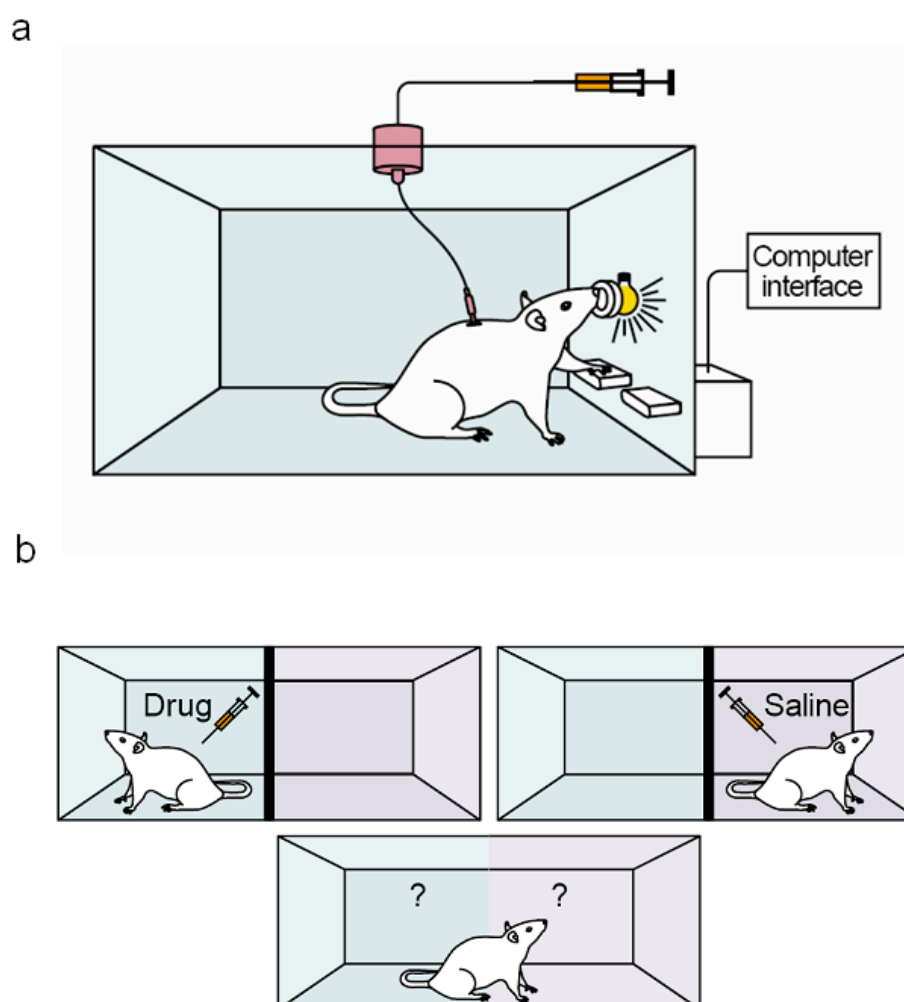


Figure 1.6 - Procédures comportementales permettant de mesurer l'effet renforçant des drogues chez l'animal

a: Auto-administration intraveineuse.

b: Préférence de place conditionnée.

(D'après Cryan et coll., 2003)

b) Auto-administration de Nicotine

Les procédures d'auto-administration intraveineuse marchent en général bien avec les psychostimulants et les opiacés, mais les conditions dans lesquelles la nicotine induit le comportement d'auto-administration semblent beaucoup plus limitées. De fait, de nombreux facteurs modulent la capacité de la nicotine à initier puis maintenir ce comportement (Rose et Corrigan 1997; Le Foll et Goldberg 2005; Chaudhri et coll. 2006).

Le choix de l'espèce semble crucial. Chez les rongeurs, le taux de réponses induit par la nicotine est plus élevé chez le rat (Corrigan et Coen 1989; Donny et coll. 1995; DeNoble et Mele 2006) que chez la souris (Martellotta et coll. 1995; Stolerman et coll. 1997; Rasmussen et Swedberg 1998; Paterson et coll. 2003). Toutefois, ce résultat dépend peut-être de conditions expérimentales plus appropriées chez le rat, chez qui un nombre plus élevé d'études a été réalisé. Des taux importants d'auto-administration de nicotine ont été observés chez le chien (Risner et Goldberg 1983) et le saïmiri (singe-écureuil) (Sannerud et coll. 1994), mais les singes rhésus et les babouins présentent des taux de réponses assez bas (Ator et Griffiths 1983; Wakasa et coll. 1995). Dans une même espèce, la souche peut être une source de différences importantes, comme c'est le cas chez le rat (Shoaib et coll. 1997; Brower et coll. 2002).

Divers paramètres expérimentaux peuvent également influencer les taux de réponses : la dose de nicotine par injection (0.03 mg de nicotine base/kg/injection est la dose la plus fréquemment utilisée), la vitesse d'infusion (Samaha et Robinson 2005) ou les facteurs environnementaux associés à la nicotine (Le Foll et Goldberg 2005).

Peu d'études ont comparé directement les effets de la nicotine à ceux d'autres drogues toxicomanogènes dans des procédures d'auto-administration. Contrairement à la cocaïne, dont la consommation augmente progressivement lors d'un accès prolongé à la drogue (Paterson et Markou 2003), la nicotine n'entraîne pas ce type de comportement (Ahmed et Koob 1998; Paterson et Markou 2004). De plus, des études comparant directement l'auto-administration de nicotine et de cocaïne chez les mêmes animaux indiquent clairement que les effets renforçants de la nicotine sont plus faibles que ceux de la cocaïne (Risner et Goldberg 1983; Manzardo et coll. 2002).

Récemment, une nouvelle hypothèse a émergé selon laquelle le renforcement primaire produit par la nicotine n'aurait qu'un faible rôle dans l'auto-administration de nicotine chez l'animal et dans la consommation de tabac chez l'Homme. En fait, la majeure partie des effets positifs de la nicotine pourrait résulter de sa capacité à faciliter les comportements maintenus par des stimuli

environnementaux renforçants (Donny et coll. 2003; Chaudhri et coll. 2006; Palmatier et coll. 2006). Ainsi, Chaudhri et coll. (2006) ont montré que des infusions intraveineuses de nicotine, qu'elles soient contingentes (auto-administrées) ou non contingentes (indépendantes) des réponses de l'animal, augmentent le nombre d'appuis pour un stimulus visuel non conditionné ayant une faible valeur renforçante intrinsèque. En d'autres termes, la nicotine pourrait augmenter la valeur appétitive (initialement faible) des stimuli environnementaux.

L'importance des stimuli environnementaux dans l'auto-administration de nicotine est confirmée par d'autres études. Une fois le comportement d'auto-administration acquis, l'omission des stimuli antérieurement associés à l'infusion abaisse le nombre de réponses pour la nicotine seule au même niveau que lorsque les stimuli sont délivrés seuls, sans nicotine (Caggiula et coll. 2001; Donny et coll. 2003). Cohen et coll. (2005) montrent que la présentation contingente des stimuli lumineux antérieurement associés à l'infusion de nicotine maintient les réponses à un niveau équivalent à la nicotine elle-même, et ceci pendant au moins 3 mois sans aucun contact avec celle-ci. *A contrario*, les procédures qui n'utilisent pas de stimuli environnementaux explicitement associés à l'injection n'obtiennent que de très faibles taux d'auto-administration de nicotine (Donny et coll. 2003; Paterson et coll. 2003). Ces résultats indiquent la forte valeur motivationnelle acquise par les stimuli environnementaux associés à la nicotine et sa persistance dans le temps.

Les récepteurs contenant la sous unité $\beta 2$ semblent particulièrement impliqués dans l'auto-administration de nicotine. Ainsi, des souris invalidées pour le gène codant pour la sous-unité $\beta 2$ ne s'auto-administrent pas de nicotine, contrairement aux souris contrôles (Picciotto et coll. 1998; Maskos et coll. 2005; Besson et coll. 2006; Walters et coll. 2006). Ces résultats sont confirmés par le fait que le blocage pharmacologique des nAChRs $\beta 2^*$ par un antagoniste sélectif, la dihydro- β -érythroidine (DH- β -E), s'oppose au comportement d'auto-administration (Watkins et coll. 1999; Grottick et coll. 2000).

Les nAChRs homomériques $\alpha 7$ ne semblent pas jouer un rôle clé dans ce comportement. Ainsi une étude indique que le blocage de ces nAChRs par la méthyllylcaconitine (MLA) n'affecte pas l'auto-administration de nicotine (Grottick et coll. 2000). Dans une autre étude, cependant, la MLA diminue l'auto-administration, mais ceci seulement à des doses élevées qui ne peuvent garantir une bonne sélectivité (Markou et Paterson 2001).

2. Conditionnement de Place

Une autre procédure expérimentale permet d'explorer les effets renforçants de substances toxicomanogènes (ou non toxicomanogènes) : le conditionnement de préférence de place.

a) Procédure générale

Dans la procédure de conditionnement de place, les effets subjectifs d'une substance constituent un stimulus non conditionné, ou stimulus primaire. Des stimuli environnementaux initialement neutres, associés de façon répétée à ce stimulus primaire, en acquièrent les propriétés motivationnelles. Ils deviennent des stimuli conditionnés (ou stimuli secondaires) qui, à l'issue du conditionnement, peuvent exercer des effets attractifs ou aversifs sur l'animal, selon que les propriétés motivationnelles primaires de la substance sont positives ou négatives.

Le conditionnement de place se déroule en général dans un dispositif à deux compartiments (Figure 1.6 b). Au cours de séances d'acquisition, les animaux reçoivent la drogue avant d'être placés dans l'un des compartiments comportant des stimuli environnementaux précis (décors des parois, texture du sol, ...) et alternativement, ils reçoivent du placebo et sont placés dans l'autre compartiment caractérisé par d'autres stimuli. Au cours d'une séance-test, en général unique, l'expression du conditionnement est évaluée *en l'absence de la drogue*, en laissant libre accès aux deux compartiments et en mesurant le temps passé dans chacun d'eux.

Le conditionnement de place repose sur les principes du conditionnement classique de type pavlovien. L'animal n'a pas de réponse spécifique à émettre ou à apprendre pour obtenir la drogue. Le conditionnement peut s'éteindre si l'animal est exposé de façon répétée au stimulus conditionné en absence du stimulus primaire (Bardo et coll. 1984; Calcagnetti et Schechter 1993). Cette propriété en fait un outil intéressant pour évaluer des substances s'opposant à la recherche de drogue, car les stimuli conditionnés associés à la drogue sont décrits comme largement responsables de la recherche de drogue et de la rechute chez les toxicomanes.

Le conditionnement de place n'est pas un « modèle » de toxicomanie à proprement parler, puisque la substance est « imposée » par l'expérimentateur et non « choisie » par l'animal. En revanche, ce paradigme permet d'évaluer la *perception* qu'a l'animal de la valeur renforçante intrinsèque de la drogue, qu'elle soit positive ou négative, ainsi que la « trace » que cette valeur motivationnelle laisse dans le souvenir de l'animal et son pouvoir évocateur.

Cette procédure permet d'étudier l'effet de substances susceptibles d'interférer avec les différentes phases du conditionnement et donc sur différents comportements.

Quand la substance est administrée avant les séances de conditionnement « avec drogue », elle peut interférer avec *l'acquisition* du conditionnement de place, c'est-à-dire modifier la perception qu'a l'animal de la valeur renforçante intrinsèque de la drogue.

Quand la substance est administrée uniquement avant la séance-test, elle peut interférer avec *l'expression* du conditionnement de place, c'est-à-dire modifier la perception du pouvoir attractif (ou de la valeur appétitive) acquis par les stimuli initialement neutres qui ont été associés à la drogue.

La procédure et/ou le dispositif de conditionnement de place peuvent être biaisés ou non. Le dispositif est dit « biaisé », si les animaux présentent une préférence spontanée pour l'un ou l'autre des compartiments (préférence évaluée lors d'un pré-test réalisé avant tout appariement avec une drogue). Dans ce cas, la drogue peut être systématiquement associée au compartiment préféré (ou à l'autre, selon les effets attendus), la procédure est alors également biaisée. Alternativement, l'appariement peut être contrebalancé, la drogue étant associée au compartiment préféré pour la moitié des animaux et au compartiment le moins fréquenté pour l'autre moitié (dispositif biaisé, procédure non biaisée). Dans un dispositif « non biaisé », les animaux naïfs ne présentent pas de préférence spontanée pour l'un ou l'autre des compartiments et par conséquent, la procédure ne peut être que non biaisée également. Dispositif et procédure biaisés sont très critiquables car source de faux positifs. Une augmentation, même statistiquement significative, du temps passé dans le compartiment initialement le moins fréquenté peut ne pas représenter une « préférence », mais une diminution de l'aversion, le temps dans le compartiment associé à la drogue restant inférieur à l'autre. Si, par exemple, une drogue a une forte composante anxiolytique, elle peut s'opposer à l'aversion initiale pour le compartiment non préféré et ainsi augmenter la fréquentation de ce compartiment sans qu'il s'agisse de la manifestation d'un effet appétitif. C'est pourquoi il est souhaitable de privilégier les dispositifs de conditionnement de place non biaisés.

b) Nicotine et Conditionnement de Place

Alors que la plupart des drogues toxicomanogènes induisent une PPC chez le rat et la souris, la capacité de la nicotine à induire ce comportement est moins évidente. Une revue de la littérature portant sur 19 études réalisées entre 1985 et 2004 a ainsi souligné l'hétérogénéité des résultats

obtenus avec la nicotine : 6 études n'observent pas d'effet, 9 obtiennent une préférence et 4 une aversion de place (Le Foll et Goldberg 2005).

De nombreux facteurs peuvent influencer la capacité de la nicotine à induire une préférence de place, tels que l'espèce et la souche du rongeur, la dose de nicotine, la voie et le moment de son administration, ainsi que la durée et le nombre des séances de conditionnement. Il semble que la pré-exposition à la nicotine, l'utilisation d'animaux « adolescents » et la restriction alimentaire constituent des facteurs qui facilitent le développement de la PPC induite par la nicotine (Shoib et coll. 1994; Vastola et coll. 2002; Adriani et coll. 2003; Belluzzi et coll. 2004, 2005). Les procédures « biaisées » favorisent la mise en évidence d'une préférence de place induite par la nicotine, lorsque celle-ci est appariée au compartiment initialement le moins fréquenté (Acquas et coll. 1989; Calcagnetti et Schechter 1994; Le Foll et Goldberg 2005). De même que dans la procédure d'auto-administration, il semble que les nAChRs $\beta 2^*$ soient majoritairement impliqués dans la PPC induite par la nicotine. Ainsi, les souris $\beta 2^{-/-}$ ou des souris sauvages dont les nAChRs $\beta 2^*$ sont bloqués par la DH- β -E n'acquièrent pas ce comportement (Grabus et coll. 2006; Walters et coll. 2006).

3. Discrimination de Drogue

Chez l'Homme, la consommation de drogue psychoactive entraîne des effets subjectifs caractéristiques de la drogue consommée qui peuvent être décrits par le sujet. La capacité de percevoir et d'identifier les effets caractéristiques d'une drogue toxicomanogène donnée semble jouer un rôle critique dans la recherche de drogue car, sur la base de ces effets subjectifs, elle encourage le développement de ce comportement et oriente le toxicomane vers une substance donnée plutôt qu'une autre (Stolerman et Shoib 1991; Colpaert 1999). En général, ces effets subjectifs sont évalués chez l'Homme grâce à des échelles d'auto-évaluation.

Chez l'animal, les procédures de discrimination de drogue permettent d'approcher ce phénomène. De fait, les effets subjectifs des drogues peuvent servir de stimulus discriminant indiquant comment obtenir un renforcement (une pastille de nourriture par exemple).

Dans cette procédure, les animaux peuvent apprendre à appuyer sur un levier A après une injection de nicotine et sur un levier B après une injection de solution saline pour obtenir dans les deux cas une pastille de nourriture délivrée selon le même protocole de renforcement (FR10 ou FR20, le plus souvent). Une fois le conditionnement acquis, on peut administrer une autre molécule afin de

déterminer si elle se substitue à la substance discriminante. Si l'animal appuie sur le levier A, il est possible de conclure que cette molécule induit un ou plusieurs des effets intéroceptifs de la drogue utilisée au cours de l'apprentissage (Desai et coll. 2003; Zaniowska et coll. 2006). Cette procédure permet donc l'évaluation des effets subjectifs des composés pharmacologiques. Elle n'est toutefois, pas sélective des substances d'abus et on ne peut déterminer sur quel(s) stimulus intéroceptif(s) se fait la discrimination.

B. Dépendance à la Nicotine

1. Mesure des Symptômes de Sevrage

L'arrêt brutal de la consommation de drogues toxicomanogènes entraîne des symptômes de sevrage qui peuvent être mesurés chez l'Homme par des échelles standardisées d'auto-évaluation et par des observations cliniques (Hughes et coll. 1991). Des « modèles » animaux ont été développés pour évaluer les signes physiques de sevrage et les perturbations comportementales dues au sevrage. Dans ces procédures, les animaux portent le plus souvent une mini-pompe osmotique implantée sous la peau qui délivre la drogue de façon continue. Le sevrage est provoqué par retrait de la pompe ou administration d'un antagoniste spécifique (Malin et coll. 1992; Watkins et coll. 2000). Les signes physiques observés lors de ce sevrage (grincements de dents, mastications, halètements, tremblements, ébrouements de la tête et du corps, ...) sont alors quantifiés (Malin et coll. 1992; Epping-Jordan et coll. 1998; Isola et coll. 1999; Paterson et Markou 2004). Ils sont souvent accompagnés de perturbations comportementales telles qu'une augmentation du sursaut induit par la présentation d'un son (Helton et coll. 1993), une augmentation du seuil d'auto-stimulation électrique intracérébrale (suggérant une hypoactivité des voies de récompense), ainsi que des états « depressive-like » (Epping-Jordan et coll. 1998). Le sevrage est en outre aversif puisque dans la procédure de conditionnement de place, les rats évitent le compartiment associé à l'abstinence nicotinique induite par la mécamylamine (Suzuki et coll. 1996).

2. « Modèles » de Rechute

La rechute après une longue période d'abstinence est un problème commun à toutes les toxicomanies (Fiore 2000). De nombreux facteurs peuvent contribuer à la rechute, notamment l'exposition aux stimuli contextuels antérieurement associés à la prise de drogue, le stress, les états émotionnels négatifs, la réexposition à la drogue elle-même et les symptômes de sevrage (Brigham et coll. 1990; Kassel et coll. 2003; Shelton et coll. 2004).

Chez l'animal, la rechute peut être modélisée dans deux procédures comportementales : l'auto-administration et le conditionnement de place.

a) Réinstallation du Comportement d'Auto-administration

Il s'agit du modèle le plus fréquemment utilisé. Les animaux sont tout d'abord entraînés à s'auto-administrer la drogue, puis le remplacement de la drogue par une solution saline conduit à l'extinction des réponses. Le comportement d'auto-administration (toujours non renforcé) peut ensuite être réinstallé par l'injection aiguë de la drogue (dose-test), par les stimuli antérieurement associés à l'infusion de la drogue ou par un stress aigu, comme des chocs électriques ou une privation alimentaire (pour revue, voir Shaham et coll. 2003).

Les études concernant la nicotine dans ce modèle sont relativement peu nombreuses en comparaison à d'autres drogues. Chez le rat, après extinction de l'auto-administration, une injection non contingente de nicotine réinstalle les réponses sur le levier initialement associé cette drogue (Chiamulera et coll. 1996; Lindblom et coll. 2002; Andreoli et coll. 2003).

L'exposition aux stimuli environnementaux initialement associés à l'auto-administration de nicotine est aussi à même de réinstaller le comportement éteint (Caggiula et coll. 2001; LeSage et coll. 2004), de même qu'un stress aigu (Buczek et coll. 1999).

Il semble donc qu'après extinction, l'auto-administration de nicotine puisse être réinstallée par les mêmes événements que ceux qui sont actifs pour les autres drogues telles que la cocaïne ou l'héroïne.

b) Réinstallation d'une Préférence de Place Conditionnée

Une fois la préférence de place acquise, le conditionnement peut être éteint de deux façons. L'un des protocoles consiste à administrer la solution saline avant le placement des animaux alternativement dans les deux compartiments de conditionnement (Mueller et coll. 2002). Dans l'autre protocole les animaux reçoivent la solution saline avant d'être placés, à chaque séance, dans le dispositif dans sa configuration test c'est-à-dire avec un accès libre aux deux compartiments (Biala et Budzynska 2006). Ces deux protocoles permettent de « déconditionner » les animaux qui n'associent plus un compartiment avec les effets renforçants de la drogue. Après extinction de la PPC (vérifiée par un test en l'absence de drogue), divers stimuli (les mêmes que pour la réinstallation de l'auto-administration) peuvent réactiver l'attraction exercée sur l'animal par l'environnement initialement associé à la drogue. Ainsi, une dose-test de drogue, que ce soit la cocaïne (Mueller et Stewart 2000; Itzhak et Martin 2002), la morphine (Parker et McDonald 2000; Lu et coll. 2002; Mueller et coll. 2002), la méthamphétamine (Li et coll. 2002) ou l'alcool (Kuzmin et coll. 2003), réinstalle la préférence de place induite par la drogue correspondante. Un stress peut également réinstaller une PPC. Ainsi, des chocs électriques plantaires intermittents (Wang et coll. 2000; Lu et coll. 2002), des stimuli conditionnés associés à de tels chocs (Sanchez et Sorg 2001) ou un stress d'immobilisation (Sanchez et coll. 2003) sont effectifs pour réinstaller la PPC induite par la cocaïne.

De façon surprenante, une seule étude s'est intéressée à la réinstallation de la PPC induite par la nicotine. Celle-ci montre, après 3 séances de déconditionnement dans la configuration « test », une réinstallation par une dose-test de nicotine ou de morphine de la préférence pour le compartiment initialement associé à la nicotine (Biala et Budzynska 2006).

3. Sensibilisation Comportementale

La sensibilisation comportementale est définie par l'augmentation d'une réponse à un stimulus lors de l'exposition répétée à ce stimulus. Dans le cas qui nous intéresse, elle correspond plus particulièrement à l'augmentation d'une réponse comportementale (hyperactivité locomotrice) lors de l'exposition répétée à une dose constante d'une drogue (psychostimulant). Ce phénomène persiste pendant plusieurs mois après la dernière injection. Il a été postulé qu'une telle sensibilisation pouvait avoir un rôle central dans le développement de la toxicomanie vis-à-vis de ces drogues (Robinson et Berridge 1993).

L'exposition répétée ou chronique à la cocaïne ou à la D-amphétamine entraîne une sensibilisation de leurs effets, que ce soit l'hyperactivité locomotrice ou l'augmentation de libération de DA dans le NAcc (Robinson et Berridge 1993). Il en va de même pour la nicotine (Clarke et Kumar 1983; Benwell et Balfour 1992).

L'utilisation d'antagonistes sélectifs suggère que la sensibilisation aux effets comportementaux de la nicotine dépend de l'activation de nAChRs contenant la sous-unité $\alpha 4$ (Tapper et coll. 2004), mais pas $\alpha 7$ (Kempsill et Pratt 2000). Le système dopaminergique mésolimbique semble impliqué car la nicotine peut induire une sensibilisation locomotrice quand elle est injectée directement dans l'ATV ou le NAcc (Kita et coll. 1992).

De façon intéressante, le développement de la sensibilisation comportementale induite par des drogues non nicotiniques peut être bloqué par un antagoniste non sélectif des nAChRs, la mécamylamine, ou par un antagoniste sélectif des récepteurs de type $\beta 2^*$, la DH- β -E, comme c'est le cas pour la cocaïne et/ou l'amphétamine (Schoffelmeer et coll. 2002). Il semble donc que la neurotransmission cholinergique joue un rôle important dans la sensibilisation comportementale induite par les psychostimulants.

C. Autres Effets de la Nicotine

1. Cognition

a) Mémoire

Des données cliniques et précliniques indiquent que la nicotine améliore les fonctions cognitives (Warburton et Rusted 1993; Hahn et coll. 2002; Levin et Rezvani 2002), et certains pensent que cet effet participe aux effets renforçants du tabac (Heishman 1999).

(1) Données Cliniques

Diverses études cliniques ont mis en évidence l'efficacité de la nicotine pour faciliter l'apprentissage et la mémorisation chez le sujet sain (Peeke et Peeke 1984; Warburton et coll. 1986) ainsi que chez des patients présentant des déficits mnésiques et attentionnels, comme par

exemple ceux souffrant de la maladie d'Alzheimer (Jones et coll. 1992). La nicotine a d'ailleurs été proposée comme traitement chez ces patients (Changeux et coll. 1998; Levin et Rezvani 2000; Picciotto et Zoli 2002). Cependant, une étude récente indique une altération des capacités cognitives chez les gros fumeurs (mesurées entre 43 et 53 ans) (Richards et coll. 2003).

(2) Données Animales

(a) Effets aigus

Chez le rat, la nicotine améliore la mémoire de travail dans des tâches de labyrinthe radial et de piscine de Morris (Levin et coll. 1997; Attaway et coll. 1999); elle facilite l'acquisition, la rétention et la restitution de l'information dans une tâche de reconnaissance d'objet (Puma et coll. 1999) et, chez les souris soumises à une tâche d'évitement passif, elle augmente la rétention de façon proportionnelle à la dose (Ciamei et coll. 2001).

La nicotine améliore les performances mnésiques de singes jeunes et âgés (Elrod et coll. 1988; Buccafusco et Jackson 1991), de rats âgés (Socci et coll. 1995; Levin et Torry 1996), ainsi que de souris à sénescence accélérée (Meguro et coll. 1994). Elle restaure également en partie la mémoire spatiale de rats porteurs d'une lésion de l'un des principaux noyaux cholinergiques, le septum médian (Decker et coll. 1992).

(b) Effets chroniques

L'infusion chronique de nicotine augmente la mémoire de travail de rats jeunes, mais est sans effet chez les rats âgés, dans une tâche de labyrinthe radial (Levin et Torry 1996). Ces effets semblent persister même après le sevrage (Levin et coll. 1990), contrairement à la détérioration des capacités mnésiques généralement rapportée chez les fumeurs lors du sevrage tabagique (pour revue, voir Heishman 1999).

Des infusions chroniques de nicotine sont aussi efficaces pour compenser des déficits de mémoire de travail induits par des lésions cholinergiques (Levin et coll. 1993; Hiramatsu et coll. 2002).

(c) nAChRs impliqués

Des études récentes indiquent que les nAChRs $\alpha 7$ sont impliqués dans les effets mnésiques de la nicotine. Ainsi, un agoniste sélectif $\alpha 7$ (AR-R 17779) améliore significativement l'apprentissage et la mémoire dans une épreuve de labyrinthe radial et dans le test de reconnaissance sociale chez le

rat (Levin et coll. 1999 ; Van Kampen et coll. 2004), et un agoniste partiel de ces récepteurs (GTS 21) favorise aussi l'apprentissage et la mémoire de rats âgés (Arendash et coll. 1995).

De plus, les nAChRs $\beta 2^*$ et $\alpha 7$ semblent impliqués dans la mémoire, car, par eux-mêmes, les antagonistes de ces récepteurs, respectivement la DH- β -E et la MLA, administrés dans l'hippocampe ventral, abaissent les performances des rats dans une tâche de mémoire de travail en labyrinthe radial (Levin et coll. 2002).

b) Attention

Malgré l'efficacité apparente de la nicotine dans des tâches mnésiques faisant notamment intervenir la mémoire de travail, il est possible que ces effets résultent d'une amélioration des processus attentionnels. De fait, beaucoup d'auteurs pensent que les améliorations des performances dans les tâches mnésiques sont la conséquence d'une action pro-attentionnelle car les effets « pro-mnésiants » les plus robustes de la nicotine sont observés dans des situations avec une forte exigence attentionnelle (pour revue, voir Newhouse et coll. 2004).

(1) Données Cliniques

Des adultes non fumeurs ne présentant pas d'hyperactivité avec désordre attentionnel (ADHD), et recevant de la nicotine par patches à la dose de 7 mg/kg/jour, manifestent une augmentation significative des scores dans une tâche attentionnelle (Levin et coll. 1998).

Dans une autre étude réalisée chez des sujets fumeurs abstinents depuis au moins 10 heures, la nicotine dispensée par patch de 21 mg appliqué pendant 6 h améliore aussi certaines composantes attentionnelles dans différents tests (Mancuso et coll. 1999).

La nicotine est donc capable d'améliorer les performances attentionnelles de sujets fumeurs ou non.

Enfin, des études par IRMf ont montré que, chez des sujets fumeurs soumis à une tâche d'attention visuelle, la nicotine induit des effets pro-attentionnels en même temps qu'elle active le cortex pariétal, le thalamus et le noyau caudé (Lawrence et coll. 2002). Une autre étude chez des sujets non fumeurs effectuant une autre tâche attentionnelle (n-back) montre que la nicotine accroît l'activation du cortex frontal, pariétal et cingulaire antérieur (Kumari et coll. 2003).

(2) Données Animales

Certaines tâches chez l'animal permettent de cibler plus précisément les processus attentionnels.

Ainsi, chez des rates soumises à une épreuve de détection d'un signal visuel, de faibles doses de nicotine (0,0125-0,05 mg/kg) augmentent les choix corrects, ce qui suggère une amélioration de l'attention (Rezvani et coll. 2002; Rezvani et Levin 2003a,b).

La procédure de « temps de réaction en série à cinq choix » (5-Choice Serial Reaction Time Task, 5-CSRTT) nécessite la détection par l'animal d'un signal lumineux présenté brièvement et de façon aléatoire à l'un des cinq emplacements possibles du dispositif expérimental. Dans cette tâche chez le rat, la nicotine en injection aiguë ou subchronique, ou le SIB 1765F, agoniste sélectif des nAChRs $\alpha 4\beta 2$, en subchronique, augmente le nombre de réponses correctes et diminue la latence des réponses. En revanche, le AR-R 17779, agoniste sélectif des nAChRs $\alpha 7$, n'a pas d'effet (Grottick et Higgins 2000; Stolerman et coll. 2000). En concordance avec ces résultats, la DH- β -E, antagoniste $\beta 2^*$, bloque les effets pro-attentionnels de la nicotine dans le 5-CSRTT, alors que la MLA, antagoniste $\alpha 7$, est inactive (Blondel et coll. 2000).

Il semble donc que les nAChRs $\alpha 4\beta 2$ soient plus particulièrement impliqués dans les effets de la nicotine dans cette épreuve. Un rôle des récepteurs $\alpha 7$ ne peut toutefois être écarté puisque les souris KO pour la sous-unité $\alpha 7$ ($\alpha 7^{-/-}$) présentent des déficits attentionnels dans le 5-CSRTT (Young et coll. 2004).

Il a aussi été montré chez le rat que la nicotine annule les déficits attentionnels induits par des lésions du « basal forebrain » (Muir et coll. 1995). Enfin, chez des rates soumises à une procédure opérante de détection d'un signal visuel, l'infusion chronique de nicotine atténue significativement les déficits de performances attentionnelles induits par des antipsychotiques (halopéridol, clozapine et rispéridone) (Rezvani et Levin 2004).

Ainsi, ces effets pro-attentionnels peuvent amplement contribuer aux effets pro-mnésiants de la nicotine.

2. Anxiété

De nombreuses études animales et humaines ont mis en évidence des effets de la nicotine sur l'anxiété. Différentes structures ont été impliquées dans ces effets, notamment le septum latéral, le noyau raphé dorsal (NRD), l'hippocampe ou encore le système dopaminergique mésolimbique (pour revue, voir Picciotto et coll. 2002).

(a) Effets aigus

La nicotine peut avoir une action anxiolytique ou anxiogène selon la dose utilisée, le mode d'administration et le contexte environnemental (Kenny et coll. 2000; Cheeta et coll. 2001), et il semble que ces deux effets mettent en jeu des structures cérébrales et des récepteurs différents.

Dans le test d'interactions sociales, la nicotine administrée par voie parentérale induit des effets anxiolytiques à faibles doses et anxiogènes à fortes doses (File et coll. 1998) et il semble que 2 structures différentes sous-tendent ces 2 effets. Ainsi, chez le rat, la microinjection d'une faible dose de nicotine (5-10 ng) dans le NRD entraîne une augmentation du temps passé en interactions sociales. Cet effet, considéré comme le reflet d'une diminution d'anxiété, est bloqué par une co-infusion de DH- β -E (Cheeta et coll. 2001). Les effets anxiolytiques de la nicotine impliqueraient donc la stimulation des nAChRs β 2* dans le raphé dorsal. En revanche, l'infusion de nicotine (1-4 ng) dans l'hippocampe dorsal ou le septum latéral semble avoir des effets de type anxiogène dans la même procédure (File et coll. 2000; Cheeta et coll. 2001a), et cet effet pourrait impliquer les nAChRs α 7, au moins au niveau de l'hippocampe dorsal (Tucci et coll. 2003).

(b) Effets chroniques

Dans le test du labyrinthe en croix surélevé chez le rat, un effet de type anxiolytique a été décrit avec des administrations systémiques chroniques de nicotine, à des doses n'ayant pas d'effet en aigu (Olausson et coll. 2001).

Une tolérance aux effets anxiolytiques de la nicotine (Cheeta et coll. 2001) ou le développement d'effets anxiogènes (Irvine et coll. 2001) avec la répétition des administrations a également été rapporté dans le test d'interactions sociales chez le rat.

3. Activité Motrice

La nicotine est un psychostimulant, mais ses effets sur l'activité locomotrice des animaux ne sont pas aussi clairs que ceux d'autres psychostimulants comme l'amphétamine ou la cocaïne. Ainsi, les effets moteurs de la nicotine semblent dépendre de plusieurs facteurs.

L'espèce et la souche de l'animal, ainsi que le contexte environnemental jouent un rôle important (pour revue, voir Picciotto 2003). La nicotine stimule généralement l'activité motrice chez le rat, alors qu'elle réduit la locomotion chez la plupart des souches de souris (Marks et coll. 1989). Chez le rat, les effets hyperlocomoteurs sont généralement observés dans un environnement familier et sont bloqués par la DH- β -E (Stolerman et coll. 1997). La nicotine peut toutefois induire une hypoactivité lorsque les rats sont exposés à un nouvel environnement (Clarke et Kumar 1983), et cet effet est alors annulé par la mécamylamine mais pas par la DH- β -E (Stolerman et coll. 1997). L'activation des nAChRs $\alpha 4\beta 2$ semble donc responsable de la stimulation motrice, alors que l'hypoactivité résulterait de la stimulation d'autres sous-types de nAChRs.

L'infusion locale de nicotine dans l'ATV, mais non dans le NAcc, stimule également l'activité motrice de rats placés dans un environnement familier (Ferrari et coll. 2002); l'action hyperlocomotrice de la nicotine semble donc impliquer préférentiellement l'ATV.

L'utilisation de souris KO pour différentes sous-unités des nAChRs a permis de montrer que les sous-unités $\alpha 4$, $\beta 4$ et $\beta 2$, mais pas $\alpha 7$, sont importantes dans les effets hypolocomoteurs de la nicotine chez cette espèce (Marubio et coll. 2003; Salas et coll. 2004; Tritto et coll. 2004).

4. Plasticité Synaptique

La plasticité synaptique peut englober plusieurs phénomènes qui contribuent à modifier l'efficacité synaptique en affectant la formation de nouvelles synapses (neurogenèse), l'expression de facteurs neurotrophiques ou neuroprotecteurs, le nombre de récepteurs, ou encore les propriétés électrophysiologiques des neurones (potentialisation et dépression à long terme, LTP/LTD). Par exemple, la LTP augmente, et la LTD réduit la transmission synaptique, effet qui se maintient pendant de longues périodes (Bliss et Lomo 1973).

a) Nicotine et Neurogenèse

La zone subgranulaire du gyrus denté (GD), qui fait partie de l'hippocampe, est l'une des rares structures cérébrales à présenter une neurogenèse (formation de nouveaux neurones) qui continue à l'âge adulte (Altman 1962; Eriksson et coll. 1998). Or, l'hippocampe joue un rôle majeur dans l'apprentissage (notamment spatial) et les processus mnésiques (Morris et coll. 1982; Jacobs et Schenk 2003). La neurogenèse a été corrélée aux performances dans des apprentissages qui impliquent l'hippocampe (Gould et coll. 1999; Shors et coll. 2001). Généralement, les traitements qui améliorent les fonctions cognitives augmentent aussi la neurogenèse dans le GD (Brown et coll. 2003; Santarelli et coll. 2003).

Les rares études qui se sont intéressées aux effets de la nicotine dans ce registre tendent à indiquer, de façon surprenante, qu'elle diminue la neurogenèse (Abrous et coll. 2002; Shingo et Kito 2005). Cependant, une étude récente chez le rat, qui a évalué en parallèle les effets de l'administration chronique de différentes doses de nicotine sur la neurogenèse et sur les performances dans une tâche de mémoire spatiale, indique qu'à dose élevée la nicotine diminue la neurogenèse ainsi que l'acquisition et la rétention de l'apprentissage spatial, alors qu'une dose faible tend à améliorer l'acquisition de la tâche et n'a pas d'effet sur la neurogenèse (Scerri et coll. 2006). L'effet délétère de la nicotine sur la neurogenèse semble donc présent uniquement à fortes doses, et est associé à une diminution des performances cognitives. Dans la mesure où des stimuli stressants inhibent la neurogenèse dans l'hippocampe (Gould et Tanapat 1999), les propriétés anxiogènes des fortes doses de nicotine (File et coll. 1998) pourraient être en relation avec ces effets, voire y contribuer.

Par ailleurs, la nicotine augmente la densité dendritique dans le shell du NAcc et dans le cortex préfrontal (CxPF) median (Brown et Kolb 2001), mais la diminue dans le CxPF orbitaire (Gonzalez et coll. 2005).

Globalement, les effets, plutôt délétères, de la nicotine sur la neurogenèse ne valident pas les hypothèses d'un rôle de cette dernière dans les processus d'apprentissage.

b) Effets Neuroprotecteurs et Trophiques de la Nicotine

Différentes études *in vitro* et *in vivo* suggèrent que la nicotine a des effets neuroprotecteurs et trophiques. *In vitro*, la nicotine protège des cultures de neurones corticaux, cérébelleux (*via* les nAChRs $\alpha 7$) et striataux contre la cytotoxicité induite par l'activation des récepteurs NMDA

(Akaike et coll. 1994; Marin et coll. 1994; Kaneko et coll. 1997; Minana et coll. 1998). Elle a également un rôle protecteur contre la potentialisation par la dexaméthasone de la neurotoxicité de l'acide kaïnique sur des neurones hippocampiques en culture (Semba et coll. 1996). De plus, la nicotine peut « sauver » les cellules PC12 de la mort induite par une privation en un facteur trophique, le nerve growth factor (NGF) (Yamashita et Nakamura 1996).

In vivo chez le rat, la nicotine protège contre la mort neuronale induite par ischémie dans la région CA1 de l'hippocampe (Nanri et coll. 1998). En traitement chronique, elle s'oppose à la dégénérescence des neurones dopaminergiques mésostriataux après hémitranssection partielle (Janson et coll. 1988). Chez la souris, la dégénérescence des neurones dopaminergiques de la voie nigro-striée, la diminution des taux de dopamine (DA) dans le striatum et la baisse d'activité locomotrice spontanée induites par une neurotoxine, le 1-méthyl 4-phenyl 1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP), sont atténuées par la nicotine en chronique (Gao et coll. 1998). De plus, une administration aiguë de nicotine protège les neurones dopaminergiques de la dégénérescence provoquée par l'injection systémique de MPTP ou de méthamphétamine, « modèle » de la maladie de Parkinson chez la souris (Maggio et coll. 1998).

Les effets neuroprotecteurs et/ou trophiques de la nicotine pourraient résulter de la haute perméabilité au calcium des nAChRs (et notamment du sous-type $\alpha 7$). En effet, l'influx de calcium dans la cellule peut entraîner des cascades intracellulaires et ainsi conduire à l'activation de protéines kinases, à l'initiation de gènes précoces et à la synthèse de nouvelles protéines, pour finalement modifier la plasticité synaptique et le remodelage neuronal. De fait, Messi et coll. (1997) ont montré que l'activation des nAChRs $\alpha 7$ permet la survie de motoneurones de la corne ventrale de la moelle épinière en absence de facteurs trophiques, et que cet effet dépend de l'influx calcique.

Les facteurs trophiques sont nécessaires pour maintenir la fonction et la survie de nombreuses populations neuronales (Barde 1989; Sofroniew et coll. 1990) et une réduction de leur expression pourrait entraîner l'atrophie neuronale chez le sujet âgé normal ou la perte neuronale observée dans les maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer ou de Parkinson (Hefti 1983; Johnson et coll. 1989; Connor et Dragunow 1998). Or, l'infusion intra-hippocampique de nicotine augmente de façon transitoire le taux d'un facteur trophique (le NGF) dans la couche CA1 et le gyrus denté de l'hippocampe (French et coll. 1999). En injections aiguës intermittentes chez le rat, la nicotine augmente les taux de BDNF (brain-derived neurotrophic factor) dans le striatum (Maggio et coll. 1998) et les niveaux d'ARNm du FGF-2 (fibroblast growth factor-2) dans le cortex, l'hippocampe et le striatum (Belluardo et coll. 1998). Enfin, l'expression du récepteur au

NGF par des cellules neuronales PC12 est augmentée lorsque le milieu de culture contient de la nicotine (Terry et Clarke 1994).

Ainsi, la modulation de l'expression de certains facteurs trophiques par la nicotine constitue un mécanisme possible de ses effets neuroprotecteurs.

c) Nicotine et « Up-regulation » de ses Récepteurs

Comme tous les agonistes, la nicotine active et désensibilise ses récepteurs. Toutefois, elle possède une propriété particulière, puisqu'elle est également capable d'induire une *augmentation* du nombre de ses propres récepteurs (Marks et coll. 1983; Benwell et coll. 1988). Ce processus se manifeste lors d'une exposition chronique dont la durée peut varier de quelques heures à plusieurs semaines, selon la dose de nicotine. Ce phénomène est paradoxal, puisqu'on observe généralement une réduction du nombre de récepteurs après leur sur-stimulation.

Cette « up-régulation » a été mise en évidence *post-mortem* dans le cerveau de fumeurs (Benwell et coll. 1988; Perry et coll. 1999). Les données animales suggèrent qu'elle induit une potentialisation de l'augmentation par la nicotine des concentrations de DA dans le NAcc (Rowell et Wonnacott 1990; Yu et Wecker 1994), processus lui-même lié aux effets renforçants des drogues toxicomanogènes (Dani et coll. 2001; Dani et De Biasi 2001). Ainsi, les nAChRs régulés positivement semblent fonctionnels et cette augmentation du nombre de nAChRs peut contribuer aux effets appétitifs de la nicotine et à son addiction. Toutefois, les mécanismes moléculaires et cellulaires impliqués dans ce phénomène sont encore matière à débats.

(1) Quels sous-types de nAChRs sont régulés positivement ?

Une grande majorité de sous-types de nAChRs sont régulés positivement par la nicotine, y compris les récepteurs $\alpha 7$ (Ke et coll. 1998; Rasmussen et Perry 2006) et les récepteurs hétéromériques (Gopalakrishnan et coll. 1996; Wang et coll. 1998; Xiao et Kellar 2004). Cependant, seule une petite proportion d'entre eux est augmentée à des concentrations de nicotine équivalentes à celles observées dans le sang des fumeurs (Buisson et Bertrand 2002). Ainsi, des études d'autoradiographie de cerveau de rat indiquent qu'à des concentrations micromolaires (proches de celles trouvées dans le cerveau de fumeurs), la nicotine induit une augmentation du nombre de nAChRs qui touche principalement les récepteurs de type $\alpha 4\beta 2$ et dans une plus faible proportion les récepteurs $\alpha 3\beta 2$ et ceux contenant la sous-unité $\beta 4$ (Nguyen et coll. 2003). De plus, des études

d'immunoabsorption avec des anticorps spécifiques montrent une augmentation des sous-unités $\alpha 4$, $\beta 6$ et $\beta 2$ (Parker et coll. 2004).

(2) Mécanismes Moléculaires et Cellulaires Possiblement Impliqués

Certaines études ont montré que ce phénomène de régulation positive n'était pas associé à des modifications des taux d'ARNm des sous-unités des nAChRs, ce qui implique des modifications post-transcriptionnelles (Marks et coll. 1992; Peng et coll. 1994; Bencherif et coll. 1995; Ke et coll. 1998). De plus, cette « up-régulation » peut être observée en l'absence de synthèse protéique (Wang et coll. 1998; Darsow et coll. 2005), ce qui suggère qu'elle puisse résulter de modifications post-traductionnelles.

Il semble que la nicotine induise la régulation positive de ses récepteurs en se fixant au site de liaison nicotinique « standard » (à l'interface des sous-unités α et β) mais sur des nAChRs intracellulaires immatures, à faible affinité, au niveau du réticulum endoplasmique (pour revue, voir Corringer et coll. 2006). Ainsi, la nicotine, en plus de ses effets « normaux » d'activation et de désensibilisation des nAChRs à la surface des cellules, se lierait à des précurseurs intracellulaires des nAChRs, perturbant ainsi une étape clef dans le processus de maturation du récepteur.

d) Potentialisation et Dépression à Long Terme

La potentialisation et la dépression à long terme (LTP/LTD) entraînent des modifications durables de l'efficacité de la transmission synaptique, et sont considérées comme des processus impliqués dans le stockage de l'information (Bliss et Lomo 1973; Martin et Morris 2002). Elles joueraient un rôle majeur dans l'établissement de mémoires liées à la pharmacodépendance, en particulier à la nicotine (Dani et coll. 2001).

La nicotine induit une LTP dans l'hippocampe (Fujii et coll. 1999), probablement *via* les nAChRs $\alpha 4\beta 2$ et $\alpha 7$ (Matsuyama et Matsumoto 2003). Elle induit aussi une LTP dans l'ATV, en agissant sur les nAChRs $\alpha 7$ présents sur les terminaisons des voies glutamatergiques qui projettent sur les neurones dopaminergiques mésolimbiques (Mansvelder et McGehee 2000). Enfin, le blocage des nAChRs $\beta 2^*$ par la DH- β -E s'oppose à une LTD dépendant de la DA dans le striatum, ce qui suggère que, dans cette structure, la nicotine induit ce phénomène de plasticité synaptique *via* l'activation de nAChRs $\alpha 4\beta 2$ présents sur les terminaisons des neurones dopaminergiques

(Partridge et coll. 2002). La LTP et la LTD semblent toutes deux impliquées dans les processus mnésiques, et pourraient jouer un rôle important dans l'établissement et le maintien à long terme des souvenirs liés aux drogues d'abus, et notamment à la nicotine (pour revue, voir Dani et coll. 2001).

Les phénomènes de plasticité synaptique pourraient ainsi participer aux effets de la nicotine, à leur association aux stimuli environnementaux et éventuellement à leur rappel. La réalité d'un tel rôle reste cependant à établir.

III. Systèmes Neurobiologiques Impliqués dans l'Action de la Nicotine

1. Système Dopaminergique

a) Généralités

La dopamine (DA, dihydroxyphényléthylamine), neurotransmetteur du SNC, est impliquée dans diverses fonctions (thermorégulation, comportement alimentaire, contrôle de l'activité motrice, comportement sexuel, mémoire, attention, cognition, régulation de l'humeur), ainsi que dans les processus motivationnels, et c'est à ce titre qu'elle est considérée ici.

La biosynthèse de la DA est illustrée par la Figure 1.7 a. La DA est synthétisée dans le cytosol des neurones catécholaminergiques. Elle est stockée dans des vésicules au niveau des terminaisons neuronales *via* le transporteur vésiculaire des monoamines VMAT-2. La libération de la DA est « calcium-dépendante » et déclenchée par l'arrivée de potentiels d'action (PA). La quantité de DA libérée dépend donc de l'activité électrique du neurone, les décharges en bouffées entraînant la plus forte libération de DA. Une fois libérée, la DA peut être soit dégradée (Figure 1.7 b), soit recaptée par les terminaisons qui l'ont libérée. La recapture, assurée par un transporteur, le DAT, représente le principal processus d'inactivation et de recyclage de l'amine (environ 80%). Une fois dans le cytosol, la DA est soit dégradée, soit restockée dans les vésicules *via* VMAT-2.

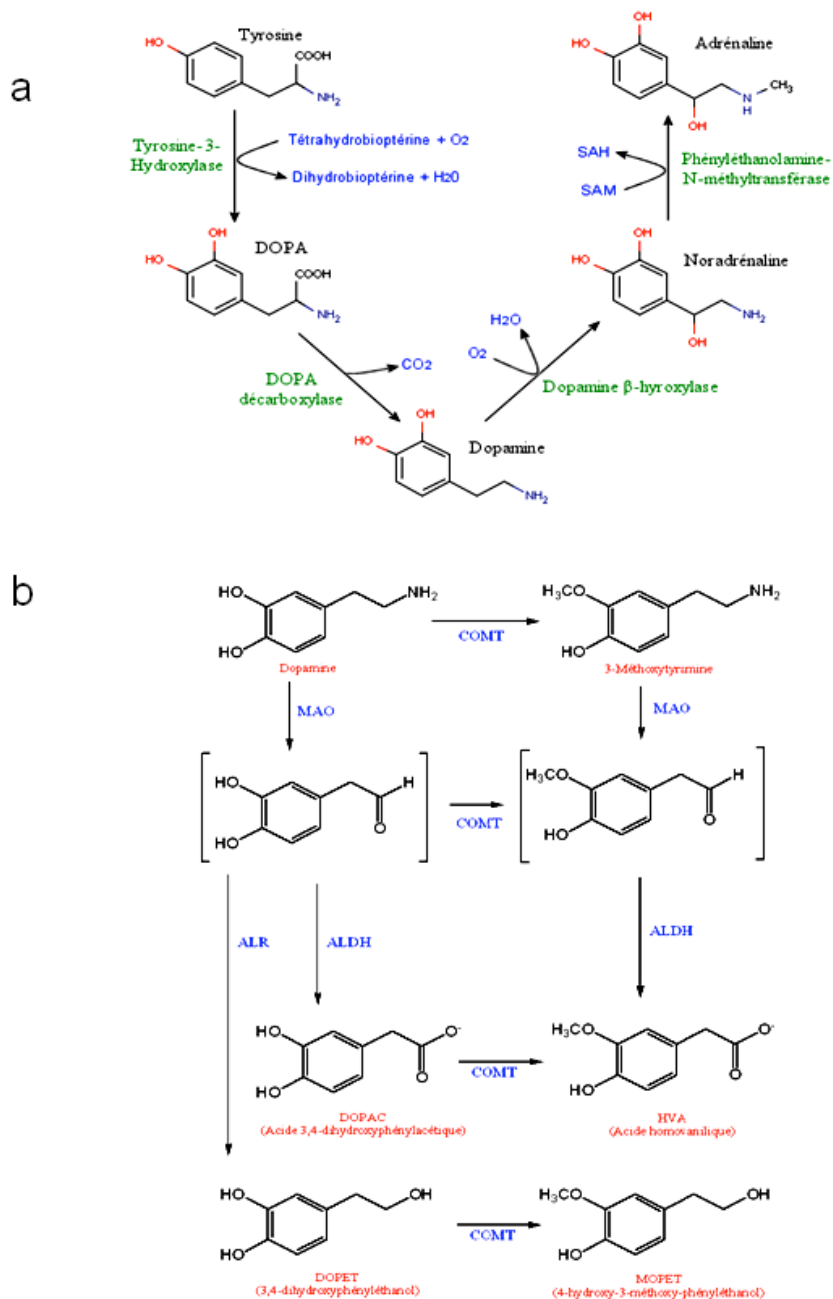


Figure 1.7 - Métabolisme des catécholamines

a: Biosynthèse de la dopamine, la noradrénaline et l'adrénaline

b: Catabolisme de la dopamine

Abréviations : MAO : monoamine oxydase ; COMT : catéchol-O-méthyl transférase ; ALDH : aldéhyde déshydrogénase ; ALR : aldéhyde reductase.

b) Anatomie

On fait généralement la distinction entre les systèmes dopaminergiques à neurones longs et ceux à neurones courts (pour revue, voir Tassin 1989).

Ainsi que le schématise la Figure 1.8, les systèmes de projection à neurones longs comprennent :

- la voie nigrostriée, dont les corps cellulaires sont situés dans la partie compacte de la substance noire (SNc, aire A9). Leurs dendrites s'arborescent dans la partie réticulée de la substance noire (SNr, aire A9) et leurs axones projettent dans le striatum dorsal. Cette voie est principalement impliquée dans l'initiation et le contrôle de la motricité extrapyramidale.

- la voie mésocorticolimbique, dont les corps cellulaires se trouvent dans l'ATV (aire A10). Leurs axones projettent d'une part dans le NAcc, l'amygdale et le complexe septo-hippocampique, formant la voie mésolimbique, et d'autre part dans le cortex préfrontal (CxPF), cingulaire antérieur, piriforme et entorhinal, formant la voie mésocorticale.

Le système mésocorticolimbique semble être préférentiellement impliqué dans les processus motivationnels.

Les systèmes de projection à neurones courts comprennent :

- la voie tubéroinfundibulaire, dont les corps cellulaires se trouvent dans les noyaux arqués et périventriculaires de l'hypothalamus (aire A12) et projettent vers l'éminence médiane, la tige et le lobe intermédiaire de l'hypophyse ainsi que vers la post-hypophyse.

- la voie périventriculaire, dont les corps cellulaires sont situés dans le pont, le mésencéphale et le diencéphale et projettent vers l'hypothalamus, l'habénula et les noyaux du raphé.

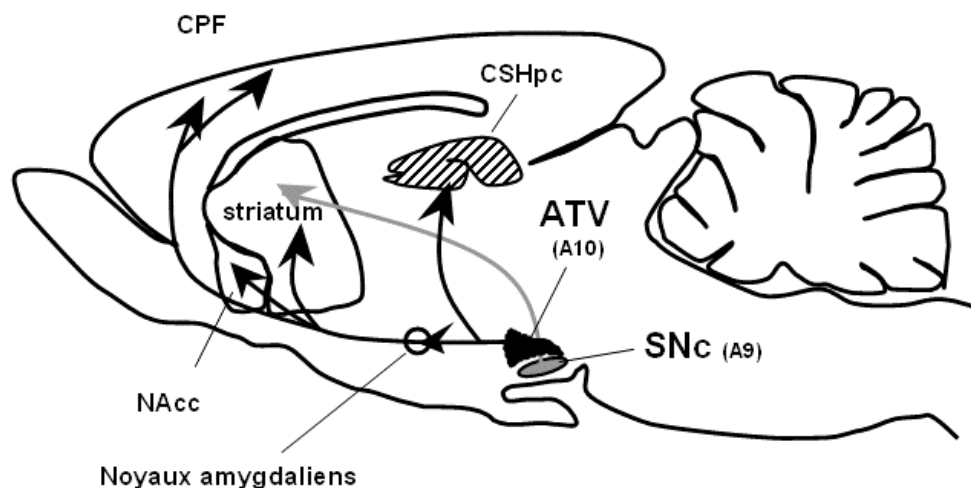


Figure 1.8 : Représentation schématique des principales voies dopaminergiques à neurones longs chez le rat.

ATV: aire tegmentale ventrale; SNC: substance noire compacte; NAcc: noyau accumbens; CPF: cortex préfrontal; CSHpc: complexe septo-hippocampe.

c) Les Récepteurs Dopaminergiques

On dénombre 5 types de récepteurs dopaminergiques codés par des gènes distincts. Ils appartiennent tous à la superfamille des récepteurs à 7 domaines transmembranaires couplés aux protéines G (pour revue, voir Sokoloff et Schwartz 1995). Ces récepteurs sont regroupés en 2 classes. Les récepteurs de type D1 (D1 et D5) sont couplés à une protéine de type Gs dont l'activation entraîne une augmentation de la production d'AMPc *via* la stimulation de l'adénylate cyclase (Kebabian et coll. 1984). Les récepteurs de types D2 (D2, D3, D4) sont couplés à des protéines de types Gi/o dont l'activation entraîne une réduction de la production d'AMPc *via* l'inhibition de l'adénylate cyclase (Odagaki et coll. 1998). (Tableau 1.7)

Récepteurs	Protéines G	Localisation cérébrale	références
D1	Gs	striatum, NAcc, tubercules olfactifs, îlots de Calleja, hypothalamus, thalamus, hippocampe, CxPF et amygdale.	Freneau et coll. 1991; Weiner et coll. 1991.
D2	Gi/o	striatum, tubercules olfactifs, cœur du NAcc, noyau central de l'amygdale, hypothalamus, cortex préfrontal et entorhinal, SNc et ATV.	Meador-Woodruff et coll. 1989; Le Moine et Bloch 1995.
D3	Gi/o	aires limbiques : îlots de Calleja, tubercules olfactifs, parties ventromédiane et rostrale de l'écorce du NAcc, hippocampe, amygdale, noyau de la strie terminale et ATV.	Sokoloff et coll. 1990; Bouthenet et coll. 1991; Diaz et coll. 1995; Levant 1998.
D4	Gi/o	cortex frontal, amygdale, hypothalamus, cervelet, striatum, NAcc.	Khan et coll. 1998
D5	Gs	hippocampe, noyau mamillaire médian et noyau parafasciculaire du thalamus.	Tiberi et coll. 1991; Meador-Woodruff et coll. 1992.

Tableau 1.7 - Localisation des récepteurs dopaminergiques dans le SNC.

Les récepteurs D1 sont les récepteurs dopaminergiques les plus représentés. Les récepteurs D2 et D3 semblent jouer un rôle important dans la régulation de la transmission dopaminergique par rétrocontrôle négatif (Tepper et coll. 1997; Joseph et coll. 2002; Zapata et Shippenberg 2002). Ainsi la DA, en se fixant sur les autorécepteurs D2 et/ou D3 exprimés sur les dendrites et les corps cellulaires des neurones dopaminergiques, hyperpolarise la membrane, ce qui induit un

ralentissement de l'activité électrique neuronale et donc une diminution de la libération de DA dans les aires de projections. La DA peut aussi inhiber sa libération en se fixant sur les autorécepteurs D2 et/ou D3 présents au niveau des terminaisons dopaminergiques (Kreiss et coll. 1995; Gobert et coll. 1996).

d) Caractéristiques Électrophysiologiques des Neurones Dopaminergiques

Les neurones dopaminergiques fonctionnent selon un mode tonique (fréquence de décharges relativement stable, 0,5-8 PA/s) ou phasique (fréquence irrégulière, décharges en bouffées, 15-50 PA/s) (Schultz 1986; Hyland et coll. 2002). C'est essentiellement l'activité phasique et les décharges en bouffées qui sont responsables de la libération de DA dans les structures de projection.

e) Dopamine et « Circuit de Récompense »

Le « circuit de récompense » est constitué d'un ensemble de voies neuronales impliquées dans la perception de la valeur appétitive des renforcements positifs, dans l'intégration de stimuli environnementaux prédictifs d'une récompense et dans leur traduction en réponses motrices adaptées à sa recherche. Ce circuit comprend plusieurs systèmes neuronaux dont le plus important semble être le système dopaminergique. De fait, les neurones dopaminergiques mésolimbiques et mésocorticaux jouent un rôle clé dans les processus motivationnels (Wise 2002). Ces neurones innervent plusieurs structures impliquées dans les processus émotionnels et cognitifs, en particulier le NAcc et le CxPF.

Le NAcc peut être considéré comme une interface entre les processus qui sous-tendent la motivation et l'action car il reçoit les informations provenant des autres structures limbiques, les intègre et les transmet au système moteur *via* le pallidum ventral (Robbins et Everitt 1996; Kalivas et Nakamura 1999).

f) Implications possibles du Système Dopaminergique dans les Processus de Récompense

Plusieurs hypothèses ont été proposées quant au rôle de la DA dans les processus de récompense (pour revue, voir Berridge 2006).

La première, dite de l'hédonie, suggère que le système dopaminergique mésocorticolimbique soutient le « plaisir » associé à la récompense. Elle repose sur le fait que ce système est activé par la plupart des récompenses naturelles et par toutes les drogues d'abus (pour revue, voir Wise et Bozarth 1985).

Selon une autre hypothèse, la DA serait plutôt impliquée dans des processus d'activation sensorimotrice. De fait, de nombreuses données indiquent que la DA joue un rôle dans la génération de l'action, l'effort, le mouvement, l'attention ou encore l'éveil (Salamone et coll. 1994; Redgrave et coll. 1999; Horvitz 2002; Dommett et coll. 2005). Ainsi, chez le rat, de faibles doses d'antagonistes dopaminergiques entraînent un changement de stratégie, l'animal préférant les tâches faciles et faiblement récompensées aux tâches fortement récompensées mais qui demandent un plus grand effort (pour revue, voir Salamone et Correa 2002). Cette hypothèse est toutefois très générale et ne permet pas d'expliquer les aspects plus spécifiques à la récompense.

Certains auteurs suggèrent que le système dopaminergique serait plutôt impliqué dans l'apprentissage et la prédiction de l'occurrence de la récompense. Cette hypothèse repose sur le fait qu'après apprentissage, les neurones dopaminergiques s'activent lors de la présentation des stimuli qui annoncent la récompense, plutôt que lors de l'arrivée de la récompense elle-même (pour revue, voir Schultz et coll. 2000).

D'autres auteurs pensent que le système dopaminergique modulerait la saillance motivationnelle attribuée aux drogues et aux stimuli associés. Cette hypothèse repose notamment sur les travaux de Robinson et Berridge selon lesquels la DA serait impliquée dans l'envie de drogue (« wanting ») plutôt que dans ses effets hédoniques (« liking ») (pour revue, voir Berridge et Robinson 1998). Selon cette hypothèse, la DA augmenterait l'importance de la valeur attribuée aux stimuli associés à la prise de drogue, ce qui pourrait conduire à un désir compulsif de drogue.

La question du rôle de la DA dans les processus motivationnels et l'addiction aux drogues n'est donc pas encore résolue.

g) Nicotine et Système Dopaminergique

(1) Récepteurs Nicotiniques et Système Dopaminergique

Les neurones dopaminergiques de l'ATV expriment trois types de nAChRs, les récepteurs homomériques $\alpha 7$ (moins de la moitié de ces neurones expriment ce récepteur) et deux ne contenant pas la sous-unité $\alpha 7$, qui peuvent être du type $(\alpha 4)_2\alpha 5(\beta 2)_2$ et $\alpha 4\alpha 5\alpha 6(\beta 2)_2$ (Pidoplichko et coll. 1997; Klink et coll. 2001; Wooltorton et coll. 2003) (Figure 1.9)

Dans le striatum, 4 populations de nAChRs ont été identifiées sur les terminaisons des neurones dopaminergiques : les formes $\alpha 4\beta 2$, $\alpha 4\alpha 5\beta 2$, $\alpha 6\beta 2\beta 3$ et $\alpha 4\alpha 6\beta 2\beta 3$ (Champtiaux et coll. 2003 ; Zoli et coll. 2002 ; Salminen et coll. 2004).

Enfin, au niveau du NAcc, des nAChRs de types $\alpha 4\beta 2$, $\alpha 4\alpha 5\beta 2$, $\alpha 6\beta 2\beta 3$ et $\alpha 4\alpha 6\beta 2\beta 3$ ont été mis en évidence sur les terminaisons des neurones dopaminergiques, ainsi que des nAChRs de type $\alpha 4\beta 2$ sur les terminaisons des neurones GABAergiques (pour revue, voir Picciotto 2003).

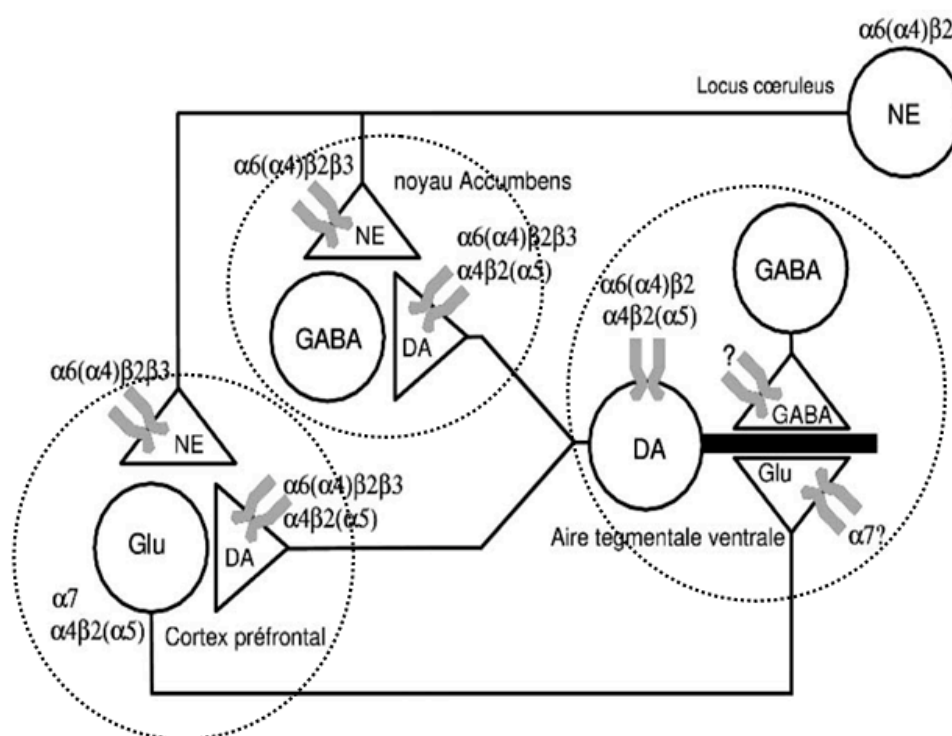


Figure 1.9 - Localisation des récepteurs nicotiniens identifiés dans les structures catécholaminergiques du mésencéphale (d'après « rapport d'expertise collective de l'INSERM-Tabac, comprendre la dépendance pour agir »).

NE : noradrénaline ; DA : dopamine ; GABA : acide γ -aminobutyrique ; Glu : glutamate

(2) Nicotine et Libération de Dopamine

La nicotine stimule l'activité des neurones dopaminergiques comme le font toutes les drogues toxicomanogènes. Des études de microdialyse ont ainsi montré que les structures les plus sensibles sont l'écorce du NAcc (Pontieri et coll. 1996) et les noyaux du lit de la strie terminale (Carboni et coll. 2000a,b). Les doses de nicotine qui activent la transmission dopaminergique dans ces structures sont à cet égard inefficaces dans les autres aires de projection. La plupart des études chez le rat naïf vis-à-vis de la nicotine montrent que celle-ci stimule la libération de DA dans le NAcc (Reid et coll. 1996; pour revue, voir Di Chiara, 2000). Toutefois, il existe des données contradictoires. Ainsi, Benwell et Balfour (1992) rapportent une augmentation de libération de DA dans le NAcc uniquement après une exposition répétée à la nicotine. À l'inverse, dans l'étude de

Nisell et coll. (1996), la nicotine augmente de libération de DA dans le NAcc chez des rats naïfs, mais pas s'ils sont traités en chronique. L'hétérogénéité des réponses du NAcc à la nicotine pourrait rendre compte de ces résultats contradictoires. De fait, l'administration chronique de nicotine induit des changements opposés selon la région du NAcc considérée : la libération de DA est potentialisée dans le coeur tandis qu'elle est atténuée dans l'écorce (Cadoni et Di Chiara 2000).

(3) Système Dopaminergique et Auto-administration de Nicotine

L'implication du système dopaminergique dans l'auto-administration de nicotine a été initialement mise en évidence par des études de lésion ou des administrations systémiques d'antagonistes dopaminergiques. Singer et coll. (1982a,b) ont ainsi montré qu'après lésion du striatum ventral (NAcc) par la 6-OHDA, les rats ne pouvaient pas acquérir le comportement d'auto-administration de nicotine.

Les antagonistes sélectifs des récepteurs D1 (SCH 23390) ou D2 (spipérone) s'opposent de manière dose-dépendante à l'auto-administration de nicotine, ce qui suggère qu'ils annulent ses effets renforçants (Corrigall et Coen 1991a,b). Le blocage sélectif des récepteurs D3 par le SB-277011-A ne s'oppose pas à l'auto-administration de nicotine elle-même, mais bloque la réinstallation de ce comportement par une dose-test de nicotine (Andreoli et coll. 2003).

Enfin, une étude récente a montré que l'auto-administration de nicotine (0,03 mg/kg) entraînait une augmentation de libération de DA préférentiellement dans l'écorce du NAcc (Lecca et coll. 2006).

Le système dopaminergique semble donc impliqué dans l'auto-administration de nicotine avec une composante qui dépend de l'activation des récepteurs D1 et D2 pour l'acquisition et des D3 pour la réactivation par une dose-test après extinction.

(4) Système Dopaminergique et Conditionnement de Place

L'effet du blocage des récepteurs dopaminergiques a aussi été évalué dans la procédure de PPC. Le SCH 39166, antagoniste des récepteurs D1, s'oppose à l'acquisition de la PPC induite par la nicotine dans des conditions expérimentales non biaisées, quand il est infusé dans l'écorce, mais pas dans le cœur, du NAcc (Spina et coll. 2006). Les ligands des récepteurs D3, qu'ils soient agonistes partiels (BP 897) ou antagonistes (ST 198 et SB-277011-A), s'opposent à l'expression de la préférence de place induite par la nicotine (Le Foll et coll. 2005; Pak et coll. 2006). Leurs effets sur l'acquisition n'ont toutefois pas été évalués.

Il semble donc que les récepteurs dopaminergiques soient impliqués, pour les D1, dans les effets renforçants de la nicotine et, pour les D3, dans la capacité des stimuli environnementaux à évoquer les effets plaisants, ce qui est cohérent avec les résultats obtenus dans la procédure d'auto-administration.

(5) Influence de la Nicotine sur l'Activité Électrique des Neurones Dopaminergiques Mésolimbiques

Comme les autres drogues, la nicotine active de façon prolongée les neurones DA de l'ATV, et ceci à concentrations faibles, similaires à celles obtenues par les fumeurs. Elle favorise le passage de l'activité électrique des neurones de l'ATV du mode de décharge tonique au mode phasique en bouffées (Grenhoff et coll. 1986; Mansvelder et coll. 2003), ce qui augmente fortement la libération de DA dans le NAcc (Di Chiara 2000). Cependant, à ces concentrations (250-300 nM), la nicotine désensibilise les nAChRs si rapidement qu'elle inhibe la libération de DA (Kudernatsch et Sutor 1994; Zhou et coll. 2001; Rice et Cragg 2004; Zhang et Sulzer 2004). Récemment, deux études ont permis de mieux comprendre ce passage d'un mode de décharge à un autre en réponse à la nicotine (Rice et Cragg 2004; Zhang et Sulzer 2004). La nicotine augmente sélectivement la libération de DA en favorisant le mode de décharge phasique en bouffées des neurones dopaminergiques mésolimbiques. De plus, la désensibilisation des nAChRs supprime la libération de DA normalement liée à l'activité tonique des neurones dopaminergiques, ce qui accentue le contraste entre la libération de DA induite par l'activité tonique et par les décharges phasiques en bouffées. Les stimuli associés au renforcement peuvent également favoriser le mode de décharge phasique des neurones dopaminergiques (Schultz 1986; Yun et coll. 2004). Il est ainsi possible que l'augmentation du contraste (décrit ci-dessus) induit par la nicotine participe à accentuer la valeur renforçante de stimuli associés à la nicotine, comme c'est le cas pour les stimuli visuels dans l'auto-administration de cette substance (Chaudhri et coll. 2006).

(6) Autres Interactions Possibles

Très récemment, une étude chez le rat a mis en évidence l'existence d'interactions fonctionnelles entre autorécepteurs D2 et nAChRs exprimés par les terminaisons dopaminergiques dans l'écorce du NAcc (Quarta et coll. 2007). Ainsi, la nicotine perfusée dans cette structure induit une augmentation locale des concentrations extracellulaires de DA qui est totalement bloquée par la co-perfusion de DH- β -E, antagoniste des nAChRs $\beta 2^*$, ou de quinpirole, agoniste des récepteurs D2/D3. De plus, la perfusion locale de raclopride, antagoniste D2/D3, dans l'écorce du NAcc induit aussi une augmentation locale des concentrations extracellulaires de DA qui est atténuée par la co-perfusion de DH- β -E. Il existe donc bien une interaction fonctionnelle entre les récepteurs D2 et les nAChRs $\beta 2^*$ au niveau des terminaisons dopaminergiques dans l'écorce du NAcc. Dans la même étude, des expériences de co-immunoprécipitation ont également permis de mettre en évidence des interactions physiques entre les sous-unités $\beta 2$ de nAChRs non- $\alpha 7$ et les récepteurs D2 du striatum. Quarta et coll. (2007) font ainsi l'hypothèse que des nAChRs $\beta 2^*$ du NAcc forment des complexes hétéromériques avec des récepteurs D2 qui pourraient moduler la libération de dopamine. Cependant, l'existence de ces hétérodimères n'a pas été démontrée *in vivo*.

2. Système Endocannabinoïde

En 1964, Gaoni et Mechoulam isolaient le delta-9-tétrahydrocannabinol (Δ^9 -THC), principal composé psychoactif extrait de la plante *Cannabis sativa*. Mais il fallut plus de 25 ans pour identifier l'existence d'un système cannabinoïde endogène. Celle-ci a été permise par la découverte des récepteurs liant le Δ^9 -THC, les récepteurs cannabinoïdes CB1 et CB2 (Matsuda et coll. 1990) et de leurs premiers ligands endogènes (appelés endocannabinoïdes) (Devane et coll. 1992 ; Mechoulam et coll. 1995).

a) Les Endocannabinoïdes

(1) Description

Les endocannabinoïdes existent chez de nombreuses espèces, depuis les invertébrés (mollusques) jusqu'aux vertébrés dont les poissons, les rongeurs et l'Homme (Felder et coll. 1993). Le premier endocannabinoïde, caractérisé et isolé à partir du cerveau de porc (Devane et coll. 1992), est un éthanolamide d'acide gras insaturé, l'arachidonylethanolamide (AEA), également appelé « anandamide » (du sanscrit « ananda » signifiant « félicité »). Par la suite, un ester d'acide gras, le Sn-2-arachidonoylglycerol (2-AG), se liant lui aussi aux récepteurs cannabinoïdes, a été isolé à partir de l'intestin de chien (Mechoulam et coll. 1995). Deux autres endocannabinoïdes ont été isolés plus récemment : l'éther de noladin (2-arachidonoyl glyceryl ether) (Hanus et coll. 2001), et la virodhamine (o-arachidonoylethanolamine) (Porter et coll. 2002).

(2) Métabolisme

(a) Biosynthèse des Endocannabinoïdes

(i) Anandamide

L'anandamide est produit à partir de lipides membranaires par deux voies de synthèse différentes (Figure 1.10). Dans la première, les lipides membranaires sont hydrolysés en acide arachidonique [via la phospholipase A2 (PLA2)] et en éthanolamine [via la phospholipase D (PLD)], qui sont

ensuite condensés grâce à une enzyme, l'AEA synthase, pour donner l'anandamide. Par l'autre voie de synthèse, les lipides membranaires sont transformés en N-arachidonoyl phosphatidyl éthanolamine (NAPE) (*via* la transacylase), elle-même métabolisée en anandamide par la phospholipase NAPE-PLD (Vinod et Hungund 2005).

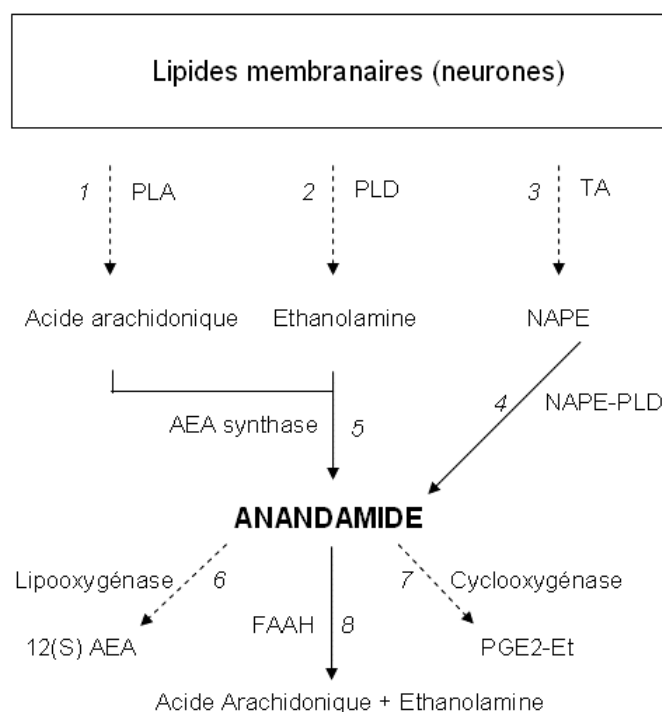


Figure 1.10 - Métabolisme de l'anandamide (AEA)

Étapes [1, 2] : Production de l'acide arachidonique et de l'éthanolamine à partir de précurseurs lipidiques membranaires respectivement par les enzymes PLA-2 et PLD ; *[3] :* Production de la NAPE par l'enzyme transacylase ; *[4] :* Conversion de la NAPE en AEA par l'enzyme NaPE-PLD ; *[5] :* Synthèse de l'anandamide (AEA) par l'enzyme AEA synthase à partir de l'acide arachidonique et l'éthanolamine ; *[6,7] :* Dégradation de l'AEA en 12(S)AEA et PGE2-Et respectivement par la lipooxygénase et la cyclooxygénase-2 ; *[8] :* Hydrolyse de l'AEA en acide arachidonique et éthanolamine par la FAAH.

Abréviations : phospholipase A2 (PLA-2); phospholipase D (PLD); transacylase (TA); N-arachidonoyl phosphatidyl éthanolamine (NAPE); N-acylphosphatidyl éthanolamine specific PLD (NAPE-PLD); anandamide (AEA); prostaglandin E2-éthanolamine (PGE2-Et); 12(S) hydroxy arachidonoyl éthanolamide [12(S)AEA]; anandamide amino hydrolase ou fatty acid amido hydrolase (FAAH) (Vinod et Hungund, 2005).

(ii) 2-Arachidonoylglycérol (2-AG)

La cascade enzymatique responsable de la formation de l'inositol (1,4,5)-triphosphate (IP3) et du 1,2-diacylglycérol (DAG) est impliquée dans la biosynthèse du 2-AG (Figure 1.11). La phospholipase C (PLC) hydrolyse le phosphatidylinositol (4,5)-biphosphate en DAG, qui est à son tour converti en 2-AG par la DAG lipase (Stella et coll. 1997). Les taux de 2-AG détectés dans le cerveau sont ~170 fois supérieurs à ceux de l'anandamide (Stella et coll. 1997).

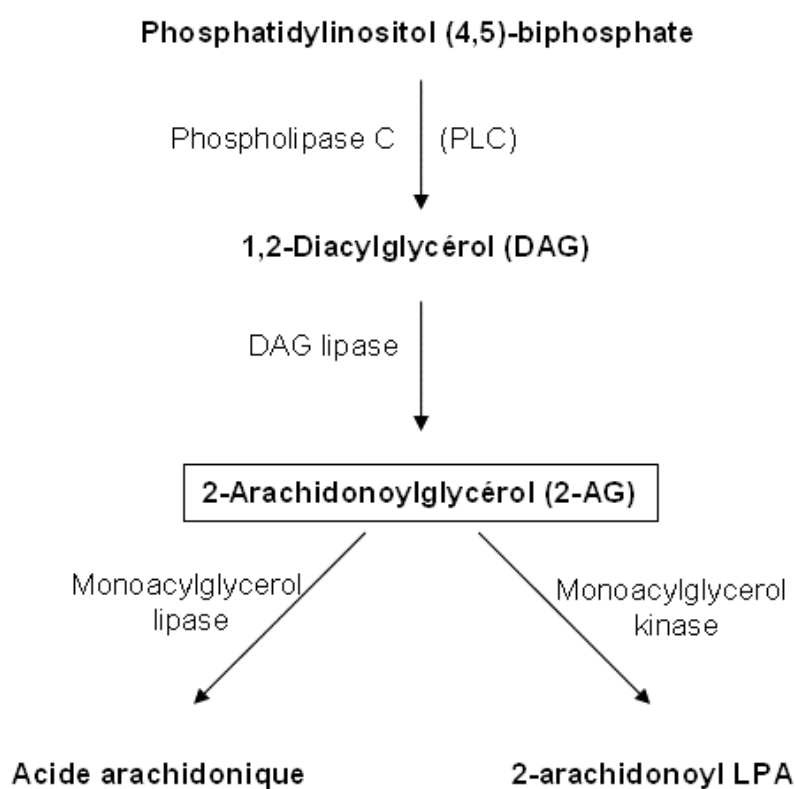


Figure 1.11 - Synthèse et dégradation du 2-Arachidonoylglycérol

LPA: lyso-phosphatidic acid

(b) Libération

L'anandamide et le 2-AG possèdent les caractéristiques des neurotransmetteurs, mais il existe une différence notable avec les neurotransmetteurs classiques. L'anandamide et le 2-AG sont produits « à la demande », après dépolarisation neuronale conduisant à l'hydrolyse de précurseurs lipidiques membranaires (Di Marzo et coll. 1994). Ils ne sont pas stockés dans des vésicules synaptiques mais sont libérés par le neurone immédiatement après leur production. Ils agissent comme des « messagers rétrogrades » (pour revue, voir Piomelli et coll. 2000).

(c) Recapture

L'anandamide et le 2-AG libérés peuvent être recaptés par les neurones et les astrocytes. Ce mécanisme de recapture fait intervenir un transporteur spécifique (AMT pour « Anandamide Membrane Transporter »). Contrairement aux transporteurs des neurotransmetteurs classiques, l'activité de l'AMT ne dépend pas de la concentration extracellulaire des ions Na^+ , suggérant un mécanisme de transport par « diffusion facilitée » plutôt qu'un transport actif (pour revue, Giuffrida et coll. 2001). Ce transporteur est inhibé par l'AM 404, un analogue de l'anandamide (Beltramo et coll. 1997).

(d) Catabolisme

L'hydrolyse de l'anandamide est catalysée par une amidohydrolase membranaire, encore appelée anandamide amidohydrolase ou fatty acid amido hydrolase, FAAH (Giuffrida et coll. 2001). Chez le rat, la co-localisation des récepteurs CB1 et de la FAAH suggère que cette enzyme intervient dans les mécanismes de signalisation des endocannabinoïdes au niveau central (Egertova et coll. 1998). La FAAH hydrolyse aussi le 2-AG (Ueda et coll. 2000), à une vitesse quatre fois supérieure à celle mesurée avec l'anandamide comme substrat (Goparaju et coll. 1998). L'anandamide peut également être inactivé par deux autres voies impliquant soit une lipooxygénase soit une cyclooxygénase, aboutissant respectivement à la formation de 12(S) hydroxy arachidonoyl ethanolamide, [12(S) AEA] et de prostaglandine E2-ethanolamine (PGE2-Et). Des inhibiteurs de la FAAH ont été développés, comme l'AM 374 [fatty acid sulfonylfluoride, (Khanolkar et Makriyannis 1999)] et l' α -KOP [α -keto-oxalopyridine (Boger et coll. 2000)].

b) Récepteurs

(1) Classification

Deux types de récepteurs cannabinoïdes ont été isolés et clonés : les récepteurs CB1 et CB2 qui présentent 44% d'homologie. CB1 et CB2 sont des récepteurs à sept domaines transmembranaires couplés aux protéines G de type Gi/o (pour revues, voir Howlett 1995; Pertwee 1997) (figure 1.12). De fait, il a été montré que leur activation diminuait les taux d'AMPc intracellulaire (*via* l'inhibition de l'adénylate cyclase, AC) selon un processus sensible à la toxine pertussique (Howlett et Fleming 1984). Cependant, les récepteurs CB1 présentent la particularité de pouvoir également activer l'AC *via* une protéine Gs, en absence de protéine Gi/o fonctionnelle (Bonhaus et coll. 1998).

L'existence d'un troisième type de récepteurs, le récepteur CB3, a été envisagée récemment et sera détaillée plus loin.

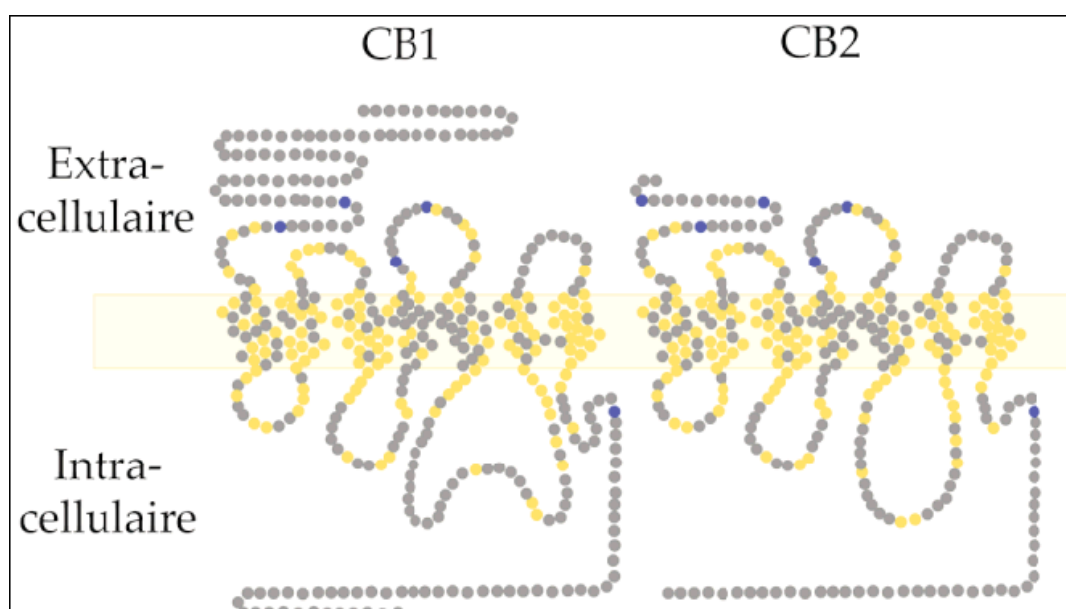


Figure 1.12 - Structure moléculaire des récepteurs CB1 et CB2 chez la souris. Les cercles jaunes représentent les acides aminés communs aux deux récepteurs alors que les cercles gris correspondent aux acides aminés qui diffèrent (d'après Shire et coll., 1996).

(2) Pharmacologie

Le Tableau 1.8 donne les affinités des principaux ligands pour les récepteurs CB1 et CB2.

(a) Agonistes des Récepteurs Cannabinoïdes

L'anandamide et le 2-AG sont les agonistes endogènes des récepteurs CB1 et CB2, mais leur affinité est plus élevée pour le récepteur CB1. Le Δ^9 -THC se comporte comme un agoniste partiel des récepteurs CB1 et un agoniste complet des récepteurs CB2; il présente la même affinité pour ces deux récepteurs. Parmi les composés synthétiques on trouve :

- des dérivés du Δ^9 -THC: le HU-210 (Titishov et coll. 1989) et le CP-55,940 (Darmani et coll. 2003) qui présentent tous deux une meilleure affinité pour les récepteurs CB1 et CB2 que le Δ^9 -THC (Chaperon et Thiebot 1999; Howlett et coll. 2002).
- un aminoalkylindole : le R-(+)-WIN 55,212-2, agoniste des récepteurs CB1 et CB2 (Compton et coll. 1992; D'Ambra et coll. 1992).

D'une manière générale, les agonistes des récepteurs cannabinoïdes activent à la fois le récepteur CB1 et le récepteur CB2, aucun n'ayant une réelle sélectivité vis-à-vis de l'un ou l'autre de ces récepteurs (Chaperon et Thiebot 1999; Howlett et coll. 2002).

(b) Antagonistes des Récepteurs Cannabinoïdes

Les antagonistes synthétiques qui ont été développés sont, quant à eux, très sélectifs : des récepteurs CB1 pour le rimonabant (SR 141716) (Rinaldi-Carmona et coll. 1994; 1998), le surinabant (SR 147778) (Rinaldi-Carmona et coll. 2004), l'AM 251 (Gatley et coll. 1997), l'AM 281 (Lan et coll. 1999) et le LY 320135 (Felder et coll. 1998), et des récepteurs CB2 pour le SR 144528 (Rinaldi-Carmona et coll. 1994; 1998) et l'AM 630 (Ross et coll. 1999).

(c) Agonistes inverses

Un certain nombre d'études *in vitro* ont décrit des effets agonistes inverses pour certains antagonistes des récepteurs CB1 comme le rimonabant (Bouaboula et coll. 1997; MacLennan et coll. 1998; Pan et coll. 1998; Coutts et coll. 2000; Sim-Selley et coll. 2001), et des récepteurs CB2 comme le SR 144528 (Portier et coll. 1999). Toutefois, d'autres études ont montré que leurs effets antagonistes étaient supérieurs à leurs effets agonistes inverses (Gessa et coll. 1997; Schlicker et coll. 1997; Acquas et coll. 2000; Sim-Selley et coll. 2001). Ces derniers seraient dus au fait que les

récepteurs CB1 et CB2 présentent une activité constitutive en absence d'agoniste. Le rimonabant et le SR 144528 réduiraient cette activité constitutive, agissant in fine comme des agonistes inverses. Par ailleurs, il est probable que ces récepteurs possèdent deux sites de fixation pour les ligands, un site « classique » de haute affinité, correspondant au site de liaison de l'agoniste, et un autre site, distinct du premier et de plus faible affinité, probablement impliqué dans l'action mixte antagoniste/agoniste inverse de certains ligands (Sim-Selley et coll. 2001).

Ligands	Ki (nM)		Références
	CB ₁	CB ₂	
<i>Agonistes</i>			
Anandamide	252	581	Mechoulam et coll. , 1995
2-AG	472	1400	Mechoulam et coll. , 1995
HU-210	0,1	0,17	Felder et coll. 1995
CP 55-940	0,5	2,8	Hillard et coll. 1999
Δ^9 -THC	35,3	3,9	Rinaldi-Carmona et coll. , 1994
R-(+)-WIN55212	9,94	16,2	Rinaldi-Carmona et coll. , 1994
<i>Antagonistes</i>			
Rimonabant (SR 141716)	1,98	>1000	Rinaldi-Carmona et coll. , 1994
Surinabant (SR 147778)	0,56	>1000	Rinaldi-Carmona et coll. 2004
AM 251	9,6	>1000	Gatley et coll. 1997
AM 281	7,9	>1000	Lan et coll. 1999
LY 320135	6,8	>1000	Felder et coll. 1998
AM 630	>1000	31,2	Ross et coll. 1999
SR 144528	400	0,6	Rinaldi-Carmona et coll. 1998

Tableau 1.8 - Constantes d'inhibition (Ki) des principaux ligands des récepteurs cannabinoïdes (d'après Howlett et coll., 2002).

(3) Localisation Anatomique

(a) Récepteur CB1

(i) Distribution tissulaire

Les récepteurs CB1 sont principalement localisés dans le SNC (Devane et coll. 1988; Herkenham et coll. 1990; Howlett et coll. 1990; 1991; pour revue, Rodriguez de Fonseca et coll. 2005), mais aussi en densité moindre à la périphérie, en particulier au niveau des testicules (Gerard et coll. 1991; Wenger et coll. 1999), des adipocytes (Bensaid et al., 2003) et dans certaines cellules immunitaires (Daaka et coll. 1995; Waksman et coll. 1999). Dans le SNC, les récepteurs CB1 sont exprimés par les neurones et les cellules gliales (Herkenham et coll. 1990; Matsuda et coll. 1990; Ishac et coll. 1996). Chez l'Homme, les régions les plus riches en récepteurs CB1 sont, par ordre décroissant de densité, les ganglions de la base (SNr, globus pallidus, caudé-putamen et noyau subthalamique), le cervelet, le cortex, et l'hippocampe. Une densité plus faible est observée dans l'hypothalamus (Herkenham et coll. 1990; 1991). Leur distribution est qualitativement la même d'une espèce à l'autre mais il existe quelques différences quantitatives. Par exemple, la densité des récepteurs CB1 dans l'amygdale et le cortex cingulaire est plus élevée chez l'Homme que chez le rat (Herkenham et coll. 1990). Figure 1.13.

La densité cérébrale du récepteur CB1 est plus importante que celle de n'importe quel autre récepteur couplé aux protéines G, toutefois, son couplage aux protéines G semble moins efficace. En effet, selon Sim et coll. (Sim et coll. 1996; Breivogel et coll. 1997), au niveau du striatum un récepteur CB1 n'activerait que 3 protéines G alors qu'un récepteur opioïde de type μ ou κ en activerait une vingtaine.

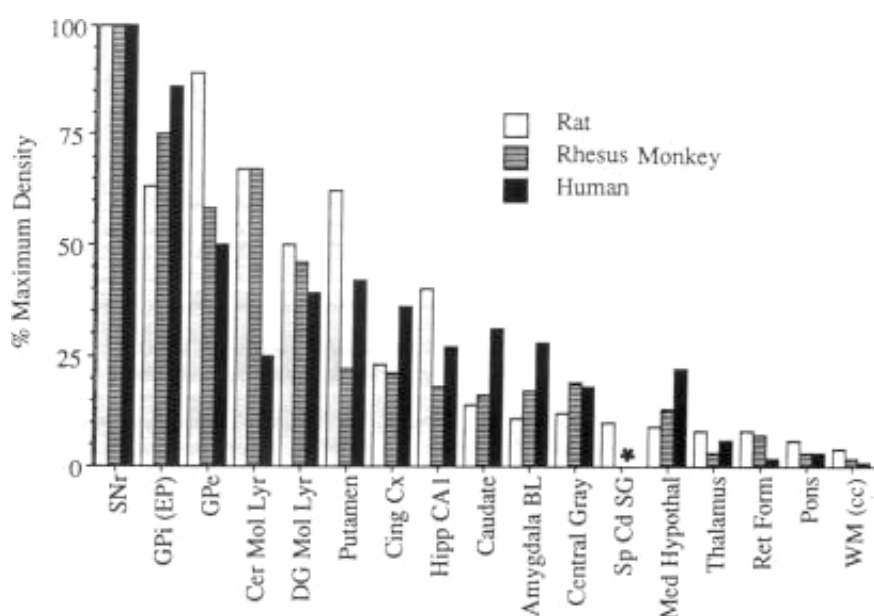


Figure 1.13 - Densité relative des récepteurs CB1 dans différentes structures cérébrales, chez l'Homme, le singe et le rat (d'après Herkenham et coll., 1990).

Abréviations :

SNr : Substance Noire réticulée ; GPi (EP): Globus Pallidus interne ; GPe : Globus Pallidus externe ; Cer Mol Lyr : couche moléculaire du Cervelet ; DG Mol Lyr : couche moléculaire du Gyrus Dentelé ; Cing Cx : Cortex cingulaire ; Hipp CA1 : couche CA1 de l'Hippocampe ; Caudate : noyau Caudé ; Amygdala BL : Amygdale baso-latérale ; Central Gray : Substance grise péri-aqueducule ; Sp Cd SG : Substance gélatineuse de la moelle épinière ; Med Hypothal: Hypothalamus médian ; Ret form : Formation réticulée ; Pons : Pont ; WM (cc): Substance blanche du Corps Calleux

(ii) Distribution des ARNm

Les études d'hybridation *in situ* ont permis de comparer la distribution des ARNm à celle de la protéine CB1 dans l'ensemble du SNC. Ces deux marqueurs sont en général superposés sauf dans le globus pallidus, la SNr et le noyau entopédonculaire. Il semble que les récepteurs CB1 exprimés dans ces régions soient synthétisés dans le noyau caudé-putamen puis acheminés par transport antérograde jusqu'aux aires de projection (Mailleux et Vanderhaeghen 1992; Matsuda et coll. 1993). L'ARNm du récepteur CB1 est également exprimé dans les tissus périphériques (testicules, utérus, système immunitaire, intestin, vessie, rétine et cellules endothéliales) quoiqu'il est bien plus faiblement que dans le cerveau (Bouaboula et coll. 1993).

(iii) Distribution neuronale

Des études immunohistochimiques ont permis de visualiser de façon plus précise les récepteurs CB1 au niveau des terminaisons axonales (Tsou et coll. 1998; Egertova et Elphick 2000). La microscopie électronique indique qu'ils sont situés quasi exclusivement sur des terminaisons présynaptiques dans l'hippocampe (Hajos et coll. 2000; Katona et coll. 2001), alors que leur localisation semble plus large dans le striatum (Rodriguez et coll. 2001). Des expériences de double marquage ont révélé la présence de récepteurs CB1 présynaptiques sur des interneurons GABAergiques de l'hippocampe et de l'amygdale (Katona et coll. 1999; 2001) et sur des neurones glutamatergiques du NAcc (Robbe et coll. 2002).

(b) Récepteur CB2

Les récepteurs CB2 sont exprimés essentiellement dans les cellules du système immunitaire (Galiegue et coll. 1995), ainsi qu'en plus faible quantité dans le SNC (Van Sickle et coll. 2005), bien que l'ARNm CB2 soit détectable dans d'autres tissus.

(c) Hypothèse de récepteur(s) CB3

Outre le fait que l'anandamide à forte dose (10 μ M) est capable de se lier à un récepteur de type canal calcique, le récepteur vanilloïde (VR) (Zygmunt et coll. 1999; Smart et Jerman 2000; Ross et coll. 2001; 2001), plusieurs travaux suggèrent l'existence d'autres types de récepteurs que l'on qualifie sous le terme général de récepteur CB3 (pour revues, voir Howlett et coll. 2002; Begg et coll. 2005).

(i) Récepteur CB3 insensible au rimonabant

La plupart des effets des agonistes des récepteurs cannabinoïdes sur le SNC sont prévenus par les antagonistes sélectifs des CB1 tels que le rimonabant. Cependant, certains effets de l'anandamide n'étant pas inhibés, l'hypothèse d'un récepteur CB3 a été proposée (Fride et coll. 2003). Par exemple, l'anandamide induit plusieurs effets regroupés sous le terme de « tétrade comportementale » (catalepsie, analgésie, hypoactivité motrice et hypothermie) (Martin et coll. 1987; 1991; Felder et coll. 1993), qui, chez la souris, ne sont annulés ni par le rimonabant, ni par le LY 320135, autre antagoniste CB1 (Adams et coll. 1998; Fride et Shohami 2002). Toujours chez la souris, le rimonabant bloque de façon bien moins efficace les effets antinociceptifs de l'anandamide que ceux du Δ^9 -THC (Wiley et coll. 2006). Ces observations ont conduit à proposer une action additionnelle de l'anandamide et d'autres ligands cannabinoïdes *via* un récepteur autre

que le CB1. Des études menées chez les souris dont le récepteur CB1 a été invalidé (souris CB1^{-/-}) apportent des données compatibles avec cette idée. En effet, malgré l'absence de récepteur CB1, le Δ^9 -THC induit encore une hypoalgésie (Ledent et coll. 1999; Zimmer et coll. 1999) et la « tétrade comportementale » évoquée par l'anandamide est toujours présente (Di Marzo et coll. 2000). En outre, la stimulation de la liaison du [³⁵S]GTP- γ S par ce ligand endogène ou le WIN 55,212-2 persiste dans des préparations de membranes de diverses régions cérébrales disséquées chez des souris CB1^{-/-}. Ainsi, un récepteur CB3 putatif serait pleinement fonctionnel chez les souris CB1^{-/-} comme chez leurs congénères « sauvages » (Breivogel et coll. 2001).

(ii) Récepteur non-CB1, non-CB2, sensible au rimonabant

L'existence de ce récepteur a été postulée en raison de la capacité conservée du rimonabant à supprimer l'effet vasorelaxant de l'anandamide sur des artères mésentériques précontractées provenant aussi bien de souris CB1^{-/-} que de souris double « knock-out » CB1^{-/-}CB2^{-/-} (Jarai et coll. 1999).

c) Effets sur les Neurotransmissions

De nombreuses études de microdialyse ou d'électrophysiologie ont montré que l'activation des récepteurs CB1 présynaptiques induit une diminution de la libération d'un grand nombre de neurotransmetteurs (pour revue, voir Howlett et coll. 2002). C'est le cas de l'acétylcholine dans le CxPF médian et l'hippocampe *in vivo* (Gessa et coll. 1997; 1998), et *in vitro* (Gifford et coll. 2000; Nakazi et coll. 2000). Le même effet est retrouvé pour le GABA dans le striatum (Tersigni et Rosenberg 1996) et l'hippocampe (Katona et coll. 1999; 2000), pour la dopamine dans le striatum (Schlicker et coll. 1996; Cadogan et coll. 1997) et pour la sérotonine dans le cortex (Nakazi et coll. 2000). La libération d'autres neurotransmetteurs tels que la noradrénaline (Schlicker et coll. 1997; Gobel et coll. 2000), le glutamate (Auclair et coll. 2000; Robbe et coll. 2001) et la cholécystokinine (Beinfeld et Connolly 2001) est également diminuée en réponse à la stimulation des récepteurs CB1.

Cependant, comme la plupart des substances d'abus, les cannabinoïdes *augmentent* au contraire la libération de dopamine dans le NAcc (Chen et coll. 1990a; 1991; Solinas et coll. 2006), le CxPF (Chen et coll. 1990b) et l'ATV (French 1997; 1997). L'activation des récepteurs CB1 diminuant la

libération de GABA, cet effet résulte probablement de la levée du contrôle inhibiteur exercé par ce dernier sur les neurones dopaminergiques (Melis et coll. 2000; Robbe et coll. 2001).

d) Effets Comportementaux des Cannabinoïdes

Chez l'Homme, la consommation de cannabis est suivie de nombreuses manifestations comportementales et physiologiques : euphorie, altérations cognitives et mnésiques, anxiété, analgésie, stimulation de la prise alimentaire, hypothermie, vasorelaxation, effets anti-émétiques (Hollister 1986; Haney et coll. 1997).

Chez le rongeur, les cannabinoïdes induisent hypoactivité motrice, catalepsie, hypothermie et analgésie, effets non sélectifs mais dont l'association est caractéristique. Cette « tétrade » d'effets est bloquée par le rimonabant chez le rat, confirmant ainsi l'implication des récepteurs CB1 (Rinaldi-Carmona et coll. 1994; Compton et coll. 1996), mais pas chez la souris (Adams et coll. 1998; Fride et Shohami 2002).

Au plan comportemental, il a été montré que les rats discriminent le Δ^9 -THC et le CP 55,940 du sérum physiologique (Jarbe et Ohlin 1977; Jarbe et McMillan 1979; Jarbe et coll. 1989; Jarbe et Mathis 1991; Gold et coll. 1992). Par ailleurs, les souris « sauvages », mais non les CB1^{-/-}, s'auto-administrent le WIN 55,212-2 (Martellotta et coll. 1998; Ledent et coll. 1999), confirmant l'implication majeure des récepteurs CB1 dans ce phénomène .

(1) Effets Renforçants des Agonistes Cannabinoïdes

(a) Conditionnement de Place

Même si de nombreuses études indiquent que les cannabinoïdes induisent une aversion de place conditionnée (Parker et Gillies 1995; McGregor et coll. 1996; Sanudo-Pena et coll. 1997; Chaperon et coll. 1998; Hutcheson et coll. 1998; Mallet et Beninger 1998; Cheer et coll. 2000), trois équipes ont mis en évidence une PPC robuste aux cannabinoïdes (Lepore et coll. 1995; Valjent et Maldonado 2000; Braida et coll. 2001). Ces différences peuvent trouver leur origine dans la diversité des paramètres expérimentaux : agoniste utilisé, dose, temps de prétraitement, durée et rythme des séances de conditionnement, procédure biaisée ou non.

Enfin, une étude récente a montré que le Δ^9 THC pouvait induire une PPC quand il était infusé dans la partie postérieure de l'écorce du NAcc ou de l'ATV. En revanche l'administration de Δ^9 THC

dans le coeur du NAcc ou la partie antérieure ou dorsale de l'ATV est ineffective dans ce paradigme (Zangen et coll. 2006).

(b) Auto-administration

Comme dans le cas de la PPC, les données sont assez contrastées. Beaucoup d'études sont négatives (Corcoran et Amit 1974; Harris et coll. 1974; Leite et Carlini 1974; Carney et coll. 1977; Mansbach et coll. 1994), mais certaines ont donné des résultats positifs avec de bonnes conditions méthodologiques. Ainsi, les souris naïves vis-à-vis de la drogue et les rats s'auto-administrent le WIN 55,212-2 (Martellotta et coll. 1998; Ledent et coll. 1999; Fattore et coll. 2001). Les rats s'auto-administrent aussi le CP 55,940, par voie intra-cérébroventriculaire (Braidà et coll. 2001). Enfin, chez le singe écureuil, le Δ^9 -THC génère un comportement d'auto-administration puissant et durable, à des doses comparables à celles obtenues par les fumeurs de cannabis (Tanda et coll. 2000; Justinova et coll. 2004). De plus, les rats s'auto-administrent le Δ^9 THC dans l'écorce, mais pas dans le coeur, du NAcc et dans la partie postérieure, mais pas antérieure ou dorsale, de l'ATV (Zangen et coll. 2006).

L'effet renforçant des agonistes cannabinoïdes semble résulter de l'activation des récepteurs CB1, car l'auto-administration est réduite ou bloquée par le rimonabant, et les souris CB1^{-/-} ne s'auto-administrent pas le WIN 55,212-2 (Ledent et coll. 1999). Une activation des neurones dopaminergiques mésolimbiques pourrait sous-tendre l'effet renforçant des agonistes cannabinoïdes. En effet, le Δ^9 -THC et le WIN 55,212-2 accroissent l'activité électrique des neurones dopaminergiques de l'ATV (French et coll. 1997) ce qui entraîne une augmentation de libération de DA dans les aires limbiques. Cet effet met lui aussi en jeu les récepteurs CB1 car il est bloqué par le rimonabant (French 1997) et est absent chez les souris CB1^{-/-} (Ledent et coll. 1999).

(2) Implication du Système Endocannabinoïde dans l'Addiction aux Drogues.

(a) Alcool

Les cannabinoïdes et l'alcool activent des voies similaires, et les récepteurs CB1 semblent impliqués dans les propriétés renforçantes de l'alcool.

Le blocage chronique des récepteurs CB1 par le rimonabant ou le surinabant diminue la consommation volontaire d'alcool chez la souris (Poncelet et coll. 2003; Wang et coll. 2003; Kelaï et coll. 2006) et chez le rat (Arnone et coll. 1997; Colombo et coll. 1998; Rodriguez de Fonseca et

coll. 1999; Gallate et McGregor 1999a; Lallemand et coll. 2001; Cippitelli et coll. 2005). À l'inverse, le WIN 55,212-2, le CP-55,940 ou l'anandamide augmente la consommation d'alcool ou de bière chez les rongeurs et cet effet est annulé par le rimonabant (Gallate et coll. 1999b; Colombo et coll. 2002; Wang et coll. 2003; Kelai et coll. 2006), indiquant que l'action facilitatrice des cannabinoïdes sur la consommation d'éthanol résulte de l'activation des récepteurs CB1.

En accord avec les résultats précédents, les souris CB1^{-/-} manifestent une plus faible appétence pour l'alcool que leurs congénères « sauvages », aussi bien en procédure de libre choix (Hungund et coll. 2003 ; Racz et coll. 2003; Wang et coll. 2003) qu'en conditionnement opérant (Thanos et coll. 2005).

L'exacerbation de la préférence pour l'alcool par les cannabinoïdes implique probablement le système dopaminergique. L'alcool induit une libération de DA dans le NAcc chez le rat, qui est annulée par le rimonabant (Cheer et coll. 2007) et n'est pas observée chez les souris CB1^{-/-} (Hungund et coll. 2003). Enfin, les souris CB1^{-/-} manifestent une PPC à l'alcool moins marquée que les « sauvages » (Wang et coll. 2003; Houchi et coll. 2005).

Dans leur ensemble, ces données suggèrent l'existence d'un lien entre le système endocannabinoïde et la consommation d'alcool. Globalement, l'éthanol semble induire une élévation du tonus endocannabinoïde (Gonzalez et coll. 2004), et l'inactivation de ce système diminuerait la consommation d'alcool et ses effets « plaisants ».

(b) Opiacés

Les récepteurs CB1 ont un rôle important dans les effets des opiacés. Ainsi, la PPC induite par la morphine et son auto-administration sont abolies chez des souris CB1^{-/-} (Ledent et coll. 1999; Martin et coll. 2000; Cossu et coll. 2001; mais voir Rice et coll. 2002). De plus, les souris CB1^{-/-} présentent une forte atténuation du syndrome de sevrage morphinique précipité par la naloxone (Ledent et coll. 1999).

Le rimonabant réduit également la PPC et l'auto-administration induites par les opiacés (Chaperon et coll. 1998; Mas-Nieto et coll. 2001; Navarro et coll. 2001; De Vries et coll. 2003). Cet antagoniste des récepteurs CB1 prévient aussi la réinstallation, par une dose-test d'héroïne, du comportement de recherche d'héroïne après une longue période d'extinction, et, par eux mêmes, les agonistes cannabinoïdes (WIN 55,212-2, CP 55,940 ou HU-210) réinstallent un tel comportement (De Vries et coll. 2003; Fattore et coll. 2003).

Dans leur ensemble, les résultats sont donc cohérents et indiquent que le système endocannabinoïde joue un rôle clé dans les effets renforçants des opiacés, ainsi que dans la dépendance physique qu'ils induisent.

(c) Psychostimulants

En ce qui concerne l'implication du système endocannabinoïde dans les effets renforçants des psychostimulants, le tableau est moins net.

Chez le rat, à l'image de ce qui est observé avec les autres substances d'abus, le blocage des récepteurs CB1 s'oppose aux effets des psychostimulants. Le rimonabant empêche l'acquisition de la PPC induite par la cocaïne (Chaperon et coll. 1998), et un autre antagoniste, l'AM-251, diminue l'auto-administration de méthamphétamine (Vinklerova et coll. 2002).

L'activation des récepteurs CB1 semble également nécessaire à la réinstallation du comportement d'auto-administration de cocaïne. Ainsi, le HU-210, agoniste cannabinoïde, réactive la recherche de cocaïne après extinction, tandis que le rimonabant atténue la réinstallation des réponses induite soit par les stimuli antérieurement associés à la cocaïne, soit par l'exposition à une dose-test de cocaïne (De Vries et coll. 2001; De Vries et Schoffelmeer 2005).

Cependant, certaines réponses comportementales aux psychostimulants ne sont pas modifiées chez les souris CB1^{-/-} ou chez des souris sauvages après blocage de ces récepteurs (pour revue, voir Maldonado et coll. 2006). Ainsi, la PPC et la sensibilisation comportementale induites par la cocaïne, ou l'auto-administration de cocaïne ou d'amphétamine ne sont pas diminuées chez ces souris (Martin et coll. 2000; Cossu et coll. 2001; Lesscher et coll. 2005). Une étude récente n'est toutefois pas en accord avec ces données et montre que l'auto-administration de cocaïne est diminuée chez des souris CB1^{-/-} ainsi que chez des souris « sauvages » qui ont reçu du rimonabant (Soria et coll. 2005).

Les résultats concernant l'implication du système endocannabinoïde dans les effets renforçants des psychostimulants sont donc moins cohérents.

e) Endocannabinoïdes et Nicotine

(1) Effets de la Nicotine sur le Système Endocannabinoïde

De nombreuses données indiquent que la nicotine influe sur le système endocannabinoïde. Ainsi, des animaux exposés chroniquement à la nicotine (1 mg/kg/jour, sc) présentent des variations de taux d'endocannabinoïdes dans le SNC : l'anandamide est augmenté dans les aires limbiques et le 2-AG dans le tronc cérébral, tandis que les concentrations d'anandamide et/ou de 2-AG sont diminuées dans l'hippocampe, le striatum et le cortex cérébral (Gonzalez et coll. 2002a).

Deux études chez le rat ont exploré les conséquences fonctionnelles de l'interaction entre Δ^9 -THC et nicotine. Cette dernière potentialise l'hypothermie, la bradycardie, l'hypoactivité, les déficits de coordination motrice et/ou les effets antinociceptifs induits par le Δ^9 -THC (Pryor et coll. 1978; Valjent et coll. 2002). De plus, la co-administration de nicotine et de Δ^9 -THC potentialise l'augmentation de l'immunoréactivité c-fos (marqueur de l'activité neuronale) dans des structures cérébrales fortement innervées par des afférences dopaminergiques (Valjent et coll. 2002).

Une étude récente indique que la nicotine potentialise les effets discriminants de faibles doses de THC et qu'elle induit un ou plusieurs des effets intéroceptifs du THC si l'enzyme de dégradation de l'anandamide est bloquée; ces 2 effets étant bloqués par le rimonabant (Solinas et coll. 2007). La nicotine semble donc moduler les effets discriminants du THC *via* une augmentation des niveaux d'anandamide.

(2) Rôle du Système Endocannabinoïde dans la Dépendance Physique Induite par la Nicotine

La première démonstration d'une interaction entre la nicotine et les cannabinoïdes dans le développement des processus de dépendance physique a été apportée par Valjent et coll. (2002) qui observent une accentuation de l'expression somatique du syndrome de sevrage au Δ^9 -THC précipité par le rimonabant chez des souris recevant une co-administration de nicotine et de Δ^9 -THC (2 fois par jour pendant 5 jours).

En revanche, après nicotine chronique, la mécamylamine induit un syndrome de sevrage aussi bien chez les souris CB1^{-/-} que chez leurs congénères « sauvages » (Castane et coll. 2002). Ainsi, la stimulation des nAChRs pourrait jouer un rôle dans la dépendance physique au Δ^9 -THC, alors que l'activation des récepteurs CB1 ne semble pas nécessaire au développement et à l'expression de la dépendance physique à la nicotine. Cependant, dans la mesure où le Δ^9 -THC semble atténuer la

sévérité des manifestations somatiques du sevrage à la nicotine (Balerio et coll. 2004), on ne peut totalement exclure une participation du système endocannabinoïde dans la dépendance physique à la nicotine.

(3) Rôle du Système Endocannabinoïde dans les Effets Renforçants de la Nicotine.

Chez le rat, la co-administration de Δ^9 -THC et de nicotine, à doses inactives par elles-mêmes, induit une préférence de place (Valjent et coll. 2002), et l'auto-administration de nicotine est réduite par le rimonabant (Cohen et coll. 2002), ce qui suggère l'implication des récepteurs CB1 dans les effets renforçants de la nicotine. En accord avec ces données, la nicotine n'induit pas de PPC chez les souris CB1^{-/-} mais, en revanche, elle paraît encore capable de générer un comportement d'auto-administration (Cossu et coll. 2001). Il semble donc que l'activation des récepteurs CB1 ne joue pas un rôle équivalent dans les processus qui contrôlent l'auto-administration de nicotine dans les deux espèces.

(4) Rôle du Système Endocannabinoïde dans la Capacité des Stimuli Environnementaux à Évoquer les Effets Plaisants de la Nicotine

Deux études indiquent que le système endocannabinoïde interfère également avec des comportements induits par les stimuli qui ont été associés à la nicotine, en absence de celle-ci. Une injection unique de rimonabant s'oppose à l'expression de la PPC induite par la nicotine, évaluée 24 h après la dernière séance d'acquisition (Le Foll et Goldberg 2004), et des rats qui ont appris à s'auto-administrer de la nicotine continuent à répondre pendant des semaines pour la seule obtention des stimuli qui lui ont antérieurement été associés. Ce comportement est bloqué par le rimonabant (Cohen et coll. 2005).

Ces résultats suggèrent que la stimulation des récepteurs CB1 est non seulement nécessaire à la perception des effets renforçants de la nicotine, mais aussi à la capacité des stimuli qui lui ont été associés à en évoquer les effets plaisants.

3. Système Sérotoninergique

L'implication de la neurotransmission sérotoninergique centrale dans la régulation de l'humeur, du contrôle de l'impulsivité, de l'appétit, de l'agressivité et dans les addictions a été clairement établie par de nombreuses études précliniques et cliniques au cours des dernières décennies (Hamon et Gozlan 1993; Hamon 2002).

a) Sérotonine

(1) Généralités

La sérotonine, aussi appelée 5-hydroxytryptamine (5-HT), est synthétisée à partir du L-tryptophane (L-trp). Le L-trp est hydroxylé dans les neurones sérotoninergiques en 5-hydroxytryptophane (5-HTP) par l'isoforme II de la tryptophane hydroxylase (TPH II). La décarboxylase des acides aminés aromatiques (AADC) transforme finalement le 5-HTP en 5-HT (Figure 1.14).

Quatre-vingts pour cent de la 5-HT libérée seraient inactivés par le mécanisme de recapture assuré par le transporteur de la 5-HT (SERT), qui se charge de transférer la 5-HT depuis l'espace extracellulaire vers le cytoplasme.

Par ailleurs, la 5-HT peut être dégradée en 5-hydroxyindolacétaldéhyde par la monoamine oxydase de type A (MAOA). L'aldéhyde est ensuite oxydé en acide 5-hydroxyindole acétique (5-HIAA), sous l'action d'une aldéhyde déhydrogénase. Le 5-HIAA est finalement excrété dans les urines.

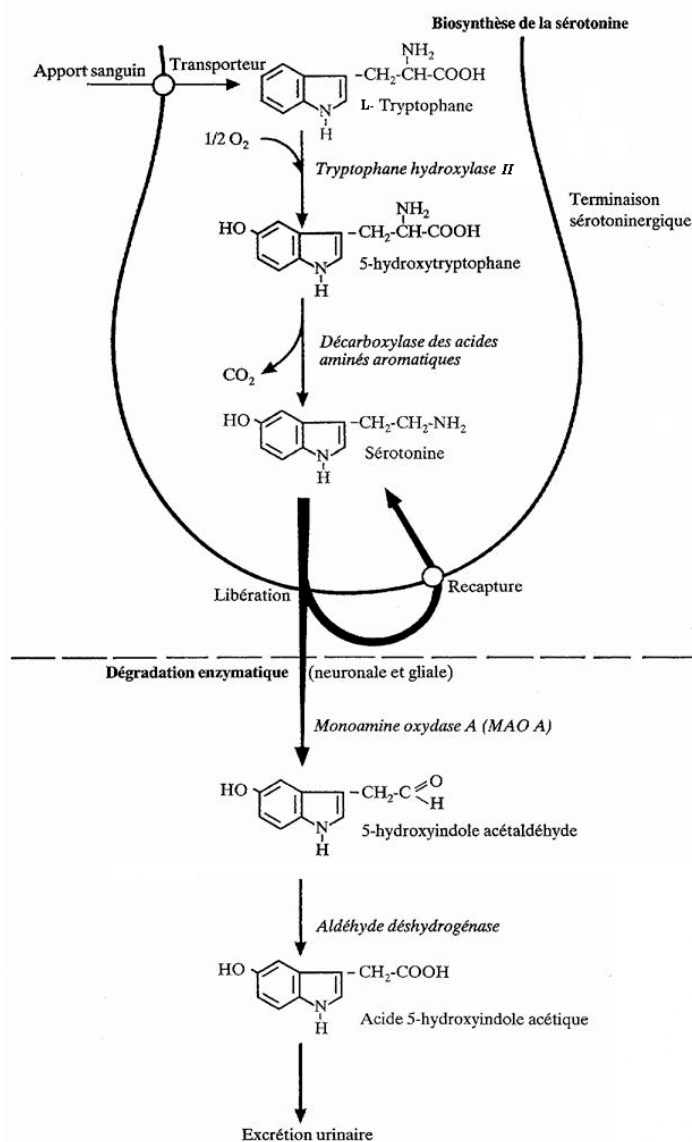


Figure 1.14 : Voies de biosynthèse et d'inactivation de la 5-HT dans le SNC (modifié d'après Hamon, 1995, in Neuropeptides et Neuromédiateurs)

(2) Anatomie

Les neurones qui synthétisent la 5-HT sont peu nombreux dans le SNC. Ils sont localisés, pour l'essentiel, au sein des noyaux mésencéphaliques et bulbaires du raphé, numérotés de B1 à B9 selon un axe rostro-caudal (Dahlström et Fuxe 1964).

Le noyau raphé dorsal (NRD, B7) contient environ 50% de l'ensemble des neurones sérotoninergiques de l'encéphale (Descarries et coll. 1982). Les neurones qui contiennent de la

5-HT ne représentent toutefois que 40% de la totalité des neurones du NRD (Moore 1981; Wiklund et coll. 1981).

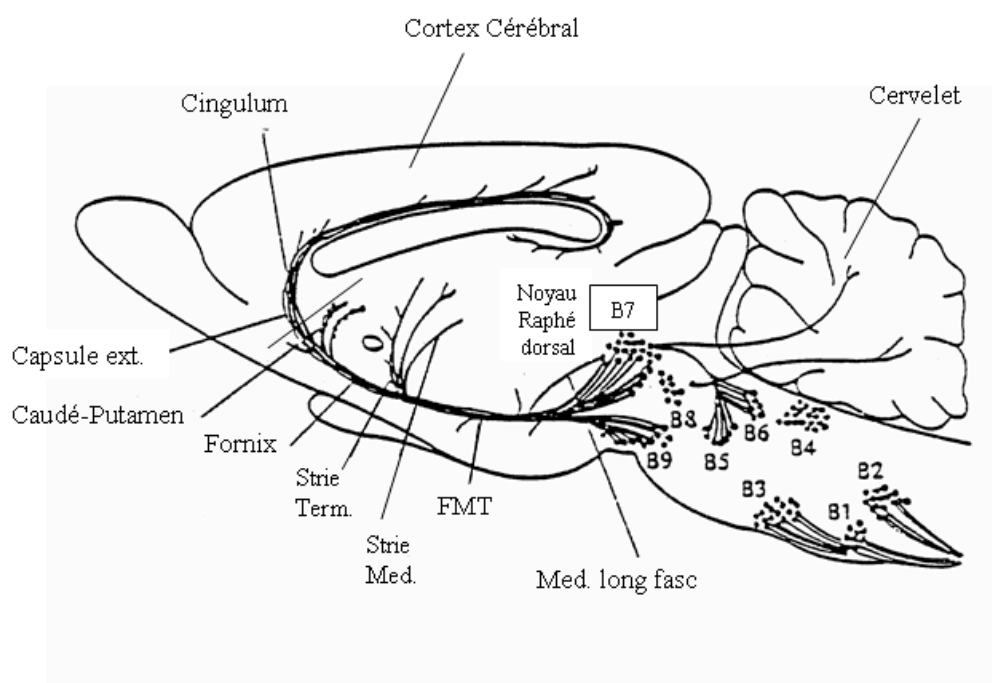


Figure 1.15 - Schéma des principales voies sérotoninergiques chez le rat (d'après G. Breese, 1975).

Les corps cellulaires des neurones sérotoninergiques sont regroupés dans 9 noyaux distincts (B1-B9) qui constituent le complexe du raphé. Le noyau du raphé dorsal (B7) envoie ses projections essentiellement vers les structures antérieures du cerveau.

B1-B9 : noyaux du raphé

FMT : faisceau médian du télencéphale

Med. : médiane

Term. : terminale

Les expériences de marquage par transport axonal ont montré l'existence de nombreuses projections ascendantes et descendantes provenant du NRD. Les projections efférentes sont observées dans l'ensemble du cortex cérébral (Dahlström et Fuxe 1964; Ungerstedt 1971), mais sont concentrées plus particulièrement au niveau du CxPF. Les neurones sérotoninergiques se projettent aussi au niveau de l'hypothalamus (Steinbusch 1981; Simerly et coll. 1984), de l'hypophyse (Léranth et coll. 1983; Steinbusch et Nieuwenhuys 1983), de l'hippocampe (de façon prédominante au niveau de la couche moléculaire de l'aire CA1, ainsi que dans le gyrus denté

(Saavedra et coll. 1974; Azmitia 1981), du LC (Leger et Descarries 1978; Bobillier et coll. 1979) et de nombreuses structures de l'encéphale (SN, striatum, septum, amygdale, etc).

b) Les récepteurs de la sérotonine

L'analyse des mécanismes de transduction des récepteurs a permis de distinguer tout d'abord quatre types de récepteurs : les récepteurs 5-HT₁, couplés négativement à l'adénylate cyclase (AC) (Nelson et coll. 1980), les récepteurs 5-HT₂, couplés à la phospholipase C (PLC) (Roth et coll. 1986; Pritchett et coll. 1988), les récepteurs 5-HT₃ caractérisés comme canaux ioniques (Derkach et coll. 1989), et enfin les récepteurs 5-HT₄ couplés positivement à l'AC (Dumuis et coll. 1988). Finalement, les techniques de clonage ont abouti à l'identification de plusieurs autres récepteurs, 5-HT₅, 5-HT₆ et 5-HT₇, portant ainsi à quinze le nombre total de récepteurs (ou classes de récepteurs) de la 5-HT, tous issus de gènes distincts.

Tous les récepteurs de la 5-HT sont des hétérorécepteurs localisés sur les neurones cibles, dans les zones de projection des neurones sérotoninergiques. Cependant, au moins deux d'entre eux sont également des autorécepteurs : il s'agit des autorécepteurs 5-HT_{1A} situés sur les somas et les dendrites des neurones sérotoninergiques (notamment dans le NRD) et des autorécepteurs 5-HT_{1B} situés sur les terminaisons axonales de ces mêmes neurones.

Comme, dans cette thèse, nous nous sommes intéressés au récepteur 5-HT_{1A}, nous allons le présenter ici plus en détail.

Le récepteur 5-HT_{1A} appartient à la superfamille des récepteurs couplés aux protéines G, avec sept domaines transmembranaires. Sa stimulation induit, *via* la mobilisation de protéines Gi/Go, l'inhibition de l'AC, et donc une diminution de la production d'AMPc (Nelson et coll. 1980; Weiss et coll. 1986).

Le 8-OH-DPAT est, à ce jour, l'agoniste de choix bien qu'il possède une affinité non négligeable pour les récepteurs 5-HT₇. Cependant, il existe d'autres agonistes complets relativement spécifiques des récepteurs 5-HT_{1A} tels que l'alnespirone (aussi agoniste 5-HT₇) et d'autres moins spécifiques comme la 5-carboxamidotryptamine (5-CT). La mise au point d'antagonistes sélectifs des récepteurs 5-HT_{1A} fut plus tardive. Parmi les composés disponibles actuellement, le WAY

100635 (Corradetti et coll. 1996; Fletcher et coll. 1996) est l'antagoniste 5-HT_{1A} le plus souvent utilisé.

La cartographie des récepteurs 5-HT_{1A} fut établie par autoradiographie de la liaison spécifique de radioligands tels que le [³H]8-OH-DPAT (Marcinkiewicz et coll. 1984) et, plus récemment, le [³H]WAY 100635 (Laporte et coll. 1994). Ces études ont mis en évidence la présence d'une forte densité de récepteurs 5-HT_{1A} dans les structures limbiques comme l'hippocampe, l'amygdale, le septum ou le cortex frontal, ainsi que dans les noyaux du raphé et dans la corne dorsale de la moelle épinière.

La double localisation des récepteurs 5-HT_{1A} leur confère des propriétés fonctionnelles opposées. En effet, la stimulation des hétérorécepteurs postsynaptiques favorise la neurotransmission sérotoninergique tandis que la stimulation des autorécepteurs 5-HT_{1A} du NRD exerce, au contraire, un frein sur la neurotransmission sérotoninergique, puisqu'elle déclenche une inhibition de l'activité électrique des neurones sérotoninergiques et donc une diminution de la libération de la 5-HT (Hamon et coll. 1988; Hjorth et Magnusson 1988).

c) Implication de la Sérotonine dans l'Effet Appétitif des Drogues d'Abus

Certaines drogues toxicomanogènes modifient la neurotransmission 5-HT, les concentrations extracellulaires de 5-HT étant augmentées dans différentes régions cérébrales par l'éthanol (Yoshimoto et coll. 1992), l'amphétamine (Kuczenski et coll. 1995), la cocaïne (Parsons et Justice 1993) et les opiacés (Grauer et coll. 1992).

De nombreuses études ont aussi montré que différents aspects de l'appétence pour les drogues peuvent être perturbés par des composés qui modifient le tonus sérotoninergique.

Ainsi, la fluoxétine, inhibiteur sélectif de la recapture de sérotonine (ISRS), réduit l'auto-administration d'amphétamine (Leccese et Lyness 1984) et de cocaïne (Carroll et coll. 1990). Elle réduit aussi la réinstallation de l'auto-administration de cocaïne induite par les stimuli associés, mais pas par une dose-test de cocaïne (Burmeister et coll. 2003).

De plus, d'autres manipulations qui facilitent la neurotransmission sérotoninergique limitent la consommation volontaire d'alcool (LeMarquand et coll. 1994; Kelaï et coll. 2003), l'auto-administration d'héroïne (Higgins et coll. 1994) et de psychostimulants (Porrino et coll. 1989;

Walsh et Cunningham 1997) ainsi que l'auto-stimulation intracérébrale (Redgrave 1978; Olds 1994).

Inversement, des manipulations qui diminuent la neurotransmission 5-HT (en induisant une déplétion en 5-HT ou en inhibant sa synthèse) augmentent la consommation d'alcool et l'auto-administration de cocaïne chez le rat (Engel et coll. 1992; LeMarquand et coll. 1994; Roberts et coll. 1994).

Plusieurs études se sont intéressées aux récepteurs 5-HT impliqués dans ces effets.

Ainsi, 8-OH-DPAT semble réduire l'auto-administration de cocaïne chez le rat (Peltier et Schenk 1993) alors que la buspironne et la gépironne, deux agonistes partiels des récepteurs 5-HT_{1A}, n'altèrent pas ce comportement chez le singe (Gold et Balster 1992). Enfin, un antagoniste sélectif de ces récepteurs, le WAY 100635, atténue la réinstallation du comportement de recherche de cocaïne (Schenk 2000).

Le RU 242969, agoniste mixte des récepteurs 5-HT_{1A/1B}, semble augmenter le pouvoir renforçant de la cocaïne (Parsons et coll. 1998), alors qu'il s'oppose à l'auto-administration d'amphétamine par une action sur les 5-HT_{1B} (Parsons et coll. 1998) et augmente le seuil d'auto-stimulation intracérébrale (Harrison et coll. 1999). De plus, des agonistes 5-HT_{1B} augmentent la capacité de faibles doses de cocaïne à induire une PPC (Cervo et coll. 2002). Il semble donc que la stimulation des récepteurs 5-HT_{1B} modifie les comportements associés à la récompense, mais que le sens de ces effets varie selon la drogue étudiée.

Enfin, les récepteurs 5-HT₂ et 5-HT₃ semblent impliqués dans de tels comportements, puisque le Ro 60-0175, agoniste des récepteurs 5-HT₂, réduit l'auto-administration de cocaïne et d'éthanol (Grottick et coll. 2000; Tomkins et coll. 2002) et que des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ bloquent l'acquisition de la PPC induite par la morphine, mais pas par l'amphétamine (Acquas et coll. 1988).

D'après l'ensemble de ces résultats, il semble que l'augmentation de la neurotransmission sérotoninergique réduise le pouvoir renforçant de drogues toxicomanogènes, et que la réduction de cette transmission l'augmente.

Plusieurs récepteurs sérotoninergiques semblent impliqués dans les effets de la 5-HT sur ces comportements, mais les résultats concernant ces différents récepteurs ne sont pas toujours cohérents, peut-être du fait de la faible sélectivité de certains ligands.

d) Interactions Nicotine-Sérotonine

(1) Effets de la Nicotine sur la Neurotransmission Sérotoninergique

Chez le rat éveillé libre de ses mouvements, la nicotine à faible dose (0,2 mg/kg, sc) ou un agoniste des nAChRs $\alpha 4\beta 2$, le RJR-2403, augmente significativement la libération corticale de 5-HT (Summers et Giacobini 1995; Summers et coll. 1996), alors qu'une dose plus forte (1,2 mg/kg, sc) ou des agonistes nicotiques non sélectifs n'ont pas d'effet (Summers et Giacobini 1995; Summers et coll. 1995).

La présence de sites de liaison de la nicotine n'a pas été observée au niveau des afférences sérotoninergiques au cortex (Schwartz et coll. 1984). De fait, les concentrations locales de 5-HT ne sont pas modifiées quand la nicotine est appliquée directement sur les tissus corticaux (Summers et Giacobini 1995). L'augmentation de libération de 5-HT pourrait donc être due à la stimulation des nAChRs présents sur les corps cellulaires des neurones sérotoninergiques du raphé dorsal qui projettent sur le cortex (Summers et Giacobini 1995; Summers et coll. 1996).

La nicotine, appliquée localement dans le NAcc ou le NRD, entraîne une augmentation de libération de 5-HT respectivement dans ces 2 structures (Ma et coll. 2005).

Enfin, la nicotine augmente la libération de 5-HT à partir de synaptosomes striataux (Reuben et Clarke 2000), mais pas de synaptosomes hippocampiques (Reuben et Clarke 2000). Cependant une étude sur coupes d'hippocampe a montré que la nicotine augmente la libération de [³H]5-HT de façon proportionnelle à la concentration appliquée (Kenny et coll. 2000).

La nicotine semble donc favoriser la transmission sérotoninergique dans le NRD et ses structures de projection.

(2) Autres Mécanismes de Régulation du Système Sérotoninergique par la Nicotine

Les taux d'ARNm du récepteur 5-HT_{1A} dans le cortex et l'hippocampe sont augmentés 2 et 24 h après une administration aiguë de nicotine à 0,5 mg/kg, ip, alors qu'ils sont réduits dans le cortex et inchangés dans l'hippocampe après l'injection biquotidienne de cette dose pendant 7 jours (Kenny et coll. 2001). La régulation de l'expression des ARNm du récepteur 5-HT_{1A} pourrait donc constituer l'un des mécanismes par lesquels la nicotine module la neurotransmission 5-HT. Il a aussi été mis en évidence *post mortem* une augmentation du nombre de récepteurs 5-HT_{1A} ainsi

qu'une réduction des concentrations de 5-HT et de 5-HIAA dans l'hippocampe de fumeurs (Benwell et coll. 1990). En revanche, chez le rat, Takada et coll. (1995) rapportent une augmentation de la 5-HT et de son métabolite dans cette structure après une exposition de 14 jours à la nicotine (0,4 mg/kg/j, sc).

(3) Interactions Nicotine-Sérotonine dans les Comportements

(a) Conditionnement de place, auto-administration et locomotion

Il semble que les récepteurs 5-HT₃ soient impliqués dans les effets appétitifs de la nicotine. Divers antagonistes de ce récepteur, l'ICS 205-930 et le MDL 72222, inhibent de façon dose-dépendante la PPC induite par la nicotine (0,6 mg/kg) (Carboni et coll. 1988). Cet effet pourrait être dû à la capacité de ces ligands à moduler la libération de DA dans le NAcc. En effet, l'ICS 205-930 bloque l'augmentation par la nicotine de la libération de DA dans le NAcc (Carboni et coll. 1989) et les agonistes 5-HT₃ entraînent par eux-mêmes une libération de DA dans cette même structure (Jiang et coll. 1990; Chen et coll. 1991).

En revanche, en accord avec les données cliniques qui ne trouvent pas d'effet des antagonistes des récepteurs 5-HT₃ sur le tabagisme (Zacny et coll. 1993), l'ICS 205-930 et le MDL 72222 ne modifient pas l'auto-administration de nicotine chez le rat (Corrigall et Coen 1994).

Il a également été montré qu'un agoniste des récepteurs 5-HT_{2C} diminue l'auto-administration de nicotine (Grottick et coll. 2001).

La déplétion en 5-HT (5,7-DHT, icv) inhibe l'auto-administration de nicotine et accélère la sensibilisation comportementale induite par la nicotine chez le rat (Olausson et coll. 2001). A l'inverse, une augmentation de la neurotransmission sérotoninergique bloque l'expression de la sensibilisation locomotrice induite par la nicotine ; c'est le cas lors d'une administration sub-chronique d'un inhibiteur sélectif de la recapture de 5-HT, le citalopram, ou d'un agoniste des récepteurs 5-HT₂, le DOI (Olausson et coll. 1999; 2001). En revanche, il ne semble pas que le système sérotoninergique soit impliqué dans les effets de la nicotine sur l'activité locomotrice (pour revue, voir Olausson et coll. 2002).

(b) Cognition

La mécamylamine (10 mg/kg, ip) altère significativement l'acquisition d'une tâche de mémoire spatiale dans la piscine de Morris chez le rat, et ce déficit est accentué par la pCPA qui bloque la synthèse de 5-HT (Riekkinen et coll. 1992). De plus, la combinaison de doses sub-actives de 8-OH-DPAT, agoniste 5-HT_{1A}, et de mécamylamine (2,5 mg/kg, ip) a des effets délétères sur l'acquisition, mais ni sur la consolidation, ni sur le rappel de cette tâche, ce qui suggère un déficit d'attention plutôt que de mémoire (Riekkinen et coll. 1994). Dans une procédure d'évitement passif, la mécamylamine n'a pas d'effet propre, mais son association avec la pCPA altère l'acquisition de cette épreuve par les rats (Riekkinen et coll. 1992).

La lésion électrolytique du septum médian, structure riche en neurones cholinergiques, entraîne également un déficit dans l'acquisition d'une tâche de mémoire spatiale dans la piscine de Morris. Ce déficit est atténué par la nicotine (0,3 mg/kg, ip), effet qui n'est toutefois pas observé chez des animaux porteurs de la lésion et déplétés en 5-HT (Riekkinen et coll. 1994). Il semble donc que les effets positifs de la nicotine sur les processus attentionnels nécessitent, au moins en partie, l'intégrité du système sérotoninergique.

Des lésions combinées du septum médian et du noyau basal de Meynert induisent un déficit transitoire de l'acquisition et de la rétention dans la piscine de Morris. Ce déficit est annulé par la nicotine à une dose qui améliore aussi les performances de rats non lésés, ainsi que par un antagoniste des récepteurs 5-HT₃, le WAY 100289, qui n'a pas d'effet sur les rats contrôles (Hodges et coll. 1995).

Les lésions du septum médian, comme celles du noyau basal de Meynert, détériorent aussi le comportement d'évitement passif. Cet effet délétère est aggravé par la pCPA et atténué par la nicotine (0,1 et 0,3 mg/kg) (Riekkinen et coll. 1994).

Dans leur ensemble, ces données indiquent que le tonus sérotoninergique est modifié par la nicotine et qu'il joue un rôle permissif dans l'expression des effets de la nicotine sur la cognition. Les récepteurs 5-HT₃ et 5-HT_{2C} semblent impliqués dans les effets renforçants de la nicotine, en revanche il n'y a pas de donnée concernant les autres récepteurs sérotoninergiques. Compte tenu du fait que le récepteur 5-HT_{1A} semble impliqué dans les effets renforçants de la cocaïne (Schenk 2000), il serait intéressant d'évaluer son implication dans les effets plaisants de la nicotine.

4. Système Noradrénergique

a) Généralités

La noradrénaline (NA) intervient dans l'attention sélective, l'éveil et les réactions au stress (Foote et coll. 1983; Levine et coll. 1990; Berridge et Waterhouse 2003; Aston-Jones et Cohen 2005). Elle est aussi impliquée dans l'apprentissage et la mémoire, l'excitabilité neuronale, la douleur, les désordres affectifs et l'addiction (Ressler et Nemeroff 1999; Gibbs et Summers 2002; Jasmin et coll. 2002; Murchison et coll. 2004; Weinshenker et Schroeder 2006).

Les premières étapes de la synthèse de NA sont celles de la synthèse de DA (Figure 1.7 a). Le précurseur, la tyrosine, est converti en dihydroxyphenylalanine (DOPA) par la tyrosine hydroxylase. La DOPA est ensuite transformée en DA par une décarboxylase. Dans les neurones noradrénergiques, la DA est finalement convertie en NA par la dopamine β -hydroxylase.

Une fois libérée, la NA peut être soit dégradée par la COMT en normétanéphrine, soit recaptée par les terminaisons qui l'on libérée par un transporteur, le NET, et dégradée en 3,4-dihydroxyphenylglycolaldehyde par la MAOA.

Le système noradrénergique comprend 2 projections ascendantes principales: les voies dorsale et ventrale. La voie dorsale est issue du locus cœruleus (LC, aire A6) et se projette dans l'hippocampe, le cervelet et le cerveau antérieur (forebrain). La voie ventrale prend son origine dans plusieurs noyaux du pont et de la medulla et innerve l'hypothalamus, le cerveau moyen (midbrain) et l'amygdale (pour revue, voir Moore et Bloom 1979). Figure 1.16.

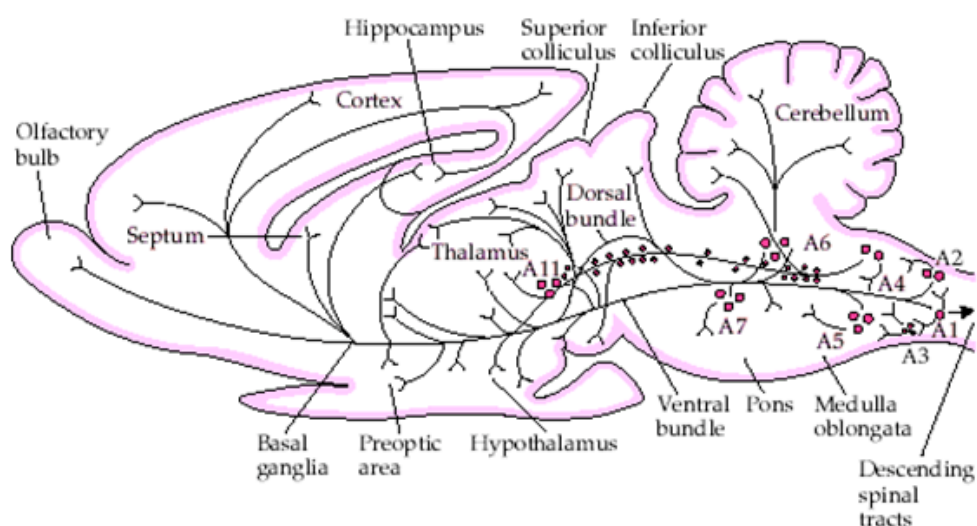


Figure 1.16 - Représentation schématique des principales voies noradrénergiques chez le rat (d'après «Principles of Neuropsychopharmacology», de Feldman et coll. 1997)

Les récepteurs de la NA ont été divisés en 2 catégories principales : α et β . Les récepteurs noradrénergiques α sont divisés en 6 sous-types : $\alpha 1A$, $\alpha 1B$, $\alpha 1D$, $\alpha 2A$, $\alpha 2B$ et $\alpha 2C$, et les récepteurs β en 3 sous-types : $\beta 1$, $\beta 2$ et $\beta 3$ (Levitzki 1986; Ruffolo et coll. 1994).

Les récepteurs noradrénergiques sont des récepteurs à 7 domaines transmembranaires couplés aux protéines G. Les $\alpha 1$, $\alpha 2$ et β sont respectivement couplés à la protéine G_q , G_i et G_s (Summers et McMartin 1993).

Le tableau 1.9 présente quelques ligands des récepteurs α -adrénergiques.

ligands	Ki (nM)		Références
	$\alpha 1$	$\alpha 2$	
<i>agonistes</i>			
NA	26-90	0,5-1,8	(Jones et coll. 1987; Borsini et coll. 1995; Schotte et coll. 1996)
clonidine	501	27-47	(Boyajian et Leslie 1987; Neve et coll. 1990; Millan et coll. 2000)
<i>antagonistes</i>			
prazosine	0,07-0.36	10,8-219	(Boyajian et Leslie 1987; Bogeso et coll. 1988; Schwinn et coll. 1995)
phentolamine	7,9-18	1,26-22	(Megens et coll. 1986; Boyajian et Leslie 1987)
yohimbine	251,18	1,2	(Boyajian et Leslie 1987; Millan et coll. 2000)
WB 4101	0,3-1,25	7,76-18,6	(O'Rourke et coll. 1994; Borsini et coll. 1995; Schwinn et coll. 1995)

Tableau 1.9 – Constantes d'inhibition (Ki) de quelques ligands des récepteurs α -adrénergiques.

b) Système Noradrénergique et Drogues d'Abus

Les systèmes dopaminergique et noradrénergique ascendants peuvent interagir dans le NAcc et le CxPF (Lategan et coll. 1990; Shi et coll. 2000), deux structures fortement impliquées dans les effets plaisants et/ou addictogènes des drogues d'abus.

Le système noradrenergique semble impliqué dans les effets renforçants de diverses drogues toxicomanogènes (pour revue, voir Weinshenker et Schroeder 2006). Une étude récente a ainsi montré que des souris dépourvues de dopamine β -hydroxylase ($Dbh^{-/-}$), l'enzyme responsable de la synthèse de la NA, n'expriment pas de PPC pour la morphine et la cocaïne alors qu'elles acquièrent une PPC avec la nourriture (Jasmin et coll. 2006), la NA est donc nécessaire pour la perception par l'animal des effets plaisants de ces 2 drogues.

De nombreuses études indiquent un rôle particulièrement important du récepteur $\alpha 1$ -adrénergique dans certains effets des drogues d'abus.

Ainsi, la prazosine, antagoniste des récepteurs $\alpha 1$ -adrénergiques, administrée par voie générale, inhibe la libération de DA dans le NAcc induite par l'amphétamine et annule l'augmentation d'activité locomotrice induite par l'amphétamine, la cocaïne et la morphine (Mathe et coll. 1996; Darracq et coll. 1998; Drouin et coll. 2001, 2002). Elle s'oppose aussi à la capacité d'une préexposition à la cocaïne à augmenter l'auto-administration de cette drogue (Zhang et Kosten 2007).

De plus, l'infusion de prazosine dans le CxPF s'oppose à l'augmentation de libération de DA dans le NAcc et à l'hyperactivité locomotrice induites par l'amphétamine (Darracq et coll. 1998). Il semble donc que l'hyperactivité locomotrice induite par l'amphétamine soit due à l'activation des récepteurs α 1-adrénergiques corticaux qui entraîne une augmentation de libération de DA dans le NAcc.

Enfin, l'hyperactivité locomotrice et la sensibilisation comportementale induites par l'amphétamine, la cocaïne ou la morphine sont réduites chez des souris invalidées pour le gène du récepteur α 1b (α 1b^{-/-}) (Drouin et coll. 2002).

Ces données convergent en faveur d'un rôle important des récepteurs α 1-, et notamment α 1b-adrénergiques, dans l'hyperactivité locomotrice et la sensibilisation comportementale (voir le chapitre « sensibilisation comportementale ») générées par certains psychostimulants et opiacés. Toutefois, l'implication de ce récepteur dans les comportements induits par la nicotine reste à évaluer.

Les récepteurs α -adrénergiques semblent également avoir un rôle dans les effets appétitifs de la morphine. Ainsi, chez la souris, le blocage des récepteurs α 1 par la prazosine ou la stimulation des récepteurs α 2 par la clonidine s'oppose à l'acquisition et à l'expression d'une PPC induite par la morphine, alors que le blocage des récepteurs α 2 par la yohimbine potentialise l'acquisition de la PPC induite par la morphine sans en modifier l'expression (Zarrindast et coll. 2002). En accord avec les effets de la prazosine, les souris α 1b^{-/-} n'acquièrent pas de PPC à la morphine (Drouin et coll. 2002). Les récepteurs α 1- et α 2-adrénergiques semblent donc être impliqués de façon différentielle dans les effets appétitifs de la morphine.

Enfin, chez le rat, la prazosine (0,3 mg/kg, ip) s'oppose à la réinstallation de l'auto-administration de cocaïne par une dose-test de cette drogue (Zhang et Kosten 2005).

Le blocage des récepteurs α 1 s'oppose donc aux effets appétitifs de la morphine, à la capacité des stimuli environnementaux associés à la morphine à en évoquer les effets plaisants, ainsi qu'à la capacité d'une dose-test de cocaïne à induire la réinstallation du comportement de recherche de cocaïne. En revanche, le blocage des récepteurs α 2 augmente la perception par les animaux de la valeur appétitive de la morphine. L'implication des récepteurs adrénégiques dans les effets appétitifs de la nicotine reste à étudier.

c) Système Noradrénergique et Nicotine

(1) nAChRs et Neurones NA

Les neurones noradrénergiques portent des nAChRs, que ce soit au niveau des corps cellulaires dans le LC (dans ce cas ils expriment les sous-unités $\alpha 4$, $\alpha 6$, $\alpha 7$, $\beta 2$, $\beta 3$) ou au niveau des terminaisons (contenant les sous-unités $\alpha 4$, $\alpha 6$, $\beta 2$ et $\beta 3$) comme par exemple dans l'hippocampe, l'amygdale, le NAcc et le CxPF (Fu et coll. 1998; Lena et coll. 1999; Rao et coll. 2003; Vincler et Eisenach 2003).

(2) Effets de la Nicotine sur la Neurotransmission Noradrénergique

De nombreuses études s'accordent sur le fait que la nicotine augmente la libération de NA.

C'est le cas *in vitro* à partir de tranches d'hypothalamus, de cervelet, de cortex cérébral, ou d'hippocampe (Hall et Turner 1972; Goodman 1974; Arqueros et coll. 1978; Snell et Johnson 1989; Sacaan et coll. 1995; Sershen et coll. 1997), ou de synaptosomes hippocampiques ou hypothalamiques (Yoshida et coll. 1980; Clarke et Reuben 1996). *In vivo*, on observe une augmentation de libération de NA dans l'amygdale et les noyaux paraventriculaires de l'hypothalamus chez des rats qui s'auto-administrent librement de la nicotine (Fu et coll. 2001, 2003), et dans l'amygdale et l'hippocampe après injection iv de nicotine (Fu et coll. 1998). Dans cette dernière étude, l'augmentation de libération de NA induite par la nicotine est diminuée par la mécamylamine et, quoi que de façon moindre, par la DH- β -E et la MLA, ce qui indique que cette libération est due à l'activation des nAChRs centraux (de type $\beta 2^*$ et $\alpha 7$).

Enfin, chez le rat anesthésié, la nicotine augmente de façon dose-dépendante l'activité des neurones NA du LC (Engberg et Svensson 1980; Svensson et Engberg 1980).

(3) Système Noradrénergique et Effets Comportementaux de la Nicotine

Le système noradrénergique semble jouer un rôle dans les effets pro-attentionnels de la nicotine (Hahn et Stolerman 2005); mais malgré le rôle clair tenu par ce système dans les effets de nombreuses drogues d'abus, très peu d'études se sont intéressées à son implication dans les effets plaisants de la nicotine. Une augmentation des taux de NA dans l'amygdale et l'hypothalamus a tout de même été corrélée à une augmentation de l'auto-administration de nicotine chez le rat (Fu

et coll. 2001, 2003). De plus, le bupropion et la reboxetine, qui ont une composante noradrénergique, inhibent l'auto-administration de nicotine (Rauhut et coll. 2002, 2003). Cependant, ces deux substances sont aussi des antagonistes non compétitifs des nAChRs, ce qui pourrait rendre compte de cet effet.

La NA a, dans un premier temps, été décrite comme un facteur clef dans l'appétence pour les drogues d'abus. Cette assertion se basait sur le fait que (1) la stimulation des voies noradrenergiques entraîne un comportement d'auto-stimulation ; (2) des manipulations touchant au système noradrenergique modulent l'effet des drogues d'abus sur les seuils d'autostimulation et influencent leur auto-administration (pour revue, voir Weinshenker et Schroeder 2006). Cependant, l'implication de la NA dans les effets plaisants des drogues a ensuite été contestée (dans le milieu des années 70) sur la base de l'apparente absence d'effets de la modulation de ce système sur le maintien de l'auto-administration de drogues.

Des travaux plus récents ont réévalué l'importance de ce neuromédiateur, avec pour conclusion un rôle majeur dans les effets plaisants et moteurs des drogues d'abus en général et des psychostimulants en particulier. Il semble ainsi que la NA participe à ces effets en exerçant un contrôle sur le système dopaminergique mésolimbique, notamment par une action sur les récepteurs $\alpha 1$ -adrénergiques présents dans le CxPF. Il apparaît donc intéressant d'étudier l'implication de ces récepteurs dans les effets (appétitifs et locomoteurs) de la nicotine, ce qui n'a pas encore été réalisé.

IV. Objectifs de l'étude

Le but de notre travail a été d'évaluer l'implication de plusieurs systèmes neuromodulateurs dans les effets plaisants de la nicotine chez le rat, afin de mieux comprendre les mécanismes neurobiologiques qui sous-tendent ces effets et éventuellement ouvrir de nouvelles pistes thérapeutiques pour traiter le tabagisme.

Afin d'évaluer le caractère « plaisant » de la nicotine chez le rat, et compte tenu de l'importance de l'environnement associé à la cigarette dans la dépendance au tabac, nous avons choisi la procédure de préférence de place conditionnée. Cette procédure repose sur l'établissement, par conditionnement Pavlovien, d'une association entre les effets subjectifs d'une drogue et un environnement particulier.

Cependant, comme nous l'avons souligné plus haut, bien que la nicotine ait d'incontestables effets appétitifs et addictifs chez l'Homme, ceux-ci ne sont pas aisément mis en évidence chez l'animal, et la procédure de conditionnement de place a initialement généré de nombreux résultats négatifs.

Nous avons donc, dans un premier temps, réexaminé les effets appétitifs de la nicotine en utilisant une procédure de conditionnement de place « non biaisée ». Compte tenu des données de la littérature, cette étude a été réalisée après une courte pré-exposition des rats à la nicotine afin de dépasser les effets aversifs habituellement décrits lors des premières injections (Shoaib et coll. 1994). En outre, des effets biphasiques en fonction des doses ont été décrits chez la souris (Risinger et Oakes 1995), ainsi il n'était pas exclu que des effets appétitifs puissent être plus aisément observés avec des doses de nicotine beaucoup plus faibles que celles qui sont habituellement utilisées. D'ailleurs, chez le rat, la réinstallation des réponses d'auto-administration après extinction peut être induite par une dose-test de nicotine aussi faible que 1 µg/kg (Chiamulera et coll. 1996), ce qui indique que de très faibles concentrations ont des effets psychotropes que les animaux peuvent percevoir.

Nous avons ainsi exploré une large gamme de doses de nicotine et recherché les conditions expérimentales les plus propices à l'apparition d'un conditionnement de préférence de place (Article 1). Nous avons ensuite étudié, par une approche pharmacologique, l'implication des récepteurs nicotiques dans le développement de la préférence de place.

Dans un deuxième temps, nous avons évalué l'implication des systèmes endocannabinoïde (Articles 1 et 2) et sérotoninergique dans la PPC induite par la nicotine, en utilisant comme outils

pharmacologiques, respectivement un antagoniste sélectif des récepteurs CB1, le rimonabant, et un antagoniste sélectif des récepteurs 5-HT_{1A}, le WAY 100635. Nous avons également évalué l'effet de la PPC induite par la nicotine sur les récepteurs CB1, dopaminergiques D2 et 5-HT_{1A} dans différentes structures d'intérêt par des techniques biochimiques (couplage aux protéines G et, pour les récepteurs CB1, marquage par le [³H]rimonabant). De plus, nous avons étudié l'implication du système noradrénergique dans la PPC induite par la nicotine en bloquant les récepteurs α 1-adrenergiques par la prazosine.

Enfin, compte tenu de l'importance de la rechute dans les difficultés à traiter efficacement le tabagisme, nous avons essayé de mettre en place un paradigme d'extinction puis de réinstallation de la PPC par une dose-test de nicotine.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

I. Animaux

Les expériences ont été réalisées sur des rats mâles Wistar (Centre d'Élevage R. Janvier, Le Genest) de 210-220 g le premier jour de l'expérience. Les animaux sont groupés par 8 dans les cages d'élevage et sont maintenus dans des conditions standard d'animalerie ($21\pm 1^\circ\text{C}$, lumières allumées de 7h30 à 19h30, eau ad libitum). Une semaine avant le début du conditionnement et pour toute la durée des expériences, la quantité de nourriture (*Safe*, référence 105 rats, souris et hamster) est limitée à 20 g par jour et par rat, ce qui maintient leur poids à environ 90 % du poids normal. En effet, une restriction alimentaire chronique, modérée, augmente les effets motivationnels de diverses drogues (Carr 2006).

Durant la semaine précédant le début des expériences de conditionnement de place, les rats sont régulièrement sortis de l'animalerie, manipulés, pesés et habitués aux injections.

II. Procédure de Conditionnement de Place

1. Dispositif expérimental

Le dispositif expérimental est constitué de 4 enceintes carrées ou "open-fields" (76x76x50 cm) de couleur noire, dont le sol est recouvert de 4 quadrants interchangeables, soit de Plexiglas granuleux, soit de grille métallique. Le comportement des rats dans les enceintes est filmé par 4 caméras. Un système numérique de traitement d'image (Grabber), situé dans la pièce adjacente, et un logiciel informatique (SuperG Software, Hans C. Neijt ; Novartis Pharma) permettent d'analyser la distance parcourue et le temps passé respectivement sur les 2 textures de sol. L'éclairage de la pièce expérimentale est assuré par 4 lampes rouges (15 W), chacune située à environ 170 cm au-dessus des open-fields. Un bruit de fond neutre et continu (60 dB) est diffusé dans la pièce expérimentale afin d'atténuer d'éventuelles perturbations extérieures.

2. Procédure Générale de Conditionnement

Le conditionnement de place est conduit selon la méthode décrite par Guyon et coll. (1993). La procédure générale, *non biaisée*, comporte 2 étapes successives, le conditionnement et la séance-test, qui se déroulent selon les conditions suivantes (Figure 2.1):

a) Conditionnement: Il comprend 8 séances de 30 minutes, au cours desquelles les rats sont toujours placés dans le même open-field. Pour les séances impaires, le sol de l'open-field est composé de 4 quadrants de texture identique. Pour les séances paires, le sol est recouvert de l'autre texture. La nicotine, qui est toujours administrée avant les séances impaires, est associée à la grille pour la moitié des rats de chaque groupe et au Plexiglas pour l'autre moitié. Des études antérieures ont montré que les rats naïfs ne manifestent pas de préférence spontanée pour l'une ou l'autre texture.

b) Séance-test: Sauf exceptions qui seront précisées plus loin, une séance-test unique de 20 min intervient 24 h après la dernière séance de conditionnement. Le sol des open-fields est alors composé de 2 quadrants de Plexiglas et de 2 quadrants de grille, disposés en diagonale. Les rats ne reçoivent pas de nicotine avant la séance-test.

La variable dépendante enregistrée est le temps passé sur la texture antérieurement associée à la nicotine, chronométré à la seconde près grâce au logiciel informatique couplé au système d'analyse d'image. Une valeur proche de 600 s indique ainsi une absence de préférence. La distance (cm) parcourue est également enregistrée.

Pour les études concernant l'expression à long terme du conditionnement, les rats sont soumis à 1 ou 2 séances-tests supplémentaires réalisées plusieurs jours ou semaines après la séance-test initiale (détails fournis dans les chapitres concernés).

Conditionnement de place

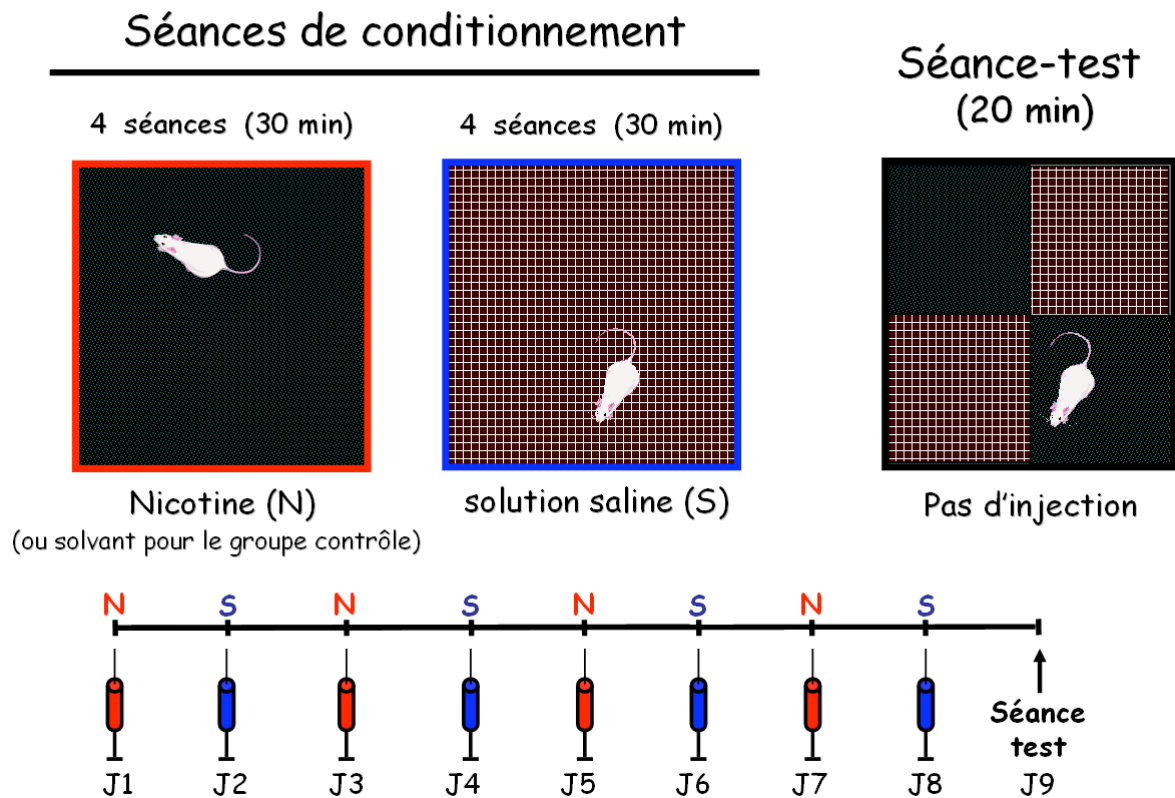


Figure 2.1 : Représentation schématique de la procédure de conditionnement de place

Pour toutes les expériences de conditionnement de place avec la nicotine, les rats ont reçu, la semaine précédant le conditionnement, 3 injections SC (lundi, mercredi, vendredi) de nicotine à la dose qui sera utilisée pendant le conditionnement, afin de s'affranchir des éventuels effets aversifs des premières injections de nicotine (Shoaib et coll. 1994 ; Laviolette et van der Kooy 2004). En alternance (mardi, jeudi), 2 injections de solution saline ont été effectuées SC (ou IP pour habituer les rats, si le protocole d'injections ultérieur nécessite des administrations par cette voie).

Les substances utilisées *in vivo*, leurs mode de préparation, voie d'administration et origine sont indiqués dans le Tableau 2.1.

Tableau 2.1 – Substances utilisées au cours des expériences de conditionnement de place

Substances	Préparation	Voie d'injection	Fournisseur
Dihydro- α -erythroïdine	Sérum Phy	IP	Sigma
Mécamylamine	Sérum Phy	IP	Sigma
(-) Nicotine bitartrate doses calculées en base	Sérum Phy solutions à pH 7,3-7,5	SC	Sigma
Prazosine HCl	Sérum Phy soniqué	IP	Sigma
Rimonabant SR 141716 micronisé	Tween 80	IP	Sanofi-Aventis
WAY 100635	Sérum Phy	SC	Sigma

Préparation – Sérum Phy: solution dans du sérum physiologique (NaCl 0,9%)

Tween 80: suspension dans une goutte de Tween 80 et du sérum physiologique

Voie d'injection – IP : intrapéritonéale ; SC : sous-cutanée (volume : 5 ml/kg)

Les doses utilisées ont été calculées en poids de base ou de sel, selon la présentation des composés, excepté pour la nicotine, dont les doses indiquées sont toujours rapportées au poids de base.

3. Analyses Statistiques des Résultats Comportementaux

Les scores de PPC représentent le temps passé par les rats sur la texture associée aux séances de conditionnements « impaires » (correspondant aux séances « nicotine » pour les animaux conditionnés à la nicotine). Ils sont exprimés dans le texte sous la forme de moyennes \pm erreur standard de la moyenne (ESM) du temps passé sur la texture « impaire ».

Les données rapportées dans les histogrammes sont exprimées sous la forme de moyennes \pm ESM du temps passé sur la texture « impaire » auquel on soustrait le temps passé sur la texture « paire ».

Les analyses statistiques sont réalisées à l'aide du logiciel Statview 5.0 (SAS Institute Inc.). La préférence de place est évaluée en testant si le temps passé sur la texture « impaire » est supérieur au temps passé sur la texture « paire » par un test *t* de Student pour séries appariées.

Les effets des traitements sur la préférence de place sont analysés par une analyse de variance (ANOVA) à un facteur, suivie, lorsque c'est approprié, par un test *t* de Dunnett dans le cas de l'article 1, et par le test de PLSD de Fisher pour comparaisons multiples dans le cas des autres résultats.

Dans tous les cas, la valeur $p < 0,05$ a été fixée comme limite supérieure de significativité statistique.

III. Autoradiographie

1. Prélèvement des cerveaux

Après décapitation des rats, les cerveaux sont prélevés puis congelés dans de l'isopentane refroidi à -30°C par de la carboglace et conservés à -80°C jusqu'au moment de l'expérience.

2. Préparation des coupes

Des coupes coronales de $20\ \mu\text{m}$ d'épaisseur sont préparées à l'aide d'un cryostat (-20°C), puis déposées sur des lames gélatinées et dégraissées (8 coupes par lame). Le niveau anatomique des coupes est repéré grâce à l'atlas de Paxinos et Watson (1986). Les lames sont ensuite conservées à -80°C .

3. Liaison spécifique du [^{35}S]GTP- γ -S induite par la stimulation des récepteurs 5-HT $_1\text{A}$

Les lames portant les sections de cerveau sont progressivement ramenées à température ambiante, puis, une fois sèches, pré-incubées une première fois pendant 15 min à cette température ($20\text{-}23^{\circ}\text{C}$) dans un tampon HEPES 50 mM, pH = 7,5, contenant 100 mM de NaCl, 3 mM de MgCl_2 , 0,2 mM d'EGTA et 0,2 mM de dithiothréitol (DTT). Une seconde pré-

incubation est ensuite effectuée pendant 15 min à la même température dans un tampon identique, auquel on a ajouté 2 mM de GDP et 10 μ M de DPCPX [8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine], un antagoniste des récepteurs A1 de l'adénosine qui permet de réduire le bruit de fond du marquage (Laitinen et Jokinen, 1998). L'incubation proprement dite est réalisée à 30°C pendant 1 heure, toujours dans le tampon HEPES auquel a été ajouté 0,05 nM de [³⁵S]GTP- γ S (1000 Ci/mmol), en absence (condition « basale ») ou en présence d'une gamme de concentrations croissantes (10⁻⁸ M, 10⁻⁷ M, 10⁻⁶ M) de 5-carboxamidotryptamine (5-CT, Sigma), un puissant agoniste des récepteurs 5-HT1 (conditions de « stimulation » de la liaison). La liaison « non spécifique » du [³⁵S]GTP- γ S est évaluée en ajoutant au tampon d'incubation 10 μ M de WAY 100635 (Sigma), antagoniste sélectif des récepteurs 5-HT_{1A}. L'incubation est stoppée par deux lavages successifs des lames dans du tampon HEPES seul (50 mM, pH=7,5) à 4°C. Deux rinçages rapides à l'eau distillée froide (4°C) sont ensuite effectués, puis les lames sont séchées sous vide pendant 30 min.

4. Liaison spécifique du [³⁵S]GTP- γ S induite par la stimulation des récepteurs CB1

Le protocole utilisé suit les mêmes étapes que le précédent (Sim et coll., 1995; Berrendero et coll., 2003). Après une pré-incubation de 10 min à 25°C dans un tampon Tris-HCl (50 mM, pH = 7,4) contenant 100 mM de NaCl, 3 mM de MgCl₂, 0,2 mM d'EGTA et 0,5 % de SAB (Fraction V), les lames sont immergées dans la même solution à laquelle sont ajoutées 2 mM de GDP et 10 μ M de DPCPX, pendant 15 min à 25°C. Elles sont ensuite incubées pendant 60 min à 30°C, toujours dans le même tampon, auquel on a ajouté 0,05 nM de [³⁵S]GTP- γ S, en absence (condition « basale ») ou en présence (condition « stimulée ») de 10 μ M de WIN 55,212-2 (Sigma), agoniste des récepteurs CB. La liaison « non spécifique » est évaluée sur des coupes adjacentes en ajoutant au milieu d'incubation 10 μ M de rimonabant, antagoniste sélectif des récepteurs CB1. L'incubation est stoppée par deux lavages successifs des lames dans du tampon Tris-HCl seul (50 mM, pH = 7,4) à 4°C. Deux rinçages rapides à l'eau distillée froide (4°C) sont ensuite effectués, puis les lames sont séchées sous vide pendant 30 minutes.

5. Liaison spécifique du [³⁵S]GTP-γ-S induite par la stimulation des récepteurs dopaminergiques D2

Le protocole utilisé suit les mêmes étapes que le précédent (Sim et coll., 1995; Berrendero et coll., 2003). Après une pré-incubation de 10 min à 25°C dans un tampon Tris-HCl (50 mM, pH = 7,4) contenant 100 mM de NaCl, 3 mM de MgCl₂, 0,2 mM d'EGTA et 0,5 % de SAB (Fraction V), les lames sont immergées dans la même solution à laquelle on a ajouté **1 mM de GDP** et 10 μM de DPCPX, pendant 15 min à 25°C. Elles sont ensuite incubées pendant 90 min à 30°C, toujours dans le même tampon, auquel on a ajouté 0,05 nM de [³⁵S]GTP-γ-S, en absence (condition « basale ») ou en présence (condition « stimulée ») de 10 μM de (-)N-n-propylnorapomorphine (NPA, Sigma). La liaison « non spécifique » est évaluée sur des coupes adjacentes en ajoutant au milieu d'incubation 100 μM de raclopride (Sigma), antagoniste des récepteurs D2/D3. L'incubation est stoppée par deux lavages successifs des lames dans du tampon Tris-HCl seul (50 mM, pH = 7,4) à 4°C. Deux rinçages rapides à l'eau distillée froide (4°C) sont ensuite effectués, puis les lames sont séchées sous vide pendant 30 min.

6. Exposition des lames et développement des films autoradiographiques

Un film autoradiographique de type Biomax MR (Kodak) est apposé sur les lames sèches et révélé après un temps d'exposition de 48 heures.

7. Quantification de la densité optique du marquage autoradiographique

Après développement du film, la densité optique (D.O.) du marquage autoradiographique est quantifiée sur une table lumineuse à l'aide d'une caméra reliée à un logiciel d'analyse d'image (Samba). La différence entre les moyennes de densité de marquage des coupes incubées dans des conditions non spécifiques (NS) et celles des coupes incubées dans des conditions de stimulation (Stimulé) permet de calculer le pourcentage de stimulation spécifique de la liaison du [³⁵S]GTP-γ-S selon le calcul suivant :

$$\text{D.O. Stimulé} - \text{D.O. NS}$$

$$\% \text{ de stimulation de la liaison} = \frac{\quad}{\text{D.O. NS}} \times 100$$

Cependant, pour les récepteurs D2, compte tenu de la meilleure sélectivité de l'agoniste (NPA) en comparaison de l'antagoniste (raclopride), les résultats sont exprimés selon la formule suivante :

$$\% \text{ de stimulation de la liaison} = \frac{\text{D.O. Stimulé} - \text{D.O. Basal}}{\text{D.O. Basal}} \times 100$$

8. Liaison spécifique du [³H]-rimonabant

Le protocole utilisé suit globalement les mêmes étapes que celui utilisé par Herkenham et coll (1990). Les lames portant les coupes de cerveau sont progressivement ramenées à température ambiante et séchées, puis incubées pendant 2h30 à 37°C dans un tampon contenant 50 mM de Tris-HCl (pH = 7,4), 5 % de SAB, et 0,5, 1,5 ou 3 nM de [³H]-rimonabant (Amersham). La liaison non spécifique est évaluée en ajoutant 1 µM de rimonabant (Sanofi) froid au milieu d'incubation de coupes adjacentes. L'incubation est stoppée par trois lavages successifs des lames à 0°C dans du tampon Tris-HCl (50 mM, pH = 7,4) contenant 1 % de SAB. Ensuite, les lames sont immergées 5 min à 24 °C dans un tampon Tris-HCl (50 mM, pH = 7,4) contenant 0,5 % de formaldéhyde puis brièvement plongées dans de l'eau désionisée. Enfin, les lames sont séchées sous vide pendant 30 min.

Un écran phosphore pour tritium (Raytest) est apposé sur les lames sèches et sur des standards tritiés (Amersham) et l'exposition dure 8 jours. La révélation se fait à l'aide d'un phosphoimager (Raytest) et la quantification à l'aide du logiciel Aida 2.43 (Raytest). Ce logiciel permet de transformer les données en nCi/mg de tissu grâce à la correspondance faite avec les valeurs données par les standards tritiés.

La liaison spécifique est finalement exprimée en pmol liées par mg de protéines grâce à l'activité spécifique connue de l'isotope radioactif (50 Ci/mmol), l'âge des standards et le rapport mg de protéines/mg de tissu (environ 1/10), après avoir soustrait les valeurs issues des coupes « non spécifiques » adjacentes.

9. Analyses Statistiques des Résultats d'Autoradiographie

Les résultats d'autoradiographie avec plusieurs concentrations de ligand sont analysés par ANOVA à 2 facteurs (concentrations de ligand et traitement des groupes) avec mesures répétées sur le facteur « concentration de ligand ».

Les résultats d'autoradiographie avec une seule concentration de ligand sont analysés par ANOVA à 1 facteur (traitement des groupes).

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

I. Les récepteurs cannabinoïdes CB1 sont impliqués dans les effets appétitifs de la nicotine chez le rat

Article 1

Forget B, Hamon M, Thiébot MH (2005)

Cannabinoid CB1 receptors are involved in motivational effects of nicotine in rats.

Psychopharmacology (Berl) 181: 722-34

Le tiré à part de l'article 1 se trouve en fin de document.

A. Introduction

De nombreuses données indiquent que le système endocannabinoïde central est impliqué dans les effets renforçants non seulement des cannabinoïdes (comme le Δ^9 -THC) mais aussi d'autres drogues. Ainsi, l'invalidation génique et/ou le blocage pharmacologique des récepteurs CB1 atténuent les effets motivationnels de nombreuses drogues d'abus telles que les opiacés (Ledent et coll. 1999; Navarro et coll. 2001; Solinas et coll. 2003), l'alcool (Arnone et coll. 1997; Hungund et coll. 2003) et les psychostimulants (Chaperon et coll. 1998; Vinklerova et coll. 2002), même si pour ces derniers les résultats sont plus contrastés.

De façon surprenante, il y a peu de données sur le rôle possible du système endocannabinoïde dans les effets motivationnels de la nicotine et les résultats comportementaux sont parfois contradictoires. Ainsi, chez des souris invalidées pour le gène du récepteur CB1 (CB1^{-/-}), la nicotine n'induit pas de PPC (Castane et coll. 2002), alors que l'auto-administration est conservée (Cossu et coll. 2001). En revanche, chez le rat, ces 2 comportements sont abolis par un antagoniste des récepteurs CB1, le rimonabant (Cohen et coll. 2002; Le Foll et Goldberg 2004).

A l'époque où nous avons débuté ce travail, il n'y avait pas d'étude concernant l'implication des récepteurs CB1 dans les effets appétitifs de la nicotine, ceci pouvant être dû aux difficultés rencontrées pour mettre en évidence des effets motivationnels robustes de la nicotine dans la procédure de PPC. Ainsi, quelques études chez le rongeur n'obtenaient pas de PPC avec la nicotine (Clarke et Fibiger 1987; Parker 1992), d'autres n'en trouvaient qu'une modeste (Fudala et Iwamoto 1986; Shoaib et coll. 1994; Castane et coll. 2002; Belluzzi et coll. 2004) et certaines rapportaient une aversion de place (Jorenby et coll. 1990) ou des effets biphasiques en fonction des doses (Risinger et Oakes 1995). Globalement, les effets appétitifs de la nicotine semblaient dépendre du protocole expérimental utilisé (conditions biaisées ou non), des doses, de la souche ou encore de l'âge des animaux.

L'objectif principal de cette étude a donc été d'évaluer l'implication des récepteurs CB1 dans les effets plaisants de la nicotine en utilisant une procédure de PPC. La première expérience a été conduite afin de déterminer les conditions expérimentales nécessaires pour obtenir une PPC avec la nicotine et qui en assurent une bonne reproductibilité. Dans une seconde série d'expériences, nous avons évalué les conséquences du blocage des récepteurs CB1 par un antagoniste sélectif, le rimonabant, sur l'acquisition de la PPC induite par la nicotine, c'est-à-dire sur la perception qu'ont les rats de la valeur appétitive de la nicotine, ainsi que sur l'expression à court et à long terme de la PPC, c'est-à-dire sur la capacité des stimuli environnementaux antérieurement associés à la nicotine à en évoquer les effets plaisants.

B. Résumé des résultats

1. Mise en place de la CPP induite par la nicotine.

La procédure de conditionnement suit celle décrite dans le chapitre Matériels et Méthodes ([page 103](#)). Cinq groupes de rats ont reçu la nicotine (0,006 ; 0,06 ; 0,125 et 0,6 mg base/kg, SC), ou son solvant pour le groupe contrôle, immédiatement avant les 4 séances de conditionnement impaires. Tous les rats ont reçu du sérum physiologique SC avant les 4 séances de conditionnement paires. Une séance-test unique a été réalisée 24 h après la dernière séance de conditionnement, sans injection supplémentaire.

Les rats « contrôles », qui n'ont pas reçu de nicotine lors des séances de conditionnement, ne présentent ni préférence ni aversion pour la texture associée au solvant. Les rats ne manifestent donc pas de préférence spontanée pour l'une ou l'autre des 2 textures (Figure 1 de l'article).

La préférence de place conditionnée obtenue après 4 séances de conditionnement « avec nicotine » dépend de la dose utilisée. En effet, les rats qui ont reçu les doses de 0,06 et 0,125 mg/kg pendant le conditionnement passent significativement plus de temps lors de la séance-test sur la texture antérieurement associée à la nicotine (test t univarié, respectivement $t_{15} = 5,20$, $p < 0,0001$ et $t_{15} = 3,13$, $p < 0,005$). Ces doses de nicotine induisent donc une PPC et la dose de 0,06 mg/kg, qui semble induire la PPC la plus marquée, a été retenue pour les expériences suivantes.

Trois expériences complémentaires ont été réalisées avec la dose de 0,06 mg/kg de nicotine. Elles indiquent que :

(1) Lorsque le conditionnement est réduit à 2 séances avec nicotine et 2 séances avec solution saline, le temps passé sur la texture « nicotine » n'est pas significativement différent du temps sur la texture « saline ». Donc, deux appariements avec la nicotine ne semblent pas suffisants pour induire une PPC.

(2) Lorsque les rats sont nourris *ad libitum*, le score de préférence pour la texture « nicotine » n'atteint pas le seuil de signification statistique ($t_{15} = 1,70$, $p = 0,055$). Une faible restriction alimentaire semble donc favoriser le développement de la PPC induite par la nicotine.

(3) Les animaux qui ont reçu la nicotine immédiatement *après* les séances impaires ne développent pas de PPC, la nicotine n'induit donc pas d'effet aversif différé qui, associé à la texture « saline » 24 h après l'injection, aurait pu constituer un facteur confondant responsable des résultats observés.

2. Effet du rimonabant sur l'acquisition de la PPC induite par la nicotine.

Le rimonabant (0,3, 1 et 3 mg/kg, IP), administré 30 min avant chaque séance de conditionnement « avec nicotine », modifie le temps passé sur la texture associée à la nicotine ($F_{3,67} = 4,51$; $p < 0,006$). Les comparaisons avec le groupe contrôle (nicotine seule) indiquent

que c'est la dose de 3 mg/kg de rimonabant qui s'oppose à l'acquisition de la PPC induite par la nicotine ($t_{4,64} = 3,10$; $p < 0,01$) (Figure 2 de l'article).

Globalement, le rimonabant réduit de manière proportionnelle à la dose la distance parcourue par les rats pendant les séances de conditionnement « avec nicotine » (Tableau 1 de l'article).

3 . Effet du rimonabant sur l'expression à court terme de la PPC induite par la nicotine.

Le rimonabant (0,3 ; 1 et 3 mg/kg, IP), injecté 30 min avant la seule séance-test, conduite 24 h après la dernière séance de conditionnement, modifie le temps passé sur la texture « nicotine » ($F_{3,43} = 3,59$; $p = 0,02$). Les comparaisons avec le groupe contrôle indiquent que c'est là aussi la dose de 3 mg/kg de rimonabant qui s'oppose à l'expression à court terme de la PPC induite par la nicotine ($t_{4,43} = 2,29$; $p < 0,05$) (Figure 3 de l'article).

Le rimonabant administré avant la séance-test n'a pas d'effet significatif sur la distance parcourue par les rats pendant cette séance ($F_{3,43} = 1,89$; *NS*).

Quel que soit le rang de l'injection, la nicotine entraîne une augmentation de l'activité locomotrice des rats pendant le conditionnement, faible (de +15 à +40%) mais significative (vs. injection saline de même rang, $t_{46} \geq 3,86$; $p < 0,001$). Cependant, l'amplitude de l'hyperactivité ne varie pas significativement avec la répétition des administrations de nicotine (régression, $F_{1,186} < 1$; *NS*), indiquant que, dans ces conditions expérimentales, il n'y a pas de sensibilisation aux effets moteurs de la nicotine (Tableau 2 de l'article).

4. Effet du rimonabant sur l'expression à long terme de la PPC induite par la nicotine.

Les résultats sont résumés dans le Tableau 3 de l'article.

Lors de la première séance-test (« probe-test » réalisé sans injection préalable, 24 h après la dernière séance de conditionnement), le temps passé sur la texture « nicotine », significativement supérieur au temps sur l'autre texture (762 ± 22 s ; $t_{45} = 5,75$; $p < 0,0001$), indique le développement attendu de la PPC. Parmi les 46 rats testés, 39 présentant des scores

supérieurs à 600 s (la moitié de la durée totale du test) ont été sélectionnés et soumis à une 2^{ème} séance-test, 12 semaines après le « probe-test ». Au cours de cette séance, la préférence pour la texture « nicotine » était toujours significative (735 ± 41 s ; $t_{38} = 3,33$; $p < 0,01$). Les 28 rats présentant des scores supérieurs à 600 s pendant la 2^{ème} séance-test ont été sélectionnés et répartis en 2 groupes ($n = 14$) équilibrés sur ce score, puis soumis, 24 h plus tard, à une 3^{ème} séance-test avec ou sans rimonabant (3 mg/kg). Lors de cette dernière, les 2 groupes de rats ont présenté des scores significativement supérieurs à l'indifférence (respectivement 782 ± 76 s ; $t_{13} = 1,79$; $p < 0,05$ et 758 ± 53 s ; $t_{13} = 2,40$, $p < 0,02$) et non différents entre eux ($t_{26} = 0,21$; *NS*).

Douze semaines après le conditionnement, le rimonabant (3 mg/kg) ne s'oppose donc plus à l'expression de la PPC induite par la nicotine.

Une expérience indépendante a été réalisée pour évaluer l'effet du rimonabant (3 mg/kg) sur l'expression de la PPC induite par la nicotine, cette fois 3 semaines après le « probe-test ». Cette expérience a été effectuée selon le même protocole que la précédente, la seule différence étant le délai entre la 1^{ère} et la 2^{ème} séance-test (3 semaines au lieu de 12). Lors de la 3^{ème} séance-test, les 2 groupes de rats avec et sans rimonabant ($n = 10$ /groupe) ont également présenté des scores significativement supérieurs à l'indifférence (« contrôles » 737 ± 51 s ; $t_9 = 2,57$ et « rimonabant » 781 ± 68 s ; $t_9 = 2,70$; $p < 0,02$) et non différents entre eux ($t_{18} = 0,53$; *NS*). Ces résultats indiquent que 3 semaines après le conditionnement, le rimonabant (3 mg/kg) n'est plus capable d'abolir l'expression de la PPC induite par la nicotine.

C. Conclusions

Cette étude montre que les effets de la nicotine dans la présente procédure de PPC se traduisent par une courbe dose-réponse en cloche, phénomène qui est classiquement observé avec les drogues toxicomanogènes. La nicotine induit une PPC reproductible et robuste à très faible dose (0,06 mg/kg, SC). Une fois acquise, celle-ci se maintient au moins 12 semaines sans réexposition à la nicotine et au dispositif expérimental.

Le rimonabant, antagoniste sélectif des récepteurs CB1, s'oppose à la fois à l'acquisition et à l'expression à court terme de cette PPC, ce qui indique que les effets appétitifs de la nicotine ainsi que la capacité des stimuli environnementaux à en évoquer les effets plaisants 24 h après la dernière séance de conditionnement sont contrôlés par les endocannabinoïdes *via* l'activation

des récepteurs CB1. Cependant, l'expression à long terme (3 et 12 semaines) de la PPC n'est pas modifiée par le blocage aigu des récepteurs CB1, suggérant une évolution au cours du temps vers des mécanismes indépendants du système endocannabinoïde.

Ces résultats seront plus amplement discutés dans le chapitre « discussion générale ».

II. Implication des récepteurs nicotiniques dans l'acquisition de la préférence de place induite par la nicotine (Étude complémentaire à l'Article 1)

A. Introduction

La nicotine se lie aux nAChRs présents dans le système nerveux central et périphérique. Les nAChRs sont des canaux cationiques pentamériques composés de sous-unités α et/ou β .

A l'heure actuelle, 12 gènes distincts ont été clonés et 9 d'entre eux sont exprimés dans le cerveau de rat ou de primate. Ces sous-unités, appelées $\alpha 2$, $\alpha 3$, $\alpha 4$, $\alpha 5$, $\alpha 6$, $\alpha 7$, $\beta 2$, $\beta 3$ et $\beta 4$, s'associent en de nombreuses combinaisons pour former des nAChRs ayant des caractéristiques pharmacologiques différentes (Zoli et coll. 1998).

Deux types principaux de nAChRs ont été définis dans le cerveau : les récepteurs homomériques et hétéromériques. Les nAChRs homomériques, caractérisés par une faible affinité pour la nicotine et une forte affinité pour l' α -bungarotoxine, sont composés de 5 sous-unités $\alpha 7$ (Clarke et coll. 1985). Les nAChRs hétéromériques, qui présentent une haute affinité pour la nicotine, sont en grande majorité composés des sous-unités $\alpha 4$ et $\beta 2$ (Zoli et coll. 1998). Des données convergentes indiquent que les nAChRs à haute affinité contenant la sous-unité $\beta 2$ (nAChRs $\beta 2^*$) seraient particulièrement impliqués dans les effets appétitifs de la nicotine. Ces données ont été obtenues soit avec des souris invalidées pour le gène codant la sous-unité $\beta 2$ (Picciotto et coll. 1998; Maskos et coll. 2005; Walters et coll. 2006), soit lors du blocage pharmacologique de ces nAChRs par un antagoniste sélectif, la dihydro- β -érythroïdine (DH- β -E) (Watkins et coll. 1999; Besson et coll. 2006; Grabus et coll. 2006; Walters et coll. 2006).

Nous avons donc, dans un premier temps, vérifié que les nAChRs étaient impliqués dans l'acquisition de la PPC induite par la nicotine, en utilisant un antagoniste non sélectif de ces récepteurs, la mécamylamine. Dans un deuxième temps, nous avons étudié l'effet de la DH- β -E sur l'acquisition de la PPC induite par la nicotine, afin d'établir l'implication des nAChRs $\beta 2^*$ dans le développement de ce comportement.

B. Résultats

1. Effet de la mécamylamine sur la PPC induite par la nicotine

La procédure de conditionnement suit celle décrite dans la section Matériels et Méthodes (page 103). Les rats ne reçoivent pas d'injection avant la séance-test unique réalisée 24 h après la dernière séance de conditionnement.

Le protocole des administrations et les effectifs des groupes expérimentaux sont indiqués dans le Tableau 3.1.

Tableau 3.1 - Protocole des traitements administrés pendant la phase de conditionnement.

Groupes	n	Traitements au cours du conditionnement		
		Séances impaires		Séances paires (pour tous les groupes)
		IP, H-15min	SC, H 0min	
« Phy/Veh »	16	Sérum phy	Solvant	Sérum phy, IP, H-15min + Sérum phy, SC, H 0min
« Mec2/Veh »	12	Mécamylamine 2 mg/kg	Solvant	
« Phy/Nico »	16	Sérum phy	Nicotine 0,06 mg/kg	
« Mec1/Nico »	12	Mécamylamine 1 mg/kg	Nicotine 0,06 mg/kg	
« Mec2/Nico »	16	Mécamylamine 2 mg/kg	Nicotine 0,06 mg/kg	

H-15min, H 0min = injection respectivement 15 min ou immédiatement avant la séance de conditionnement ; Veh = Véhicule = Solvant de la nicotine

Les rats du groupe « Phy/Veh » ont passé 648 ± 56 s sur la texture « solvant », score non différent de 600 s ($t_{15} = 0.86$; *NS*).

Les rats du groupe « Phy/Nico » ont passé 780 ± 40 s sur la texture « nicotine ». Cette valeur, significativement supérieure à 600 s ($t_{15} = 4,50$; $p = 0,0004$), confirme la valeur appétitive de cette dose de nicotine.

Les rats du groupe « Mec2/Phy » ont passé 530 ± 41 s sur la texture « solvant ». Ce score, non différent de 600 s ($t_{11} = 0.86$; *NS*), indique que les animaux ne développent ni préférence ni aversion pour la texture associée à la mécamylamine (2 mg/kg).

L'ANOVA indique que, globalement, la mécamylamine a modifié le temps passé sur la texture associée à la nicotine ($F_{4,65} = 4,12$; $p < 0,005$). Les comparaisons 2 à 2 indiquent que les scores des rats « Phy/Nico » sont significativement différents des scores des rats des groupes « Phy/Veh » et « Mec2/Nico » (respectivement $p < 0,05$ et $p < 0,002$), mais pas du groupe « Mec1/Nico ». De plus, le score des rats du groupe « Mec2/Veh » n'est pas significativement différent du score des rats du groupe « Phy/Veh » (Figure 3.1).

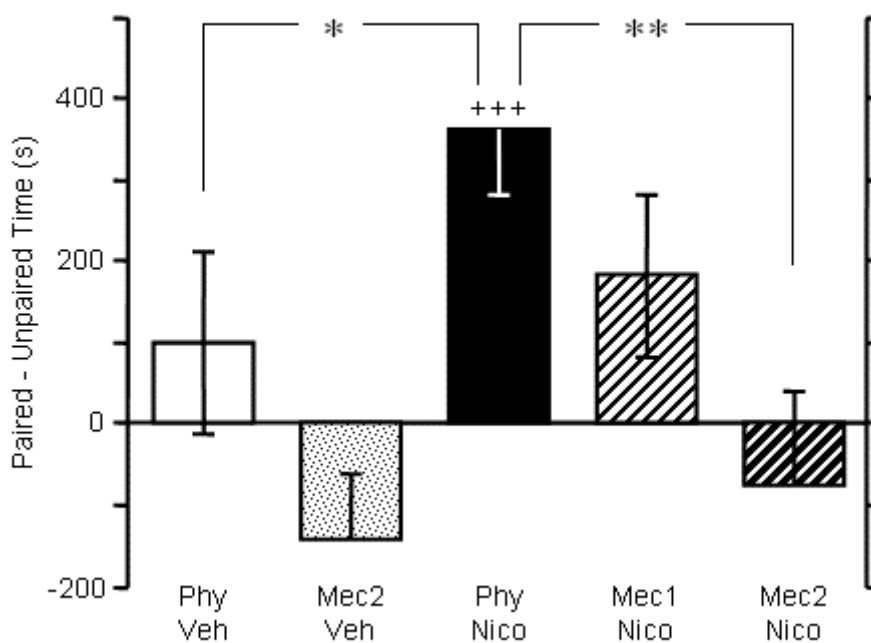


Figure 3.1 – La mécamylamine s’oppose à l’acquisition de la PPC induite par la nicotine.

Les histogrammes représentent la moyenne (\pm ESM) des différences de temps passé sur la texture associée à la nicotine et sur la texture associée au sérum physiologique au cours de la séance-test de 20 min. Les valeurs positives et négatives représentent respectivement une préférence et une aversion pour la texture « nicotine ».

La nicotine (Nico, 0,06 mg/kg, SC), ou son solvant (Veh), a été administrée immédiatement avant chaque séance de conditionnement impaire. La mécamylamine (Mec, 1 ou 2 mg/kg, IP), ou son solvant (Phy), a été injectée 15 min avant chaque séance de conditionnement « avec nicotine ».

+++ $p < 0,001$; temps passé sur la texture « Nicotine » vs. sur la texture « Veh » (t de Student pour séries appariées). * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; comparaisons entre groupes (PLSD de Fisher après ANOVA)

Donc, le développement de la PPC induite par la nicotine est totalement bloqué par la co-administration de mécamylamine à la dose de 2 mg/kg qui, par elle-même, n'a pas d'effet motivationnel.

L'**activité locomotrice** enregistrée pendant la séance-test n'est pas modifiée par les traitements reçus pendant la phase de conditionnement ($F_{4,67} = 2,4$; *NS*).

Le Tableau 3.2 résume l'activité motrice enregistrée au cours des séances de conditionnement « avec nicotine ». L'ANOVA à 2 facteurs, avec mesures répétées pour le facteur rang d'injection, indique un effet traitement ($F_{4,67} = 11,67$; $p < 0,0001$), un effet rang d'injection ($F_{3,201} = 14,5$; $p < 0,0001$) et une interaction traitement \times injection ($F_{12,201} = 1,94$; $p < 0,05$) significatifs.

Tableau 3.2 – Effets de la mécamylamine sur l'activité locomotrice des rats pendant les 4 séances de conditionnement « avec nicotine ».

Groupes	n	Distance parcourue (cm/30 min) pendant les séances de conditionnement « avec nicotine » (moyenne \pm ESM)			
		1 ^{ère} injection (séance n°1)	2 ^{ème} injection (séance n°3)	3 ^{ème} injection (séance n°5)	4 ^{ème} injection (séance n°7)
« Phy/Veh »	16	4864 \pm 358	3597 \pm 273	3418 \pm 348	3312 \pm 286
« Mec2/Veh »	12	5197 \pm 289	3486 \pm 335	3405 \pm 358	4057 \pm 438
« Phy/Nico »	16	6735 \pm 391 **	6145 \pm 394 ***	5775 \pm 502 ***	5886 \pm 426 ***
« Mec1/Nico »	12	6065 \pm 211	5480 \pm 329	6080 \pm 506	5824 \pm 342
« Mec2/Nico »	16	5330 \pm 303 °°	4703 \pm 446°°	4701 \pm 433	4718 \pm 493 °
ANOVA $F_{4,67} =$		4,96 ; $p=0,0015$	9,89 ; $p<0,0001$	7,49 ; $p<0,0001$	7,57 ; $p<0,0001$

Les résultats de l'ANOVA à 1 facteur réalisée à chacune des séances sont indiqués au bas du tableau.

** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; « Phy/Nico » vs. « Phy/Veh »

° $p < 0,05$; °° $p < 0,01$; « Mec2/Nico » vs. « Phy/Nico »

Les ANOVAs, puis les comparaisons 2 à 2 réalisées sur les distances parcourues pendant chacune des 4 séances de conditionnement « avec nicotine » indiquent que :

- (1) par rapport aux performances des rats du groupe « Phy/Veh », la nicotine augmente significativement l'activité locomotrice ($p_s < 0,01$) ;
- (2) la mécamylamine à la dose de 2 mg/kg (mais non de 1 mg/kg) réduit significativement l'hyperactivité induite par la nicotine ($p_s < 0,05$), excepté à l'injection 3 ($p = 0,08$) ;
- (3) la mécamylamine (2 mg/kg) ne modifie pas par elle-même l'activité locomotrice (« Mec2/Veh » vs. « Phy/Veh » : *NS*).

2. Effet de la dihydro- β -érythroïdine sur la PPC induite par la nicotine

La procédure de conditionnement suit celle décrite dans la section Matériels et Méthodes ([page 103](#)). Les rats ne reçoivent pas d'injection avant la séance-test unique réalisée 24 h après la dernière séance de conditionnement.

Le protocole des administrations et les effectifs des groupes expérimentaux sont indiqués dans le Tableau 3.3.

Les rats du groupe « Phy/Veh » ont passé 610 ± 47 s sur la texture « impaire », score non différent de 600 s ($t_{13} = 0.21$; *NS*).

Les rats du groupe « DHE4/Veh » ont passé 645 ± 63 s sur la texture « impaire ». Ce score, non différent de 600 s ($t_9 = 0.72$; *NS*), indique que les animaux ne développent ni préférence ni aversion pour la texture associée à la DH- β -E (4 mg/kg).

Les rats du groupe « Phy/Nico » ont passé 809 ± 36 s sur la texture « nicotine » (vs. 600 s : $t_{13} = 5,78$; $p < 0.0001$).

Tableau 3.3 - Protocole des traitements administrés pendant la phase de conditionnement.

Groupes	<i>n</i>	Traitements au cours du conditionnement		
		Séances impaires		Séances paires (pour tous les groupes)
		IP, H-10min	SC, H 0min	
« Phy/Veh »	14	Sérum phy	Solvant	Sérum phy, IP, H-10min + Sérum phy, SC, H 0min
« DHE4/Veh »	10	DH-β-E 4 mg/kg	Solvant	
« Phy/Nico »	14	Sérum phy	Nicotine 0,06 mg/kg	
« DHE2/Nico »	10	DH-β-E 2 mg/kg	Nicotine 0,06 mg/kg	
« DHE4/Nico »	14	DH-β-E 4 mg/kg	Nicotine 0,06 mg/kg	

DHE = DH-β-E = dihydro-β-érythroïdine, antagoniste sélectif des nAChRs β2*

L'ANOVA montre que, globalement, la DH-β-E a modifié le temps passé sur la texture associée à la nicotine ($F_{4,57} = 3,58$; $p < 0,02$). Les comparaisons 2 à 2 indiquent que les scores des rats du groupe « Phy/Nico » sont significativement différents de ceux des contrôles « Phy/Veh » ($p < 0,05$) et du groupe « DHE4/Nico » ($p < 0,02$), mais pas du groupe « DHE2/Nico ». De plus, le score des rats du groupe « DHE4/Veh » n'est pas significativement différent de celui des rats contrôles « Phy/Veh » (Figure 3.2).

L'acquisition de la PPC induite par nicotine est donc totalement annulée lorsque les nAChRs β2* sont bloqués par la dose de 4 mg/kg de DH-β-E (mais non 2 mg/kg), qui n'a pas d'effet motivationnel propre.

L'**activité locomotrice** lors du test n'est pas modifiée par les traitements administrés pendant la phase de conditionnement ($F_{4,57} = 0,99$; *NS*).

Le Tableau 3.4 résume l'activité motrice enregistrée au cours des séances de conditionnement « avec nicotine ». L'ANOVA à 2 facteurs, avec mesures répétées pour le facteur rang des injections, indique un effet traitement ($F_{4,57} = 5,41$; $p < 0,001$), un effet rang d'injection ($F_{3,171} = 23,20$; $p < 0,0001$) et pas d'interaction ($F_{12,171} = 0,98$; *NS*).

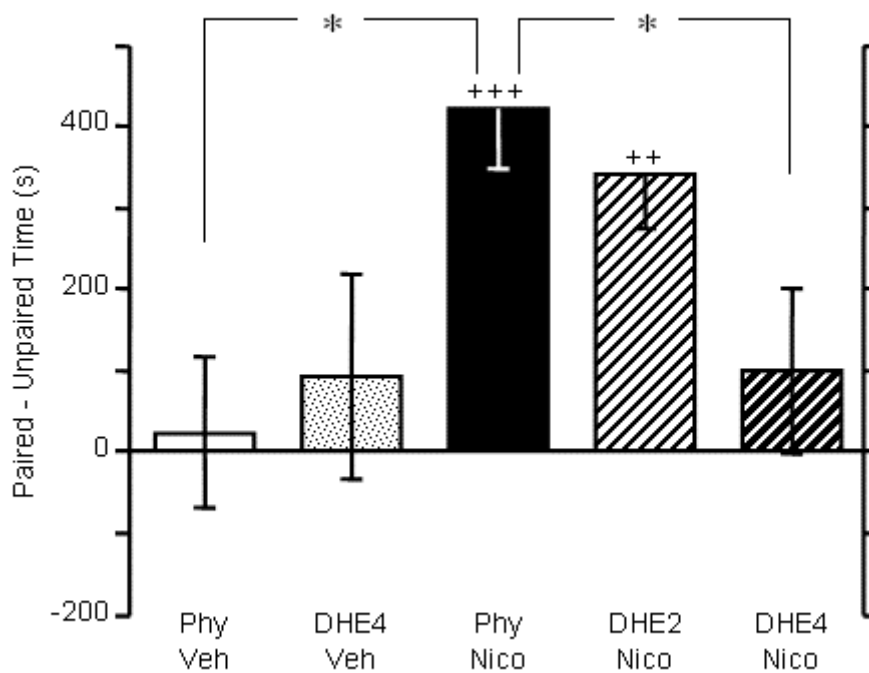


Figure 3.2 – La dihydro- β -érythroïdine s’oppose à l’acquisition de la PPC induite par la nicotine.

Les histogrammes représentent la moyenne (\pm ESM) des différences de temps passé sur la texture associée à la nicotine et sur la texture associée au sérum physiologique au cours de la séance-test de 20 min. Les valeurs positives représentent une préférence pour la texture « nicotine ».

La nicotine (Nico, 0,06 mg/kg, SC), ou son solvant (Veh), a été administrée immédiatement avant chaque séance de conditionnement impaire. La dihydro- β -érythroïdine (DHE, 2 ou 4 mg/kg, IP), ou son solvant (Phy), a été injectée 10 min avant chaque séance de conditionnement « avec nicotine ».

++ $p < 0,01$; +++ $p < 0,001$; temps passé sur la texture « Nicotine » vs. sur la texture « Veh » (t de Student pour séries appariées). * $p < 0,05$; comparaisons entre groupes (PLSD de Fisher après ANOVA)

Les ANOVAs indépendantes réalisées sur les distances parcourues pendant chacune des 4 séances de conditionnement « avec nicotine » indiquent que :

- (1) par rapport aux performances des rats du groupe « Phy/Veh », la nicotine augmente significativement l’activité locomotrice ($p_s < 0,01$) ;
- (2) la DH- β -E (2 et 4 mg/kg) diminue significativement l’hyperactivité motrice induite par la nicotine et ceci de façon équivalente pour les 2 doses étudiées ($p_s < 0,05$) ;

(3) la DH- β -E (4 mg/kg) ne modifie pas par elle-même l'activité locomotrice des rats (« DHE4/Veh » vs. « Phy/Veh » : NS).

Tableau 3.4 – Effets de la dihydro- α -érythroïdine sur l'activité locomotrice des rats pendant les 4 séances de conditionnement « avec nicotine ».

Groupes	n	Distance parcourue (cm/30 min) pendant les séances de conditionnement « avec nicotine » (moyenne \pm ESM)			
		1 ^{ère} injection (séance n°1)	2 ^{ème} injection (séance n°3)	3 ^{ème} injection (séance n°5)	4 ^{ème} injection (séance n°7)
« Phy/Veh »	14	5527 \pm 323	4192 \pm 614	3684 \pm 626	3919 \pm 623
« DHE4/Veh »	10	5668 \pm 260	5309 \pm 540	3901 \pm 335	4295 \pm 464
« Phy/Nico »	14	6892 \pm 164 ***	6797 \pm 320 ***	6502 \pm 524 ***	5744 \pm 400 **
« DHE2/Nico »	10	5686 \pm 239 °°	4805 \pm 309 °	4325 \pm 571 °°	4143 \pm 453 °
« DHE4/Nico »	14	6014 \pm 280 °	5373 \pm 594 °	4526 \pm 433 °°	4442 \pm 403 °
ANOVA $F_{4,57} =$		4,76 ; $p < 0,005$	3,90 ; $p < 0,01$	4,96 ; $p < 0,002$	2,55 ; $p < 0,05$

Les résultats des ANOVAs à 1 facteur réalisées à chacune des séances sont indiqués au bas du tableau.

** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; « Phy/Nico » vs. « Phy/Veh »

° $p < 0,05$; °° $p < 0,01$; « DHE (2 ou 4)/Nico » vs. « Phy/Nico »

C. Conclusions

Nous montrons dans cette étude que le blocage des nAChRs, non sélectif par la mécamylamine (2 mg/kg) ou sélectif des nAChRs $\beta 2^*$ par la DH- β -E (4 mg/kg), s'oppose à l'acquisition de la PPC induite par la nicotine. Ces résultats ne peuvent être attribués à un effet aversif de ces molécules car la plus forte dose de chacune d'entre elles n'entraîne pas, par elle-même, d'aversion pour la texture qui lui a été associée.

De plus, les 2 antagonistes, qui sont dépourvus d'effet moteur propre, bloquent l'augmentation d'activité locomotrice induite par la nicotine pendant le conditionnement.

Les effets appétitifs et hyperlocomoteurs de la nicotine dépendent donc bien d'une stimulation des nAChRs, et plus particulièrement des nAChRs $\beta 2^*$.

III. Le système endocannabinoïde est impliqué de façon différentielle dans l'expression à court et à long terme de la préférence de place conditionnée induite par la nicotine chez le rat

Article 2

Forget B, Barthélémy S, Saurini F, Hamon M, Thiébot MH (2006)

Differential involvement of the endocannabinoid system in short- and long-term expression of incentive learning supported by nicotine in rats.

Psychopharmacology (Berl) 189: 59-69

Le tiré à part de l'article 2 se trouve en fin de document.

A. Introduction

Nous avons montré (Article 1) que le blocage des récepteurs CB1 par le rimonabant s'oppose à l'acquisition et à l'expression de la PPC induite par la nicotine. Cependant, ce dernier effet, observé 24 heures après la fin du conditionnement, disparaît quand la séance-test est différée de 3 ou 12 semaines après la phase de conditionnement. Ces résultats indiquent que le système endocannabinoïde pourrait être impliqué de façon différentielle dans l'expression à court et à long terme de la PPC induite par la nicotine.

La présente étude s'est donc attachée à :

- I. déterminer l'intervalle de temps après le conditionnement pendant lequel une administration aiguë de rimonabant reste capable de s'opposer à l'expression de la PPC induite par la nicotine ;

- II. examiner les effets d'un blocage chronique des récepteurs CB1 pendant la période séparant la 1^{ère} (24 h après le conditionnement) de la 2^{ème} séance-test (1, 2 ou 3 semaines) sur l'expression à long terme de la PPC induite par la nicotine ;
- III. étudier les conséquences du conditionnement à la nicotine suivi de 3 semaines de traitement chronique par le rimonabant sur la fonctionnalité des récepteurs CB1 (mesure de la liaison du [³⁵S]GTP- γ -S induite par un agoniste cannabinoïde, le WIN 55 212-2) dans des structures cérébrales potentiellement impliquées dans le conditionnement de place.

B. Résumé des résultats

1. Effet de l'administration chronique de rimonabant post-acquisition sur l'expression à long terme de la PPC induite par la nicotine

Nous avons réalisé trois expériences indépendantes. Elles ont été effectuées selon le même protocole, avec pour seule différence le nombre de jours séparant le « probe-test » de la deuxième séance-test (7, 14 ou 21 jours respectivement pour les expériences 1, 2 et 3).

Les rats ont été conditionnés à la nicotine (0,06 mg/kg, SC), ou à la solution saline pour le groupe « saline contrôle », et soumis au « probe-test » (sans injection) 24 heures après la dernière séance de conditionnement. Dans chaque expérience, les rats conditionnés à la nicotine ont été répartis en 4 groupes équilibrés selon leur score au « probe-test ».

Les traitements administrés au cours des différentes phases de la procédure sont résumés dans le Tableau 3.5.

Tableau 3.5 – Groupes de conditionnement de place à la nicotine et traitements administrés pendant les différentes phases des expériences 1 (chronique 7 jours), 2 (chronique 14 jours) et 3 (chronique 21 jours).

Groupes	Traitements aux différentes phases de la procédure			
	Séances de Conditionnement impaires (mg/kg, SC, H 0min)	«Probe-test»	6, 13 ou 20 administrations quotidiennes (mg/kg, IP)	2 ^{ème} Séance-test (IP, H-30min)
« Saline Contrôle »	Solvant (Phy)	—	Véhicule	Véhicule
« Veh/Veh »	Nicotine 0,06	—	Véhicule	Véhicule
« Veh/R3 »	Nicotine 0,06	—	Véhicule	Rimonabant 3
« R3/Veh »	Nicotine 0,06	—	Rimonabant 3	Véhicule
« R3/R3 »	Nicotine 0,06	—	Rimonabant 3	Rimonabant 3

Tous les rats reçoivent du sérum physiologique avant les séances de conditionnement paires. Les injections chroniques sont faites tous les jours entre 17 et 18 heures. La 2^{ème} séance-test est réalisée le lendemain la dernière injection chronique. L'expérience 2 n'inclut pas de groupe « saline contrôle »

Les résultats des séances tests conduites 7, 14 et 21 jours après le conditionnement sont présentés dans la Figure 1 de l'article.

a) *Expérience 1 (chronique 7 jours)*

Les scores des rats du groupe « saline contrôle » ($n = 11$) ne diffèrent pas de 600 s, que ce soit au « probe-test » ($t_{10} = 0,87$; *NS*) ou à la 2^{ème} séance-test ($t_{10} = 0,19$; *NS*).

Lors du « probe-test », les 80 rats conditionnés à la nicotine présentent un score de préférence significatif pour la texture associée à la nicotine (vs. 600 s : $t_{79} = 8,22$; $p < 0,0001$).

Au cours de la deuxième séance-test, les rats des groupes « Veh/Veh », « Veh/R3 », « R3/Veh » et « R3/R3 » présentent toujours un score de préférence significatif pour la texture « nicotine » (vs. 600 s : respectivement, $t_{19} = 5,28$; $p < 0,0001$; $t_{19} = 2,17$; $p < 0,05$; $t_{19} = 3,57$; $p < 0,002$ et $t_{19} = 2,62$; $p < 0,05$; $n = 20$ /groupe) et l'ANOVA indique qu'il n'y a pas de différence significative entre les 5 groupes inclus dans l'expérience ($F_{4,86} = 2,37$; *NS*) (Figure 1a de l'article).

b) Expérience 2 (chronique 14 jours)

Au « probe-test », les 48 rats conditionnés à la nicotine présentent un score de préférence significatif pour la texture associée à la nicotine (vs. 600 s : $t_{47} = 6,15$; $p < 0,0001$).

Lors de la deuxième séance-test, les rats des groupes « Phy/Veh », « Phy/R3 » et « R3/Veh » ($n = 12$ /groupe) présentent toujours un score de préférence significatif pour la texture « nicotine » (vs. 600 s : respectivement, $t_{11} = 3,20$; $p < 0,01$; $t_{11} = 2,28$; $p < 0,05$; $t_{11} = 3,95$; $p < 0,005$), alors que les rats du groupe « R3/R3 » ne manifestent plus de préférence ($t_{11} = 1,04$ NS). Toutefois, l'ANOVA indique qu'il n'y a globalement pas de différence significative entre les quatre groupes ($F_{3,44} = 1,11$; NS) (Figure 1b de l'article).

c) Expérience 3 (chronique 21 jours)

Les scores des rats du groupe « saline contrôle » ($n = 16$) ne diffèrent pas de 600 s, que ce soit au « probe-test » ($t_{15} = 0,29$; NS) ou à la 2^{ème} séance-test ($t_{15} = 0,83$; NS).

Au cours du « probe-test », les 102 rats conditionnés à la nicotine manifestent un score de préférence significatif pour la texture « nicotine » (vs. 600 s : $t_{101} = 7,88$; $p < 0,0001$).

Lors de la deuxième séance-test, les rats des groupes « Veh/Veh », « Veh/R3 » et « R3/Veh » présentent toujours un score de préférence significatif pour la texture associée à la nicotine (vs. 600 s : respectivement $t_{25} = 5,65$, $p < 0,0001$, $n = 26$; $t_{25} = 4,16$, $p < 0,001$, $n = 26$; $t_{23} = 3,75$, $p < 0,001$, $n = 24$), alors que les rats du groupe « R3/R3 » n'expriment plus de préférence significative ($t_{25} = 0,41$; NS ; $n = 26$).

L'ANOVA met en évidence un effet traitement sur les scores de préférence pour la texture antérieurement associée à la nicotine ($F_{4,113} = 4,24$; $p < 0,005$). Les comparaisons 2 à 2 indiquent que les scores des rats « Veh/Veh », « Veh/R3 » et « R3/Veh » sont significativement différents de ceux des rats « saline contrôles » ($p_s < 0,01$) et des rats « R3/R3 » ($p_s < 0,05$) (Figure 1c de l'article).

Comme illustré par la Figure 3 de l'article, des régressions linéaires simples calculées sur le pourcentage des scores de préférence en fonction du délai entre la 1^{ère} et la 2^{ème} séance-test (1, 7, 14 ou 21 jours) indiquent que le temps passé par les rats sur la texture associée à la nicotine est significativement lié à la durée de l'intervalle de rétention, et ceci seulement chez les rats qui

ont reçu une seule injection de rimonabant avant la 2^{ème} séance-test (le groupe R3 de l'article 1 a été pris en compte pour l'intervalle de 1 jour, et les groupes « Veh/R3 » du présent article pour les autres intervalles) ($F_{1,67} = 9,04$; $r = +0,35$; $p < 0,004$).

Un tel effet n'est pas observé pour les autres groupes ayant reçu du rimonabant (« R3/Veh »: $F_{1,54} = 0,11$, $r = +0,05$; « R3/R3 »: $F_{1,56} = 0,99$, $r = -0,13$; *NS*).

Ainsi, la capacité de l'injection aiguë de rimonabant (3 mg/kg) à s'opposer à l'expression de la PPC induite par la nicotine disparaît progressivement au cours des 3 semaines qui suivent la phase d'acquisition.

Les données concernant les **distances parcourues** par les rats durant la 2^{ème} séance-test des 3 expériences sont présentées dans le Tableau 1 de l'article.

Chez les rats conditionnés à la nicotine, un effet global du traitement est observé au cours des expériences 1 ($F_{3,76} = 4,73$; $p < 0,005$) et 3 ($F_{3,98} = 10,53$; $p < 0,0001$). Les comparaisons 2 à 2 indiquent que cet effet est dû à une réduction de la distance parcourue par les rats qui ont reçu du rimonabant le jour du second test (de -30 à -40 %), quel que soit le traitement chronique antérieur. Dans l'expérience 2, les animaux qui ont reçu du rimonabant le jour du second test ont également présenté une diminution de la distance parcourue (-20 à -25%) mais cet effet n'atteint pas le seuil de signification statistique ($F_{3,44} = 1,49$; *NS*).

2. Effet du conditionnement à la nicotine, avec ou sans traitement chronique de 3 semaines par le rimonabant, sur la liaison du [³⁵S]GTP- γ -S induite par le WIN 55,212-2

Cette étude a été réalisée sur les rats des groupes « saline contrôle », « Veh/Veh » et « R3/R3 » de l'expérience 3.

Comme présenté sur la Figure 3a de l'article, le WIN 55,212-2 (1, 10 et 100 μ M) induit une augmentation de la liaison du [³⁵S]GTP- γ -S proportionnelle à la concentration dans la couche CA3 de l'hippocampe (CA3), le caudé-putamen latéral (CPu lat) et l'écorce du NAcc (Shell) et des résultats similaires ont été obtenus dans toutes les autres structures cérébrales examinées (non montré).

La plus forte stimulation induite par 100 μ M de WIN 55,212-2 est observée dans la couche CA3 de l'hippocampe, suivie, par ordre décroissant, de la couche CA1 de l'hippocampe (CA1), du gyrus denté (GD), du CPu lat, du cortex cingulaire (CxGg), du CPu médian (CPu med), du cœur (core) et de l'écorce (shell) du NAcc (Figure 3b de l'article). Cependant, les concentrations efficaces 50 (EC_{50}) ne diffèrent pas d'une structure à une autre.

Dans toutes ces régions, l'effet du WIN 55,212-2 peut être attribué à l'activation des récepteurs CB1 car il est totalement supprimé par le rimonabant (10 μ M).

Dans chaque région cérébrale considérée, les ANOVAs à deux facteurs avec mesures répétées pour le facteur concentration de WIN, indiquent un effet significatif du WIN 55,212-2 ($p_s < 0,0001$), mais pas d'effet nicotine et pas d'interaction.

Ainsi, après le conditionnement à la nicotine, les injections quotidiennes de 3 mg/kg de rimonabant (groupe « R3/R3 ») ou de son véhicule (groupe « Veh/Veh ») pendant 3 semaines ne modifient pas le couplage fonctionnel des récepteurs CB1 à leurs protéines G dans les structures étudiées.

C. Conclusions

Cette étude confirme et complète les données obtenues dans l'article 1.

Les résultats montrent que la capacité d'une injection aiguë unique de rimonabant à bloquer l'expression de la PPC induite par la nicotine est réduite lorsque la séance-test est réalisée 7 jours après le conditionnement, et est totalement abolie quand le test est réalisé 21 jours après (groupe « Veh/R3 »). La corrélation positive significative qui existe entre la durée de l'intervalle de rétention et les scores de préférence, indique que l'effet aigu du blocage des récepteurs CB1 disparaît progressivement au cours des 21 jours post-acquisition.

L'activation des récepteurs CB1 semble donc nécessaire à l'expression à court terme de la PPC induite par la nicotine, expression qui deviendrait progressivement indépendante de cette activation au cours du temps.

De façon intéressante, la capacité du blocage aigu des récepteurs CB1 au moment du test à s'opposer à l'expression de la PPC induite par la nicotine se maintient à long terme si les récepteurs CB1 sont bloqués de façon chronique pendant les 3 semaines post-acquisition

(groupe « R3/R3 », expérience 3). L'activation des récepteurs CB1 par les endocannabinoïdes semble donc nécessaire au développement des changements neuroadaptatifs responsables du passage progressif d'une expression CB1-dépendante vers une expression CB1-indépendante de la PPC induite par la nicotine.

Les rats des 2 groupes qui ont reçu une injection de rimonabant 30 min avant la 2^{ème} séance-test (groupes « Veh/R3 » et « R3/R3 ») présentent une réduction d'activité locomotrice, en accord avec les données de la littérature (Chaperon et coll. 1998; Singh et coll. 2004), mais quelle que soit l'expérience considérée, chez les rats du groupe « R3/Veh », les injections quotidiennes de rimonabant n'ont pas de répercussion sur la distance parcourue le jour de la séance-test.

En outre, même si ce n'était pas l'objet de cette étude, nous avons observé une atténuation significative du gain de poids des animaux ayant reçu les injections journalières de rimonabant pendant les 20 jours post-acquisition (R3 vs. Veh : $p < 0,005$), ce qui est cohérent avec les effets connus du blocage des récepteurs CB1 sur la consommation de nourriture et le poids (pour revue, voir Ravinet Trillou et coll. 2003).

Ces résultats seront plus amplement discutés dans le chapitre « Discussion Générale ».

IV. Études biochimiques complémentaires aux Articles 1 et 2

A. Introduction

Comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, le conditionnement à la nicotine suivi ou non d'un traitement chronique de 3 semaines par le rimonabant ne modifie pas le couplage des récepteurs CB1 à leurs protéines G dans les diverses aires cérébrales étudiées.

De nombreuses données de la littérature indiquent qu'il existe des relations fonctionnelles entre les récepteurs cannabinoïdiques CB1 et dopaminergiques D2, notamment au niveau du striatum (Meschler et Howlett 2001; Centonze et coll. 2004; Houchi et coll. 2005; Kearn et coll. 2005).

Nous avons donc évalué les répercussions du conditionnement à la nicotine sur le degré de couplage des récepteurs CB1 et D2 à leurs protéines G [par étude de la liaison du [³⁵S]GTP- γ -S induite respectivement par le WIN 55,212-2 et la (-)N-n-propylnorapomorphine (NPA)], ainsi que sur la densité des récepteurs CB1 (par la mesure de la liaison du [³H]-rimonabant) dans des structures potentiellement impliquées dans le comportement de PPC (expériences 1, 2 et 3).

Nous avons également recherché si l'administration de rimonabant avant les séances de conditionnement avec « nicotine » (qui bloque l'acquisition de la PPC induite par la nicotine, cf. Article 1) modifiait la fonctionnalité des récepteurs CB1, évaluée 48 h après la phase de conditionnement (expérience 4).

B. Résultats

1. Effet du conditionnement à la nicotine sur la fonctionnalité des récepteurs CB1 évaluée par mesure de la liaison du [³⁵S]GTP-γ-S induite par le WIN 55,212-2

Dans cette expérience, 12 rats ont été conditionnés à la nicotine (groupe « Nicotine ») et 8 rats contrôles ont été conditionnés à la solution saline (groupe « Phy »). Ils ont été soumis, sans injection supplémentaire, à la séance-test 24 h après la dernière séance de conditionnement.

Cinq rats de chacun des 2 groupes ont ensuite été tirés au sort, leur cerveau a été prélevé 24 h après la séance-test et les coupes ont été préparées (comme indiqué dans le chapitre « matériels et méthodes ») au niveau du cortex préfrontal médian (CxPFm), du striatum (coupes comprenant le caudé putamen, le NAcc et le cortex cingulaire), du globus pallidus (GP), de l'hippocampe, de l'amygdale et de la substance noire réticulée (SNr).

Nous avons ensuite évalué la liaison spécifique du [³⁵S]GTP-γ-S induite par des concentrations croissantes de WIN 55,212-2. Sur la base d'une expérience préliminaire indiquant que la stimulation maximale par le WIN 55,212-2 était atteinte avec la concentration de 10 μM dans la SNr et le GP et avec 100 μM dans les autres structures, la présente étude a été réalisée avec la gamme de concentrations 0,1 - 1 - 10 μM pour la SNr et le GP, et 1 - 10 - 100 μM pour les autres structures,

Les résultats sont exprimés en pourcentage de stimulation par rapport à la liaison non spécifique (coupes adjacentes auxquelles on a ajouté 10 μM de rimonabant froid) selon la formule indiquée dans les « matériels et méthodes ».

Lors de la séance-test, les rats du groupe « Nicotine » ont passé 717 ± 32 s sur la texture antérieurement associée à la nicotine, score significativement supérieur à l'indifférence ($t_{11} = 3,69$; $p = 0,01$). Les scores des rats « Phy » ne sont pas différents de 600 s ($t_7 = 0,34$; *NS*).

Ainsi que le montre la Figure 3.3, le WIN 55,212-2 induit une augmentation de la liaison du [³⁵S]GTP-γ-S proportionnelle à la concentration dans toutes les structures considérées. De façon attendue, l'amplitude de la stimulation est proportionnelle à la densité connue des récepteurs CB1 dans ces différentes structures (voir e.g. Herkenham et coll. 1991), soit, par ordre décroissant de stimulation : GP, SNr, couches CA1, CA3 et gyrus denté (GD) de l'hippocampe, CPu lat, cortex cingulaire (CxCg), CPu med, amygdale, et enfin cœur (core) et écorce (shell) du NAcc.

Les images autoradiographiques de coupes au niveau des différentes structures cérébrales, dans les conditions « non spécifique » et « stimulé » par la plus forte concentration de WIN 55,212-2, sont présentées dans la Figure 3.4.

Dans toutes les régions, l'effet du WIN 55,212-2 peut être attribué à l'activation des récepteurs CB1 car il est totalement prévenu par le rimonabant (10 μ M).

Dans chaque région cérébrale considérée, les ANOVAs à deux facteurs, avec mesures répétées pour le facteur concentration de WIN 55,212-2, indiquent un effet significatif du WIN 55,212-2 ($p_s < 0,0001$), mais pas d'effet nicotine et pas d'interaction.

Ainsi, mesuré 48 h après la dernière séance de conditionnement, le couplage fonctionnel des récepteurs CB1 à leurs protéines G n'est pas modifié de façon significative par le conditionnement préalable à la nicotine, quelle que soit la structure cérébrale considérée. Cependant, une légère réduction (non significative) du couplage des récepteurs CB1 à leurs protéines G est observée dans le CPu et le shell du NAcc après conditionnement à la nicotine ; nous allons donc par la suite approfondir l'étude biochimique des récepteurs CB1 dans ces structures.

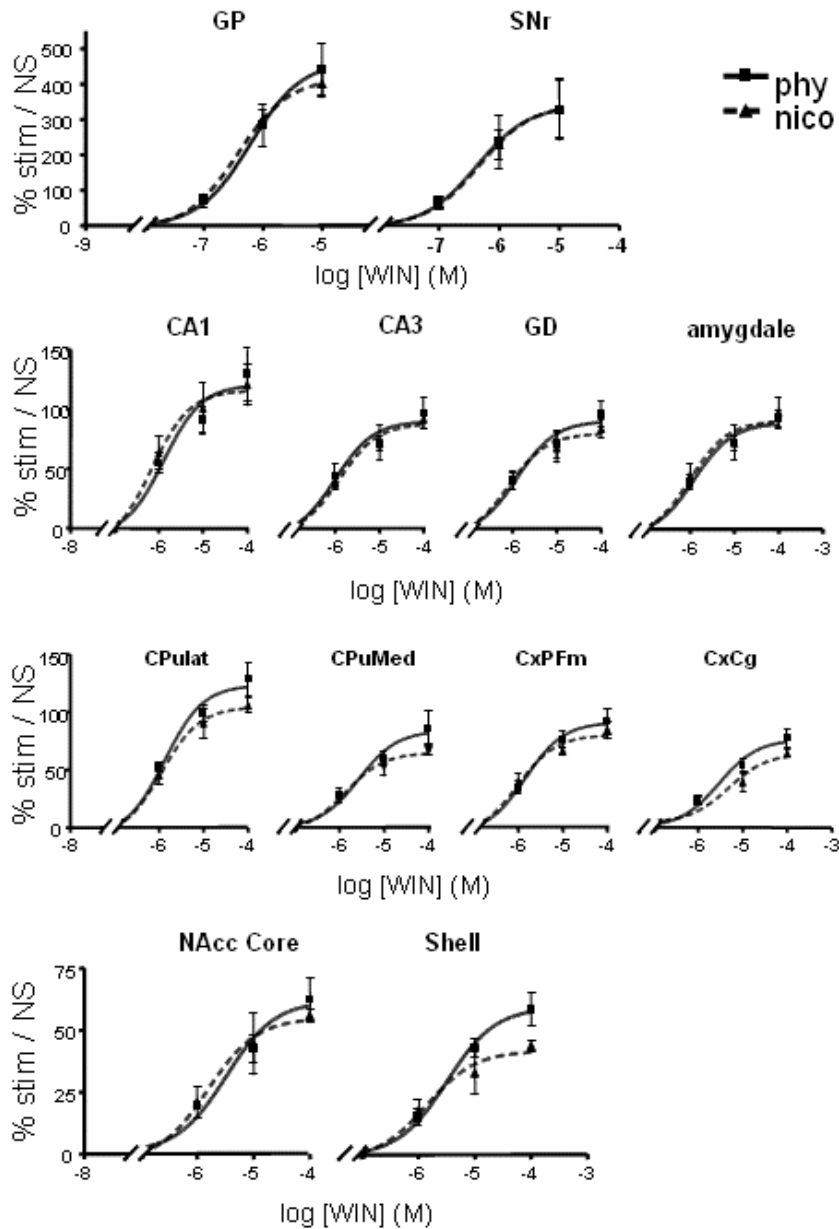


Fig. 3.3: Liaison spécifique du [35 S]GTP- γ -S induite par des concentrations croissantes de WIN 55,212-2 dans le globus pallidus (GP), la substance noire réticulée (SNr), les couches CA1, CA3 et le gyrus denté de l'hippocampe (CA1, CA3 et GD), le caudé putamen latéral et médian (CPU lat et med), le cortex préfrontal médian (Cx PFm), le cortex cingulaire (CxCg), et le cœur et l'écorce du noyau accumbens (NAcc Core et Shell) chez des rats conditionnés à la nicotine (nico, lignes pointillées) ou à la solution saline (phy, lignes pleines) (n=5 par groupe). Les résultats sont exprimés en % de stimulation par rapport au marquage non spécifique (avec 10 μ M de rimonabant froid) (cf. formule dans les « Matériels et Méthodes »).

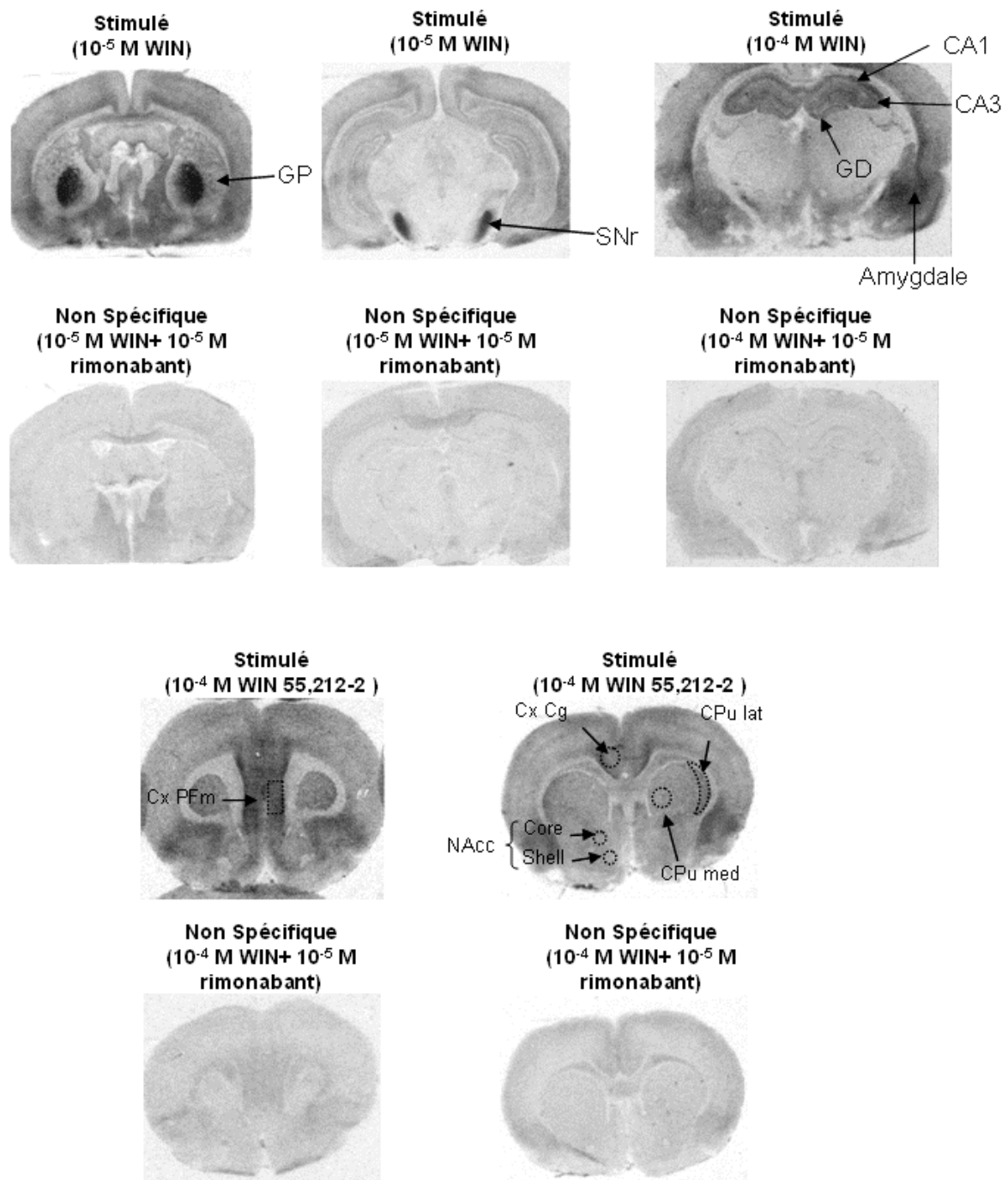


Fig. 3.4: Exemples d’images autoradiographiques de coupes de cerveaux montrant la liaison du [³⁵S]GTP-γ-S aux récepteurs CB1 stimulée par le WIN-55,212-2 (WIN) avec (“Non Spécifique”) ou sans (“Stimulé”) rimonabant à 10⁻⁵ M, aux différents niveaux étudiés.

GP : globus pallidus, SNr : substance noire réticulée, couches CA1 (CA1) et CA3 (CA3) de l’hippocampe, GD : gyrus denté, Cx PFm : cortex préfrontal médian, Cx Cg : cortex cingulaire, NAcc core (Core) et shell (Shell), CPU lat et med : caudé putamen latéral et médian.

2. Effet du conditionnement à la nicotine sur la liaison du [³H]-rimonabant

Les résultats précédents montrent une légère réduction (non significative) du couplage des récepteurs CB1 à leurs protéines G dans le CPu et le shell du NAcc, consécutive au conditionnement à la nicotine (Figure 3.3). Il nous a donc paru nécessaire d'affiner ces résultats par la mesure de la densité des récepteurs CB1 dans ces structures, ainsi que dans les structures présentes sur les mêmes coupes.

Dans cette expérience, 12 rats ont été conditionnés à la nicotine (groupe « Nicotine ») et 6 rats contrôles ont été conditionnés à la solution saline (groupe « Phy »). Une séance-test a été réalisée, sans injection, 24 h après la dernière séance de conditionnement. Six rats du groupe « Nicotine » ont ensuite été tirés au sort, leur cerveau ainsi que celui des 6 rats du groupe « Phy » ont été prélevés 24 h après la séance test, congelés, puis découpés au niveau du striatum (coupes comprenant le caudé putamen et le NAcc).

La liaison du [³H]-rimonabant a été réalisée comme indiqué dans le chapitre « matériels et méthodes ». La quantification de la liaison spécifique de concentrations croissantes de [³H]-rimonabant (0,5 - 1,5 - 3 nM) a été effectuée au niveau de plusieurs structures : le CxPFm, le core et le shell du NAcc, le CPu lat et med et le CxCg.

Lors de la séance-test réalisée 24 h après la phase de conditionnement, les rats « Nicotine » ont présenté un score de préférence significatif pour la texture antérieurement associée à la nicotine (760 ± 32 s ; vs. 600 s : $t_{11} = 4,93$; $p < 0,001$). Les scores des rats « Phy » ne sont pas différents de 600 s ($t_5 = 1,15$; *NS*).

Les résultats sont présentés dans la Figure 3.5. Dans chacune des structures cérébrales considérées, les ANOVAs à deux facteurs avec mesures répétées pour le facteur concentration de [³H]-rimonabant, indiquent un effet concentration de [³H]-rimonabant ($p_s < 0.0001$), mais pas d'effet nicotine et pas d'interaction.

Le conditionnement à la nicotine ne modifie donc pas significativement le nombre de récepteurs CB1 dans les structures étudiées.

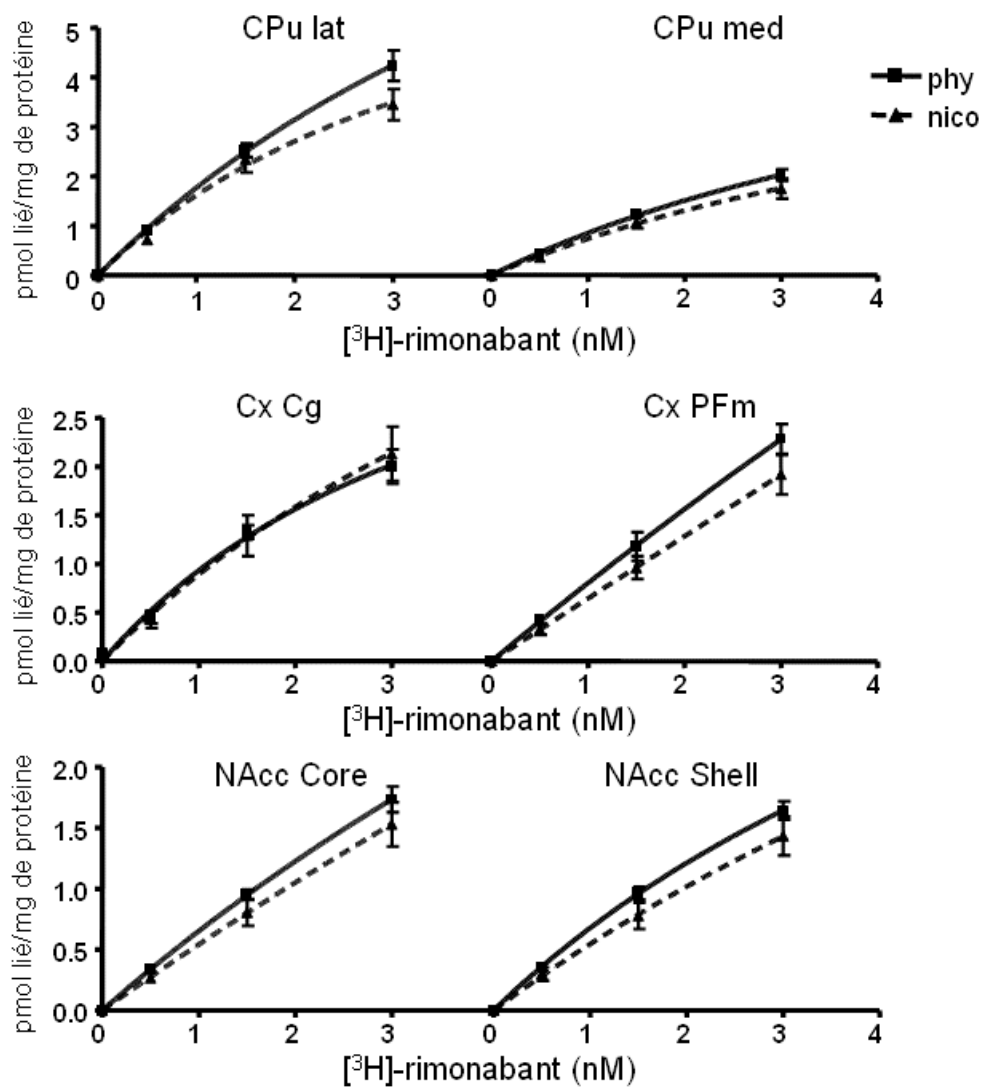


Fig. 3.5: Liaison spécifique du $[^3\text{H}]$ -rimonabant (en pmol lié/mg de protéine) en fonction des concentrations de $[^3\text{H}]$ -rimonabant (en nM) dans le caudé putamen latéral et médian (CPu lat et med), le cortex cingulaire (Cx Cg), le cortex préfrontal médian (Cx PFm) et le cœur et l'écorce du noyau accumbens (NAcc Core et Shell) chez des rats conditionnés à la nicotine (nico, lignes pointillées) ou à la solution saline (phy, lignes pleines) (n=5 par groupe).

3. Effet du conditionnement à la nicotine sur la fonctionnalité des récepteurs dopaminergiques D2 évaluée par la mesure de la liaison du [³⁵S]GTP-γ-S induite par la N-n-propylnorapomorphine

Cette étude a été menée sur les mêmes rats que la précédente, conditionnés (groupe « Nicotine »), ou non (groupe « Phy »), à la nicotine (0,06 mg/kg) et soumis à une séance-test 24 h après la dernière séance de conditionnement.

Des coupes de cerveau adjacentes à celles utilisées dans l'étude précédente ont été utilisées pour évaluer la liaison spécifique du [³⁵S]GTP-γ-S induite par des concentrations croissantes d'un agoniste sélectif des récepteurs dopaminergiques D2, la (-)N-n-propylnorapomorphine (NPA). Les concentrations de NPA utilisées (0,1 - 1 - 10 μM) ont été choisies sur la base d'une étude préliminaire indiquant que le plateau était atteint à 10 μM.

Les résultats sont exprimés en pourcentage de stimulation par rapport à la liaison basale (coupes adjacentes sans NPA), selon la formule indiquée dans le chapitre « matériels et méthodes ».

Dans toutes les structures considérées, la NPA a induit une augmentation de la liaison du [³⁵S]GTP-γ-S proportionnelle à la concentration (Figure 3.6A). Les plus fortes stimulations sont observées, par ordre décroissant, dans le CPu lat, le CPu med, le core et le shell du NAcc.

Dans toutes ces régions, l'effet de la NPA peut être attribué à l'activation des récepteurs D2 car cette molécule est très spécifique de ces récepteurs (Baldessarini et coll. 1991; Kilts et coll. 2002). De plus, nous avons vérifié que la stimulation induite par la NPA était bien prévenue par 100 μM de raclopride, antagoniste des récepteurs D2/D3 (Figure 3.6B).

Dans chaque région cérébrale considérée, les ANOVAs à deux facteurs, avec mesures répétées pour le facteur concentration de NPA, indiquent un effet NPA significatif ($p_s < 0,0001$), mais pas d'effet nicotine et pas d'interaction.

Ainsi, le conditionnement à la nicotine ne modifie pas le couplage fonctionnel des récepteurs dopaminergiques D2 à leurs protéines G évalué 48 h après la dernière séance de conditionnement, dans les structures cérébrales considérées.

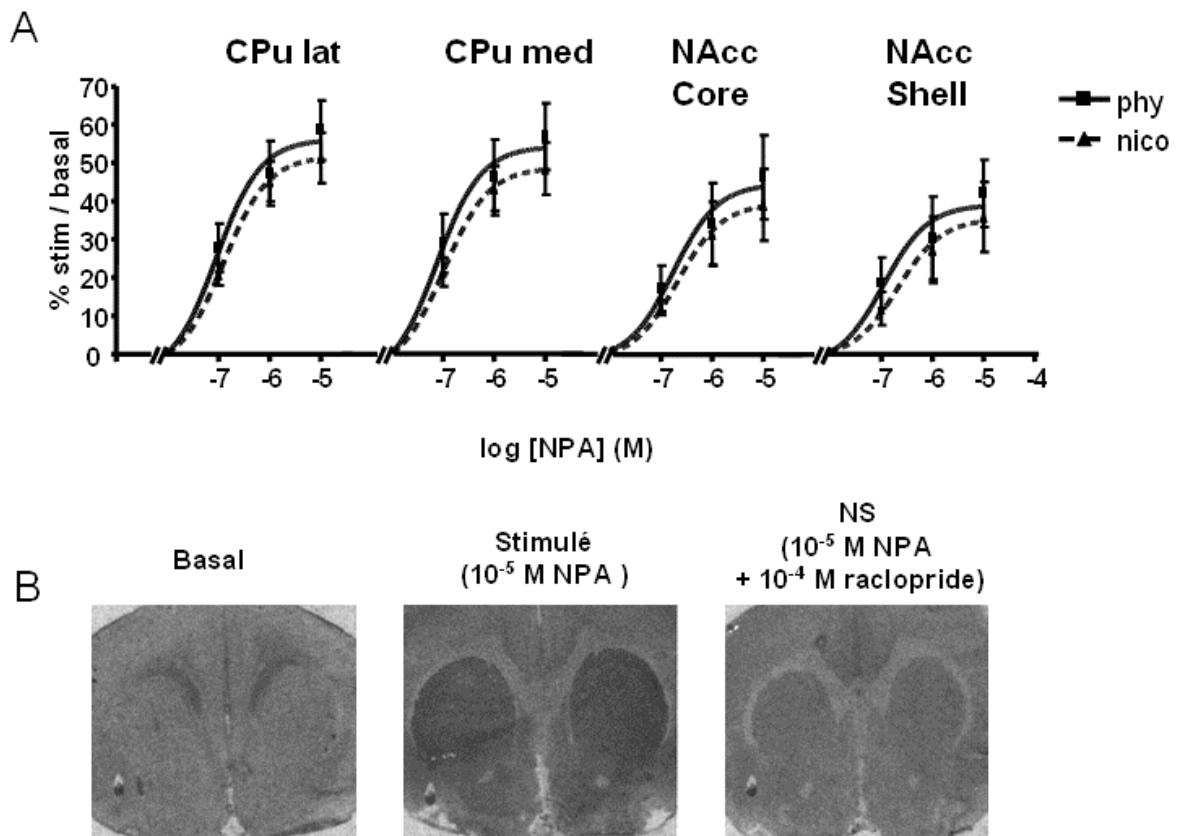


Fig. 3.6: A: Liaison spécifique du [^{35}S]GTP- γ -S induite par des concentrations croissantes de NPA dans le noyau caudé putamen latéral et médian (CPu lat et CPu med), et le cœur et l'écorce du noyau accumbens (Core et Shell) chez des rats conditionnés à la nicotine (nico, lignes pointillées) ou à la solution saline (phy, lignes pleines) ($n=5$ par groupe). Les résultats sont exprimés en % de stimulation par rapport au marquage basal (en l'absence de NPA) (formule dans les « matériels et méthodes »).

B: Images autoradiographiques de coupes « basal », « stimulé » et « non spécifique » (NS) du groupe « phy ».

4. Effets du conditionnement à la nicotine avec ou sans rimonabant sur la fonctionnalité des récepteurs CB1 et D2

a) Liaison du [35 S]GTP- γ -S induite par le WIN 55,212-2

Pour cette expérience, 12 rats ont été conditionnés à la nicotine (phy, H-30 min et nicotine 0,06 mg/kg, H0) (groupe « Phy/Nico ») ; 8 rats ont été conditionnés à la nicotine en présence de rimonabant (rimonabant 3 mg/kg, H-30 min et nicotine 0,06 mg/kg, H0) (groupe « R3/Nico »), et 8 rats contrôles ont été conditionnés à la solution saline (phy, H-30 min et phy, H0) (groupe « Phy/Veh »). Une séance-test unique a été réalisée 24 h après la dernière séance de conditionnement, sans injection supplémentaire.

Six rats ont été tirés au sort dans chacun des 3 groupes, et les cerveaux extraits 24 h après le test, soit 48 h après la dernière séance de conditionnement.

Les coupes de cerveau ont été préparées au niveau du striatum (coupes comprenant le CPU lat et med, le core et le shell du NAcc et le cortex cingulaire) et la liaison spécifique du [35 S]GTP- γ -S induite par le WIN 55,212-2 (100 μ M) a été mesurée comme indiqué dans le chapitre « matériels et méthodes ».

Lors de la séance-test réalisée 24 h après la dernière séance de conditionnement, les rats « Phy/Nico » ont passé 744 ± 49 s sur la texture « nicotine », score significativement supérieur à 600 s ($t_{11} = 2,95$; $p = 0,01$). Les rats des groupes « R3/Nico » et « Phy/Veh » ont passé respectivement 504 ± 110 s et 608 ± 61 s sur cette même texture, scores non différents de 600 s.

Comme présenté dans la Figure 3.7, le WIN 55,212-2 (100 μ M, dose entraînant une stimulation maximale, cf expérience 1) induit une augmentation de la liaison du [35 S]GTP- γ -S dans toutes les structures étudiées. Cet effet peut être attribué à l'activation des récepteurs CB1 par le WIN 55,212-2 car il est totalement prévenu par le rimonabant (10 μ M).

Dans chaque région cérébrale considérée, les ANOVAs indiquent qu'il n'y a pas d'effet du traitement.

Ainsi, le conditionnement à la nicotine avec ou sans rimonabant (3 mg/kg) ne modifie pas le couplage fonctionnel des récepteurs CB1 à leurs protéines G, examiné 48 h après le conditionnement, dans les structures étudiées.

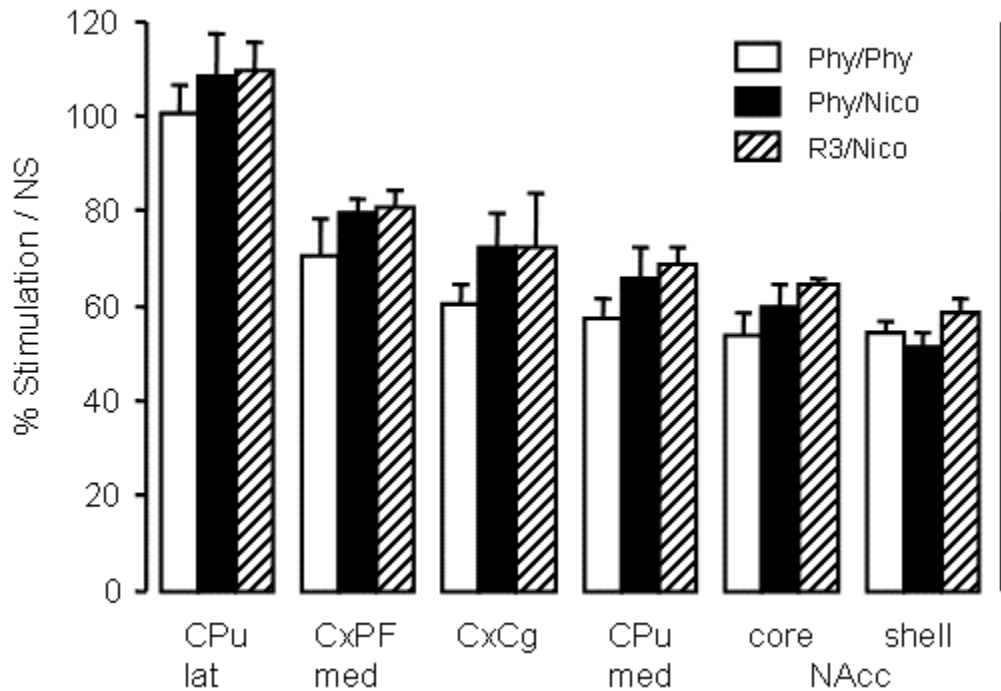


Figure 3.7 – Augmentation par le WIN 55,212-2 (100 μ M), agoniste des récepteurs cannabinoïdes, de la liaison spécifique du [35 S]GTP- γ S dans différentes structures cérébrales de rats préalablement soumis à la procédure de conditionnement de place.

Les rats ($n = 6$ /groupe) ont été conditionnés à la nicotine (0,06 mg/kg), avec (« R3/Nico ») ou sans (« Phy/Nico ») injection préalable de rimonabant (3 mg/kg), ou conditionnés à la solution saline (« Phy/Phy »).

Les résultats sont exprimés en % de stimulation par rapport au marquage non spécifique (NS, en présence de 100 μ M de WIN et de 10 μ M de rimonabant froid).

CPu lat et med : Caudé-Putamen latéral et médian ; CxCg : Cortex cingulaire ; CxPF med : Cortex préfrontal médian ; NAcc : Noyau Accumbens

b) Liaison du [35 S]GTP- γ -S induite par la NPA

Pour cette expérience, des coupes adjacentes provenant des mêmes rats (« Phy/Nico », « R3/Nico » et « Phy/Veh ») que pour l'étude précédente ont été utilisées et la liaison spécifique du [35 S]GTP- γ -S induite par la NPA (10 μ M) a été mesurée comme indiqué dans le chapitre « Matériels et Méthodes ».

Les résultats présentés sur la Figure 3.8 montrent que la NPA (10 μ M) induit une augmentation de la liaison du [35 S]GTP- γ -S dans toutes les structures étudiées. Cet effet peut être attribué à l'activation des récepteurs D2 car (1) la NPA est hautement sélective de ce récepteur et (2) il est

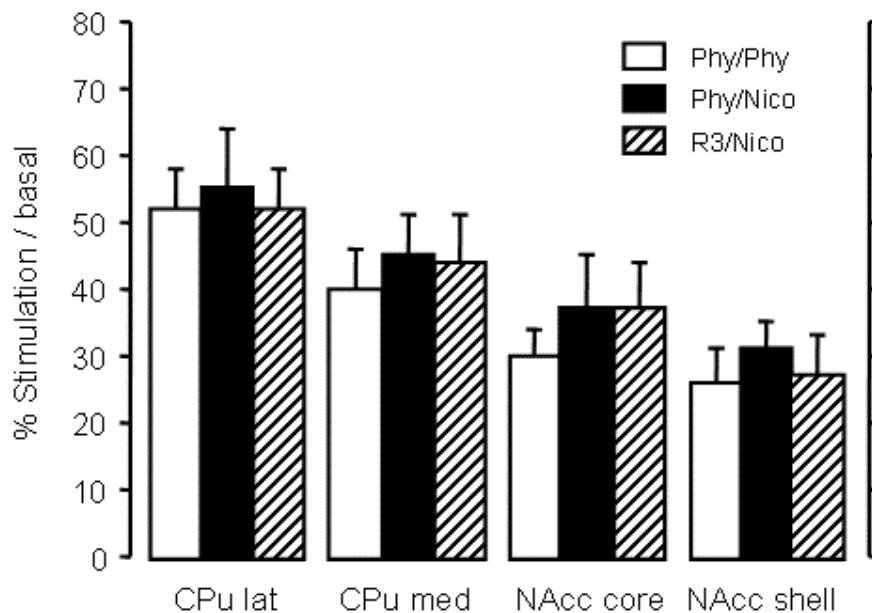


Figure 3.8 – Augmentation par la N-propyl-norapomorphine (NPA, 10 μ M), agoniste des récepteurs dopaminergiques D2, de la liaison spécifique du [35 S]GTP- γ -S dans différentes structures cérébrales de rats préalablement soumis à la procédure de conditionnement de place.

Les rats ($n = 6$ /groupe) ont été conditionnés à la nicotine (0,06 mg/kg), avec (« R3/Nico ») ou sans (« Phy/Nico ») injection préalable de rimonabant (3 mg/kg), ou conditionnés à la solution saline (« Phy/Phy »).

Les résultats sont exprimés en % de stimulation par rapport au marquage basal (en absence de NPA).

CPu lat et med : Caudé-Putamen latéral et médian ; NAcc : Noyau Accumbens

totalemment prévenu par 100 μ M de raclopride, antagoniste des récepteurs D2/D3. En revanche, les ANOVAs indiquent que, quelle que soit la région cérébrale considérée, il n'y a pas d'effet du conditionnement antérieur à la nicotine.

Ainsi, le conditionnement à la nicotine, avec ou sans rimonabant (3 mg/kg), ne modifie pas le couplage fonctionnel des récepteurs D2 à leurs protéines G évalué 48 h après le conditionnement, dans les structures étudiées.

C. Conclusion

Le conditionnement à la nicotine (plus 3 injections de nicotine la semaine précédente) ne modifie pas le couplage fonctionnel des récepteurs CB1 et D2 à leurs protéines G ou la densité des récepteurs CB1, tels qu'on peut les évaluer 48 h après la dernière séance de conditionnement, soit 72 heures après la dernière injection de nicotine.

De plus, le rimonabant administré avant chaque séance de conditionnement « avec nicotine » n'affecte pas la fonctionnalité des récepteurs CB1 et D2 dans les mêmes structures.

V. Implication des récepteurs α 1-adrénergiques dans les effets appétitifs de la nicotine

Article 3

Benoît Forget, Michel Hamon, Marie-Hélène Thiébot
Implication des récepteurs α 1-adrénergiques dans les effets
appétitifs de la nicotine
(*En préparation*)

A. Introduction

La nicotine partage avec les autres drogues d'abus la propriété d'activer le système dopaminergique mésolimbique (pour revue, voir Di Chiara 2000), ce qui est considéré comme essentiel aux effets appétitifs de ces substances. Cependant, dans ce cadre, diverses données mettent également l'accent sur le système noradrénergique.

En effet, comme les autres psychostimulants, la nicotine active la libération de noradrénaline (NA), en particulier dans le cortex, l'hypothalamus, l'hippocampe et l'amygdale (Sharp et Matta 1993; Summers et Giacobini 1995; Fu et coll. 1998). Il a été montré que les voies noradrénergiques constituent un substratum de l'auto-stimulation et que la modulation de ce système (par des composés qui interfèrent avec la synthèse de NA ou des ligands de ses récepteurs) modifie certains des effets des drogues toxicomanogènes (pour revue, voir Weinshenker et Schroeder 2006).

Le système noradrénergique est composé de 2 voies de projections principales : le faisceau dorsal, qui prend son origine dans le LC et projette dans l'hippocampe, le cervelet et le cerveau antérieur (forebrain), et le faisceau ventral qui provient de plusieurs noyaux du pont et de la moelle, et projette dans l'hypothalamus, l'amygdale et le mésencéphale (midbrain) (pour revue, voir Moore et Bloom 1979). Il existe 3 sous-classes de récepteurs adrénérgiques (α 1, α 2 et β), qui comprennent chacune 3 sous-types connus (respectivement α 1A, α 1B et α 1D ; α 2A/D, α 2B et α 2C ; β 1, β 2 et β 3).

Les récepteurs adrénérgiques $\alpha 1$ ($\alpha 1$ -A) semblent particulièrement impliqués dans certains effets des drogues d'abus. Ainsi, un antagoniste de ces récepteurs, la prazosine, inhibe l'augmentation de libération de la DA et l'activation locomotrice induites par l'amphétamine et la morphine chez la souris (Auclair et coll. 2004) et des résultats similaires ont été obtenus chez des souris dépourvues du récepteur $\alpha 1B$ -A (Auclair et coll. 2002; Drouin et coll. 2002). De plus, la prazosine bloque l'acquisition et l'expression de la PPC induite par la morphine chez la souris et la sensibilisation comportementale induite par la cocaïne chez le rat (Zarrindast et coll. 2002; Jimenez-Rivera et coll. 2006).

Le système noradrénergique semble également impliqué dans les effets appétitifs de la nicotine, car, chez le rat, une augmentation des taux de NA dans l'amygdale et l'hypothalamus a été corrélée à l'intensité de l'auto-administration de nicotine (Fu et coll. 2001, 2003). Cependant, aucune étude ne s'est directement intéressée à l'implication de la NA ou de ses récepteurs dans les effets motivationnels de la nicotine.

Le but de cette étude a donc été d'évaluer l'implication des récepteurs $\alpha 1$ -A dans les effets renforçants de la nicotine dans la procédure de PPC, en utilisant la prazosine comme outil pharmacologique.

B. Résultats

1. Effet de la prazosine sur l'acquisition de la PPC induite par la nicotine

La procédure de conditionnement suit celle décrite dans le chapitre « Matériels et Méthodes » (page 103). Les rats ne reçoivent pas d'injection avant la séance-test unique réalisée 24 h après la dernière séance de conditionnement.

Le protocole des administrations et les effectifs des 4 groupes expérimentaux sont indiqués dans le Tableau 3.6.

Les résultats sont illustrés dans la Figure 1 de l'article. Lors de la séance test réalisée en l'absence de drogue, 24 h après la dernière séance de conditionnement, les rats « Prz0,0/Nic0,06 » ont passé 850 ± 41 s sur la texture « nicotine », score significativement

supérieur à l'indifférence ($t_{19} = 6,13$; $p < 0,0001$). En revanche, les scores des 3 autres groupes ne sont pas différents de 600 s.

Tableau 3.6 – Protocole des traitements administrés pendant la phase de conditionnement.

Groupes	n	Traitements au cours du conditionnement		
		Séances impaires		Séances paires (pour tous les groupes)
		IP, H-30min	SC, H 0min	
« Prz0,0/Nic0,00 »	16	Sérum phy	Solvant	Sérum phy, IP, H-30min + Sérum phy, SC, H 0min
« Prz0,5/Nic0,00 »	12	Prazosine 0,5 mg/kg	Solvant	
« Prz0,0/Nic0,06 »	20	Sérum phy	Nicotine 0,06 mg/kg	
« Prz0,5/Nic0,06 »	20	Prazosine 0,5 mg/kg	Nicotine 0,06 mg/kg	

L'ANOVA indique un effet global du traitement ($F_{3,64} = 8,76$; $p < 0,0001$). Les comparaisons 2 à 2 révèlent que les performances des rats « Prz0,0/Nic0,06 » sont significativement différentes de celles des rats « Prz0,5/Nic0,06 » et « Prz0,0/Nic0,00 » (respectivement $p < 0,0001$ et $p = 0,0003$) et que les scores des rats « Prz0,5/Nic0,00 » ne sont pas significativement différents de ceux des rats « Prz0,0/Nic0,00 ».

Ces résultats indiquent que la PPC induite par la nicotine (0,06 mg/kg) est totalement prévenue par l'administration préalable de prazosine à la dose de 0,5 mg/kg qui n'a pas d'effet motivationnel propre.

Le Tableau 1 de l'article donne l'activité locomotrice enregistrée pendant les 4 séances de conditionnement « avec nicotine ». L'ANOVA à 2 facteurs, avec mesures répétées pour le facteur rang des injections, indique un effet traitement [$F_{3,64} = 14,41$; $p < 0,0001$], un effet rang d'injection [$F_{3,192} = 19,02$; $p < 0,0001$], mais pas d'interaction [$F_{9,192} = 1,52$; *NS*]. Les résultats des ANOVAs réalisées indépendamment à chaque séance sont rapportés au bas du Tableau 1 de l'article. Les comparaisons 2 à 2 indiquent que, globalement, la nicotine augmente l'activité locomotrice des rats et que cet effet est annulé par la prazosine, qui n'a pas d'effet moteur à la dose utilisée ici

2. Effet de la prazosine sur l'expression à court terme de la PPC induite par la nicotine

Pendant le conditionnement, les rats de tous les groupes ont reçu la nicotine (0,06 mg/kg, SC), ou son solvant pour le groupe contrôle, immédiatement avant les séances « impaires », et la solution saline avant les séances « paires ».

La prazosine (0,5 mg/kg, IP), ou la solution saline pour les groupes associés, a été administrée 30 min avant la seule séance-test réalisée 24 h après la dernière séance de conditionnement.

Les traitements et les effectifs des 3 groupes expérimentaux sont résumés dans le Tableau 3.7.

Tableau 3.7 – Protocole des traitements administrés aux rats pendant la phase de conditionnement et avant la séance-test réalisée 24 heures après.

Groupes	n	Traitements		
		Conditionnement (SC, H 0min)		Séance-test à 24 heures
		Séances impaires	Séances paires	(IP, H-30min)
« Prz0,0/Nic0,00 »	8	Solvant	Sérum phy (pour tous les groupes)	Sérum phy
« Prz0,0/Nic0,06 »	20	Nicotine 0,06 mg/kg	Sérum phy (pour tous les groupes)	Sérum phy
« Prz0,5/Nic0,06 »	20	Nicotine 0,06 mg/kg		Prazosine 0,5 mg/kg

Les résultats sont donnés dans la Figure 2A de l'article. Les rats « Prz0,0/Nic0,06 » ont passé 857 ± 50 s sur la texture « nicotine », score significativement supérieur à l'indifférence ($t_{19} = 5,14$; $p < 0,0001$). En revanche, les scores des 2 autres groupes ne diffèrent pas significativement de 600 s.

L'ANOVA indique un effet global du traitement ($F_{2,45} = 4,47$; $p < 0,02$). Les comparaisons 2 à 2 révèlent que les performances des rats « Prz0,0/Nic0,06 » sont significativement différentes de celles des rats « Prz0,5/Nic0,06 » et « Prz0,0/Nic0,00 » (respectivement, $p < 0,01$ et $p < 0,05$).

Ces résultats indiquent donc que l'expression à court terme (24 h après le conditionnement) de la PPC induite par la nicotine (0,06 mg/kg) est annulée par la prazosine (0,5 mg/kg) administrée avant la seule séance-test.

La distance parcourue par les rats pendant la séance-test n'est pas modifiée significativement par l'injection préalable de prazosine ($F_{2,45} = 0,36$; *NS*).

3. Effet de la prazosine sur l'expression à long terme de la PPC induite par la nicotine

Pendant le conditionnement, les rats de tous les groupes ont reçu la nicotine (0,06 mg/kg, SC), ou son solvant pour le groupe contrôle, immédiatement avant les séances « impaires », et la solution saline avant les séances « paires ». Un « probe-test » a été effectué 24 h après la dernière séance de conditionnement et les rats « nicotine » ont été répartis en 2 groupes équilibrés en fonction de leur score.

Une seule injection de prazosine (0,5 mg/kg, IP), ou de solution saline pour les groupes associés, a été administrée 30 min avant la séance-test réalisée 21 jours après le « probe-test ».

Les traitements et les effectifs des 3 groupes expérimentaux sont résumés dans le Tableau 3.8.

Tableau 3.8 - Protocole des traitements administrés pendant la phase de conditionnement et avant la séance-test réalisée 3 semaines après.

Groupes	n	Traitements		
		Conditionnement (SC, H 0min)		Séance-test à 21 jours (IP, H-30min)
		Séances impaires	Séances paires	
« Prz0,0/Nic0,00 »	6	Solvant	Sérum phy (pour tous les groupes)	Sérum phy
« Prz0,0/Nic0,06 »	10	Nicotine 0,06 mg/kg		Sérum phy
« Prz0,5/Nic0,06 »	10	Nicotine 0,06 mg/kg		Prazosine 0,5 mg/kg

Les rats ne reçoivent pas d'injection avant le « probe-test » qui est effectué 24 heures après la dernière séance de conditionnement. Ils ne reçoivent pas d'injection supplémentaire de nicotine et ne sont pas confrontés au dispositif expérimental pendant les 3 semaines qui séparent les 2 tests.

Lors du « probe-test », les rats conditionnés à la nicotine ont passé 902 ± 34 s sur la texture « nicotine » (vs. 600 s : $t_{19} = 8,77$; $p < 0,0001$).

Les résultats enregistrés pendant la 2^{ème} séance-test sont illustrés sur la Figure 2B de l'article. Pendant cette séance-test réalisée 21 jours après le « probe-test », les rats des groupes « Prz0,0/Nic0,06 » et « Prz0,5/Nic0,06 » ont passé respectivement 820 ± 40 s et 873 ± 58 s sur la texture « nicotine ». Ces scores, significativement supérieurs à 600 s ($t_9 = 5,57$; $p < 0,0005$ et $t_9 = 4,74$; $p = 0,001$), indiquent que les rats des 2 groupes expriment une préférence conditionnée pour la texture antérieurement associée à la nicotine.

L'ANOVA indique un effet traitement global ($F_{2,23} = 4,17$; $p < 0,05$). Les comparaisons 2 à 2 révèlent que les performances des rats des groupes « Prz0,0/Nic0,06 » et « Prz0,5/Nic0,06 » sont significativement différentes de celles des rats contrôles « Prz0,0/Nic0,00 » (respectivement, $p < 0,05$ et $p < 0,01$) et ne diffèrent pas entre elles ($p = 0,49$).

Ces résultats montrent que la PPC induite par la nicotine (0,06 mg/kg) est toujours présente 3 semaines après le conditionnement, comme nous l'avons déjà observé dans les études précédentes (Articles 1 et 2), et que, à la différence de ce qui est observé à 24 h, la prazosine (0,5 mg/kg) n'est plus capable de s'opposer à l'expression à long terme du conditionnement de place.

La prazosine administrée avant la 2^{ème} séance-test n'a pas d'effet sur la distance parcourue par les rats ($F_{2,23} = 0,04$; *NS*).

C. Conclusion

Cette étude est la première qui évalue les conséquences du blocage des récepteurs $\alpha 1$ -A par la prazosine sur les effets appétitifs de la nicotine.

Nous montrons que la prazosine (0,5 mg/kg) s'oppose à la fois à l'acquisition et à l'expression à court terme (24 h) de la PPC induite par la nicotine (0,06 mg/kg). En accord avec des données obtenues chez la souris (Zarrindast et coll. 2002), cette dose de prazosine n'a pas d'effet

motivationnel par elle-même. Son action sur l'acquisition de la PPC induite par la nicotine ne peut donc pas être attribuée à un effet aversif.

Ces résultats indiquent que l'activation des récepteurs $\alpha 1$ -A par la NA est nécessaire à la perception par les rats des effets « plaisants » de la nicotine et, à court terme, des stimuli environnementaux qui lui ont été associés. Cependant, la prazosine à la même dose ne modifie pas la capacité de ces stimuli environnementaux à évoquer les effets plaisants de la nicotine à plus long terme (3 semaines après la phase de conditionnement). Il semble donc que des mécanismes différents soient impliqués dans l'expression à court et à long terme de la PPC induite par la nicotine, et qu'une composante indépendante des récepteurs $\alpha 1$ -A puisse se mettre en place avec le passage du temps.

Nous avons aussi montré que, à cette dose qui n'a pas effet moteur propre, la prazosine s'oppose à l'augmentation d'activité motrice induite par la nicotine, ce qui est en accord avec ses effets sur l'hyperactivité induite par d'autres drogues d'abus telles que l'amphétamine, la cocaïne et la morphine (Darracq et coll. 1998; Drouin et coll. 2002; Auclair et coll. 2004).

Article 3

Involvement of $\alpha 1$ -adrenoceptors in the appetitive value of nicotine in rats

Benoît Forget, Michel Hamon, Marie-Hélène Thiébot

En préparation

Abstract

Rationale: Noradrenergic transmission (and in particular, $\alpha 1$ -adrenoceptors) is implicated in the biochemical and behavioural effects of psychostimulants, but surprisingly, the involvement of $\alpha 1$ -adrenoceptors in nicotine reward have not been investigated so far.

Objectives: The objective of the study was to evaluate whether an activation of $\alpha 1$ -adrenoceptors is necessary for the establishment and the short- and long-term expression of nicotine-induced conditioned place preference (CPP). This was studied in rats subjected to an unbiased, one-compartment place conditioning procedure, using the $\alpha 1$ -adrenoceptor antagonist, prazosin, as a pharmacological tool.

Methods: Wistar rats, given previous experience with nicotine (0.06 mg/kg) in their home cage, were subjected to eight alternating nicotine (0.06 mg/kg, s.c.) and saline pairings with distinct floor textures in an open field and given a test session, with no nicotine injection, in the open field whose floor was covered by two quadrants of the saline-paired texture and two quadrants of the nicotine-paired texture. Prazosin (0.5 mg/kg, i.p.) was administered 30 min before each nicotine pairing to assess its effect on the establishment of nicotine-induced CPP. To study the effect of $\alpha 1$ -adrenoceptor blockade on short- and long-term expression of nicotine-CPP, prazosin (0.5 mg/kg, i.p.) was administered as a single injection before the test session, conducted 24h or 3 weeks after the last conditioning session.

Results: Prazosin prevented both the establishment and the short-term expression of nicotine-CPP, without having motivational properties on its own. However, it did not block the long-term expression of nicotine-CPP when the test session was conducted 3 weeks after the

acquisition phase. In addition, prazosin counteracted the stimulation of motor activity induced by nicotine during the conditioning sessions.

Conclusions: The stimulation of α 1-adrenoceptors is necessary in the perception by rats of the motivational value of nicotine, to the short-term capacity of nicotine-paired conditioned stimuli to elicit approach behaviour. By contrast, α 1-adrenoceptors seem no longer involved in the long-term control of behaviour by nicotine-associated cues. These data support the notion that differences exist in the mechanisms subserving short- and long-term expression of nicotine-CPP, and that the capacity of long-term memory of “nicotine-cues” association to elicit approach behaviour is highly resistant to pharmacological treatments.

The efficacy of prazosin in this model is equivalent to the CB1 antagonist rimonabant, a compound who shows some clinical efficacy to treat tobacco addiction. In this line, α 1-adrenoceptor blockade can be a new interesting way to prevent tobacco smoking.

Introduction

Nicotine, the main psychoactive component of tobacco smoke, exerts its initial effect on neuronal nicotinic acetylcholine ion channel receptors (nAChRs). Like other addictive drugs, nicotine produces discriminative effects, facilitates intracranial self-stimulation (ICSS) and supports self-administration (SA) behavior and conditioned place preference (CPP) in animals (Stolerman et al. 1999; Di Chiara 2000).

Nicotine shares with other drugs of abuse the property of activating the mesolimbic dopaminergic system (for reviews, see Di Chiara 2000; Balfour 2002), and this is considered as central to their rewarding motivational properties. However, other neurobiological systems are involved in drug reward and addiction. In particular, recent studies indicate that the noradrenergic system might be a critical mediator of drug reward and addictive processes. Indeed, noradrenergic pathways support ICSS, and pharmacological compounds or genetic deletions that interfere with noradrenergic neurotransmission modify ICSS threshold, and drug-induced CPP, SA and/or reinstatement of drug seeking behaviour (for review, see Weinshenker and Schroeder 2007).

Most of the noradrenergic cell bodies are located in the A6 locus coeruleus (LC), although a large group also is found in the A2 nucleus tractus solitarius (NTS) and the ventromedullary A1 region. These neurones innervate brain structures such as the hippocampus, extended amygdala, hypothalamus, frontal cortex, midbrain and cerebellum (for review, see Moore and Bloom 1979). There are three subclasses of G protein-coupled adrenoceptors (α 1, α 2 and β), each including three subtypes, α 1A, α 1B, α 1D; α 2A, α 2B, α 2C; β 1, β 2, β 3, according to the most recent receptor nomenclature (Alexander et al. 2007). All adrenoceptors, but the β 3 subtype, are expressed in the rat central nervous system (CNS).

Recent studies suggest an implication of α 1-adrenoceptors (α 1-ARs) in the rewarding effects of drugs of abuse. Indeed, prazosin, an α 1-AR antagonist, which has no motivational effects on its own, has been shown to prevent both the acquisition and expression of morphine-induced CPP in mice (Zarrindast et al. 2002; but see Sahraei et al. 2004). Although prazosin also displays significant affinity for α 2B- and α 2C-ARs, this effect has been ascribed to α 1-ARs blockade. Prazosin also attenuated the cocaine-induced reinstatement of drug-seeking in rats (Zhang and Kosten 2005), and rats pre-exposed to cocaine plus prazosin did not exhibit the subsequent increased SA behaviour observed in animals pre-exposed to cocaine only (Zhang and Kosten 2007). Accordingly, mice lacking the α 1B-ARs (α 1B-KO) neither developed CPP to morphine nor did they show preference for morphine or cocaine oral SA in a two-bottle choice paradigm

(Drouin et al. 2002b). In line with behavioural data, the increased release of dopamine (DA) evoked in the nucleus accumbens (NAcc) by systemic D-amphetamine was absent in $\alpha 1$ B-KO mice (Auclair et al. 2002), and prazosin blocked the stimulation of DA release induced by morphine in mice ventral striatum, though this effect did not occur in rats (Auclair et al. 2004). Taken as a whole, these results suggest a contribution of the noradrenergic neurotransmission in the appetitive and neurochemical effects of psychostimulants and opiates.

Curiously, to the best of our knowledge, no studies have yet been devoted to a putative role of the noradrenergic system in the rewarding effects of nicotine. This is quite surprising since nicotine, by activating nAChRs located both in the LC and on noradrenergic neurone terminals (Mitchell 1993), has been shown to stimulate NA release in several brain structures (cortex, hypothalamus, hippocampus, amygdala) (Sharp and Matta 1993; Summers and Giacobini 1995; Benwell and Balfour 1997; Fu et al. 1998). Likewise, in rats, unlimited access (23 h/day) to self-administered nicotine (which simulates basic elements of human smoking) enhanced the extracellular concentrations of NA in the amygdala, a response that declined according to a within- and between-day pattern, at a time when SA stabilized (Fu et al. 2003). On the other hand, using a limited-access self-administration paradigm (1 h/day), Rauhut et al. (2002; 2003) showed that a selective inhibitor of NA transporter (reboxetine) dose-dependently reduced responding for nicotine, whereas bupropion, which blocks both NA and DA transporters, produced a biphasic dose-dependent increase and decrease of nicotine SA. However, the reduction of nicotine self-administration by both compounds can be accounted for by their non competitive nAChR antagonist properties rather than by their effects on NA transporter. Otherwise, no studies examined the participation of noradrenergic neurotransmission in the addictive effects of nicotine.

Thus, the present study was designed to investigate the involvement of noradrenergic processes in the incentive properties of nicotine, as assessed by place conditioning procedure in rats (Forget et al. 2005). Based on the reported participation of $\alpha 1$ -ARs in the effects of psychostimulants and opiates, the role of this subclass of adrenoceptors has been more specifically considered using prazosin, an $\alpha 1$ -AR antagonist, as a tool. The first experiment aimed at evaluating the consequences of the blockade of $\alpha 1$ -AR by prazosin (0.5 mg/kg) on the *establishment* of CPP supported by nicotine, *i.e.* on the perception by rats of the intrinsic incentive value of nicotine. In a second set of experiments, the effects of prazosin were investigated on the *expression* of nicotine-induced CPP, *i.e.* on the perception by animals of the appetitive value acquired by initially neutral environmental stimuli that have been repeatedly paired with nicotine. These effects were assessed either 24 hours or 3 weeks after the conditioning phase, when rats no longer received nicotine.

Materials and Methods

Animals

The experiments were carried out on drug- and test-naive male Wistar AF rats (CERJ, Le Genest, France). They were 5-week-old (150-160 g) upon their arrival in the laboratory. They weighed 225-245 g at the beginning of the experiments, 2 weeks later. Rats were housed eight per cage (40 x 40 x 18 cm) under standard conditions (12 h light-dark cycle with light-on at 07:30; room temperature $21 \pm 1^\circ\text{C}$) with free access to water in their home cage. One week prior to the beginning of the experiments, rats were brought daily from the animal housing facility to the laboratory; they were handled, weighed, and given a subcutaneous (SC) injection of nicotine (0.06 mg/kg) on Monday, Wednesday and Friday, and saline on alternate days, immediately before being returned in their home cage. From this first week onwards, they were placed on a daily schedule of mild food restriction (150 g of standard chow per day for 8 rats, given as a single meal in the evening), which was maintained until the end of the experiments; indeed, food restriction has been reported to enhance the rewarding effects of drugs of abuse (for review, see Carr 2007). Experiments were performed in agreement with the institutional guidelines for use of animals and their care, in compliance with national and international laws and policies (Council directive no. 87-848, October 19, 1987, Ministère de l'Agriculture et de la Forêt, Service Vétérinaire de la Santé et de la Protection Animale, permissions no. 75-116 to MH and 75-118 to MHT).

Place conditioning paradigm

Apparatus

The experiments were conducted in a one-compartment apparatus, using an unbiased experimental design, as previously described (Forget et al. 2005). Briefly, rats were trained and tested in four black wooden open-fields (76 x 76 x 50 cm) located in a room dimly lit with four 15 W red light bulbs, positioned 150 cm above each open-field (1 lux at floor level), and supplied with continuous masking noise (60 dB). The floor of each open-field was covered with removable quadrants made from one of two textures, wire mesh or rough Plexiglas. These textures were chosen on the basis of previous studies indicating that naive rats exhibited no unconditioned preference for one of them. Video cameras, mounted above each open-field, were connected with controlling equipment located in the adjacent room.

Experimental procedure

The general procedure consisted of two phases: conditioning and testing. Each rat was subjected to eight 30-min conditioning sessions (one session per day) in one open-field (always the same for one rat) whose four floor quadrants were of the same texture. Nicotine (0.06 mg/kg, SC), or its vehicle for the control group, was administered immediately before sessions 1, 3, 5 and 7, paired with one floor texture. Saline was injected (same administration schedule) before sessions 2, 4, 6 and 8, paired with the other floor texture. Nicotine-texture pairings were counterbalanced so that, within each treatment group, nicotine was associated with the wire mesh floor for half of the rats, and with the Plexiglas floor for the other half. For each experiment, one or two 20-min test sessions were conducted in the same open-field whose floor was covered with two quadrants of the saline-paired texture and two quadrants of the nicotine-paired texture. Quadrants of the same texture were positioned diagonally opposite to each other. The time (in seconds) spent on each texture and locomotor activity were automatically recorded by means of the video system, and analyzed by appropriate image analysis software (SuperG Software, Hans C. Neijt; Novartis Pharma, Basel, Switzerland). Half of the time spent on the dividing lines was added to the total time spent on the nicotine- and the saline-paired textures.

Treatment schedules

Experiment 1: Effect of prazosin on the establishment of nicotine-induced conditioned place preference.

Rats were given nicotine (0.06 mg/kg SC; Nic0.06), or its vehicle (Nic0.00), immediately, and prazosin (0.5 mg/kg IP; Prz0.5) or its vehicle (Prz0.0), 30 min before the 4 “odd” numbered conditioning sessions, resulting in 4 randomly distributed treatment groups: “Prz0.0/Nic0.00”, “Prz0.5/Nic0.00”, “Prz0.0/Nic0.06” and “Prz0.5/Nic0.06”. All rats were given Prz0.0 (IP) and saline (SC) according to the same injection schedule, before each “even” numbered conditioning session. A single test session was conducted the day following the last conditioning session, *i.e.* 48 h after the last injection of nicotine. Rats received no injection before the test session. The dose of prazosin (0.5 mg/kg) was chosen *accordingly with* previous studies (Drouin et al. 2002a; Hahn and Stolerman 2005) and on the basis of pilot experiments (data not shown). The dose of prazosin (0.5 mg/kg) was chosen on the basis of preliminary studies (data not shown).

Experiment 2: Effect of prazosin on short-term expression of nicotine-induced conditioned place preference.

During the conditioning phase, 40 rats were given nicotine (0.06 mg/kg, SC) immediately before the 4 “odd” conditioning sessions and saline before the 4 “even” conditioning sessions. Prazosin (0.5 mg/kg, IP), or its vehicle (Prz0.0), was administered only once, 30 min before the test session, which was conducted the day following the last conditioning session, *i.e.* 48 h after the last nicotine injection. Rats of a control group (n = 8) were given Nic0.00 and saline during the conditioning phase and Prz0.0, 30 min before the test session.

Experiment 3: Effect of prazosin on long-term expression of nicotine-induced conditioned place preference.

Twenty rats were subjected to nicotine conditioning and 6 control rats were given vehicle to nicotine (Nic0.00), as described for experiment 2. One day after the last conditioning session, all rats were subjected to a first 20-min test session without injection, to assess the establishment of nicotine-induced conditioned place preference (probe-test). During the next 20 days, the animals were regularly handled but were subjected to neither nicotine administration nor placement in the open fields. A second test session was conducted on day 21. To this end, the nicotine-conditioned rats, divided into two groups matched according to the time spent on the nicotine-paired texture during the probe test, were given prazosin (0.5 mg/kg, IP) or its vehicle (Prz0.0), 30 min before the 2nd test session. The control rats received Prz0.0 according to the same schedule of administration.

Drugs

(-)-Nicotine bitartrate (Sigma Chemicals, St Louis, MO, USA) was dissolved in saline and the pH was adjusted between 7.3 and 7.5 with a few drops of 0.1 M NaOH; the dose is expressed as the free base. Prazosin hydrochloride (Sigma Aldrich, L’Isle d’Abeau-Chesne, France) was sonicated in saline (NaCl 0.9%); the dose is expressed as the salt. Drugs or their respective vehicle were injected in a volume of 5 ml/kg body weight.

Statistical analyses

The results are expressed as mean (\pm SEM) time (s) spent on the nicotine-paired floor texture during the test session. Place preference was assessed by testing whether the time spent on the

nicotine-paired texture was longer than the time spent on the unpaired texture, using one-tailed, paired Student's *t*-test. Prazosin effects on paired minus unpaired time differences were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) followed, where appropriate, by pairwise comparisons using the Fisher's protected least significant difference (PLSD) test for multiple comparisons. Motor activity expressed as mean (\pm SEM) distance (cm) travelled was analyzed by two-way ANOVA (treatment and sessions as repeated measures) for the conditioning sessions, and one-way ANOVA (treatment) for the test sessions. Pairwise comparisons were made using the Fisher's PLSD test. Experiment 1 has been performed in duplicate; there were no statistically significant differences between the corresponding groups within each experiment, thus data were pooled.

Results

Whatever the experiment, 24 h after the conditioning phase, the time spent on the paired texture by rats never given nicotine was not significantly different from that on the unpaired texture [mean time \pm SEM spent on the Nic0.00-paired texture (*n* rats/group; Student's *t*, vs. unpaired time) : Exp. 1: 618 ± 48 s (*n* = 16; $t_{15} = 0.37$); Exp. 2: 627 ± 77 s (*n* = 8; $t_7 = 0.35$); Exp. 3 (probe test): 564 ± 89 s (*n* = 6; $t_5 = 0.40$)] confirming that there was no unconditioned preference for either floor texture.

In the three experiments, rats given nicotine (0.06 mg/kg) alone during the conditioning phase developed the expected preference for the nicotine-paired texture, as indicated by significantly longer times spent on the nicotine-paired floor texture than on the unpaired texture [time on the Nic0.06-paired texture (*n* = 20 rats/group; Student's *t*, vs. unpaired time) : Exp. 1: 850 ± 41 s; Exp. 2: 857 ± 50 s; Exp.3 (probe test): 902 ± 34 s ($t_{19} = 6.13, 5.14, \text{ and } 8.77$, respectively; $p < 0.0001$)].

Experiment 1: Effect of prazosin on the establishment of nicotine-induced conditioned place preference.

The results of the test session are reported in Fig.1. The rats of the "Prz0.5/Nic0.00" group (*n* = 12), given 0.5 mg/kg of prazosin during conditioning, spent 541 ± 68 s on the prazosin-paired floor texture (vs. unpaired time $t_{11} = 0.87$; *NS*), indicating that rats developed neither preference nor aversion for the texture previously associated with prazosin. The rats of the

“Prz0.5/Nic0.06” group ($n = 20$), given prazosin (0.5 mg/kg) 30 min before nicotine (0.06 mg/kg) during conditioning, spent 525 ± 58 s on the nicotine-paired floor texture. This time, not significantly different from that on the unpaired texture ($t_{19} = 1.29$; *NS*) indicated that rats no longer exhibited preference for the texture previously associated with nicotine.

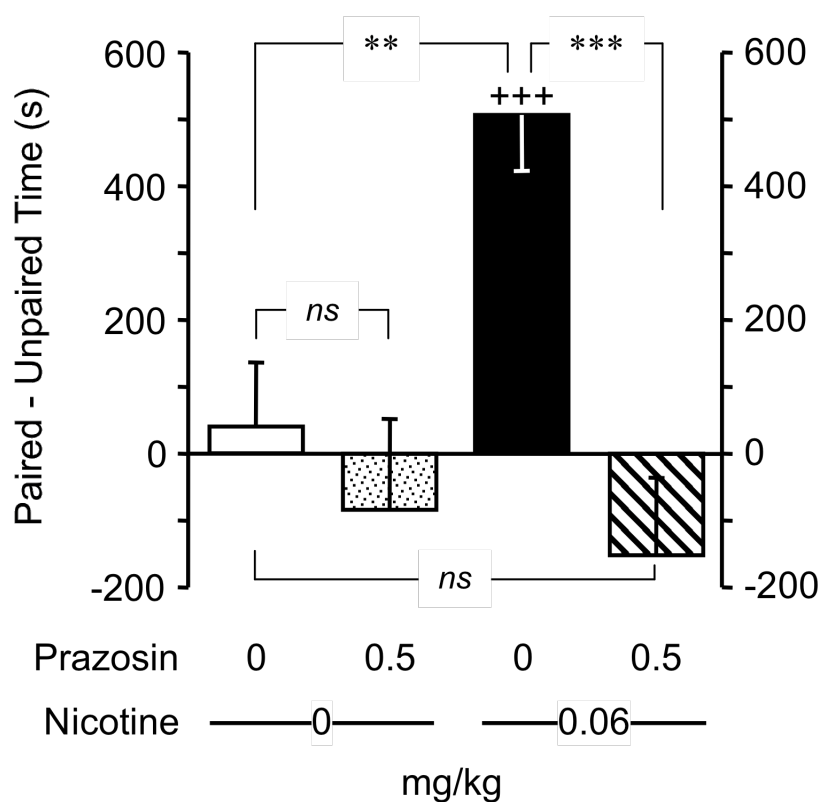


Fig. 1. Prazosin prevented the *establishment* of nicotine-induced conditioned place preference.

Histograms represent the mean (\pm SEM) difference of time (s) spent on the paired and unpaired floor texture during the 20-min test session. Positive and negative values indicate preference and aversion for the paired texture, respectively. Prazosin (0.5 mg/kg, i.p.) or its vehicle (0), was administered 30 min before each of the four conditioning sessions with nicotine (0.06 mg/kg, s.c.), or its vehicle (0). Rats were drug-free during the test session conducted 24 h after the last conditioning session.

+++ $p < 0.0001$, time spent on the nicotine-paired vs. unpaired texture (paired Student's t test);
 ** $p < 0.01$; *** $p < 0.0001$; *ns*, not significant (PLSD test after ANOVA)

The ANOVA conducted on the time differences (paired minus unpaired) indicated a main effect of treatment [$F(3,64) = 8.76; p < 0.0001$]. Pairwise comparisons revealed that this was due to the only “Prz0.0/Nic0.06” group whose performance differed significantly from that the other three groups ($ps \leq 0.0025$); notably, the time difference of the “Prz0.5/Nic0.06” group was significantly reduced as compared with that of the “Prz0.0/Nic0.06” group ($p < 0.0001$), indicating that pre-pairing injections of prazosin, at the 0.5 mg/kg dose that is devoid of appetitive effect, prevented the *establishment* of nicotine induced CPP.

Table 1 reports the locomotor activity recorded during the four nicotine-paired conditioning sessions. The ANOVA for repeated measures revealed significant effects for treatment [$F(3,64) = 14.41; p < 0.0001$] and rank of injection [$F(3,192) = 19.02; p < 0.0001$], but no treatment x rank interaction [$F_{int}(9,192) = 1.52; NS$]. The results of independent statistical analyses during each nicotine conditioning session are indicated in Table 1. Globally, nicotine increased the distance travelled by rats, and prazosin (0.5 mg/kg), which had no significant motor effect on its own, blocked nicotine-induced hyperactivity. In addition, rats of the “Prz0.0/Nic0.06” group exhibited no change in locomotor activity due to repeated nicotine administrations (regression: $F(1,80) = 0.09; NS$).

Table 1 – Locomotor activity during the four drug-paired conditioning sessions (Exp. 1)

Treatments		Mean (\pm SEM) distance travelled (cm/30 min) after successive administrations of nicotine and/or prazosin				
Prazosin mg/kg i.p.	Nicotine mg/kg s.c.	<i>n</i>	1 st injection (conditioning session no. 1)	2 nd injection (conditioning session no. 3)	3 rd injection (conditioning session no. 5)	4 th injection (conditioning session no. 7)
0.0	0.00	16	5764 \pm 198	4512 \pm 522	3779 = 364	4482 \pm 488
0.5	0.00	12	5197 \pm 289 <i>ns</i>	3877 \pm 477 <i>ns</i>	2957 \pm 347 <i>ns</i>	3464 \pm 383 <i>ns</i>
0.0	0.06	20	7099 \pm 259 **	6273 \pm 359 **	5806 \pm 462 ***	7065 \pm 516 ***
0.5	0.06	20	5218 \pm 329 <i>ns</i> , ++	4628 \pm 211 <i>ns</i> , ++	4396 \pm 329 <i>ns</i> , ++	4870 \pm 450 <i>ns</i> , ++
			$F(3,64) = 10.86; p < 0.0001$	$7.13; p < 0.0003$	$8.87; p < 0.0001$	$9.71; p < 0.0001$

Prazosin (0.5 mg/kg, i.p.), or its vehicle, was injected 30 min before nicotine (0.06 mg/kg, s.c.), or its vehicle. Rats were placed in their respective open field immediately after the second injection for a 30-min conditioning session. The results of independent one-way ANOVAs calculated on the distance travelled during each session are indicated in the table. *n*: Number of rats per group.

** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$; *ns*, non significant, *vs.* corresponding score of the “Prz0.0/Nic0.00” control group; ++ $p < 0.01$, “Prz0.5/Nic0.06” *vs.* the corresponding score of the “Prz0.0/Nic0.06” nicotine alone group (PLSD test after ANOVA)

Experiment 2: Effect of prazosin on short-term (24 h) expression of nicotine-induced conditioned place preference.

The results of the test session conducted 24 h after the last conditioning session are reported in Fig. 2A. The rats of the “Prz0.5/Nic0.06” group ($n = 20$), given prazosin before the only test session, spent 629 ± 69 s on the floor texture previously associated with nicotine (vs. unpaired time, $t_{19} = 0.42$; *NS*), indicating that they no longer exhibited preference for the nicotine-paired texture.

The ANOVA revealed an overall effect of treatment on the time differences [$F(2,45) = 4.47$; $p < 0.02$]. Subsequent pairwise comparisons revealed that performance of the “Prz0.0/Nic0.06” group differed significantly from the other two groups (vs “Prz0.0/Nic0.00”, $p < 0.05$; vs. “Prz0.5/Nic0.06”, $p < 0.01$). Thus, the 0.5 mg/kg dose of prazosin counteracted the short-term (24 h) expression of the nicotine-induced CPP.

Prazosin injected before the test session had no significant effect on the distance travelled by the rats during this session [$F(2,45) = 0.36$; *NS*] (not shown).

Experiment 3: Effect of prazosin on the long-term (21 days) expression of nicotine-induced conditioned place preference.

The results of the second test session conducted 21 days after the probe test are reported in Fig. 2B. The rats of the “Prz0.0/Nic0.00” control group spent 657 ± 80 s on the paired floor texture (vs. unpaired time: $t_5 = 0.71$; *NS*) indicating that there was still no unconditioned preference for either texture 21 days after the probe-test. The time spent on the nicotine-paired floor texture during the second test session was 820 ± 40 s (vs. unpaired time: $t_9 = 5.57$; $p < 0.001$) for the rats of the “Prz0.0/Nic0.06” group ($n = 10$) and 873 ± 58 s (vs. unpaired time: $t_9 = 4.74$; $p < 0.001$) for the rats of the “Prz0.5/Nic0.06” group ($n = 10$), indicating that 3 weeks after the conditioning phase rats of the two groups still exhibited preference for the nicotine-paired texture.

The ANOVA revealed an overall effect of treatment on the time differences [$F(2,23) = 4.17$; $p < 0.05$]. Subsequent pairwise comparisons revealed that this was due to significant differences between the “Prz0.0/Nic0.00” control group and both the “Prz0.0/Nic0.06” ($p < 0.05$) and the “Prz0.5/Nic0.06” ($p < 0.01$) groups. These results indicate that, 3 weeks after the conditioning phase, prazosin no longer counteracted the expression of place preference supported by nicotine.

Prazosin (0.5 mg/kg) administered before the only second test session did not modify the distance travelled by rats during this session [$F(2,23) = 0.04$; *NS*] (not shown).

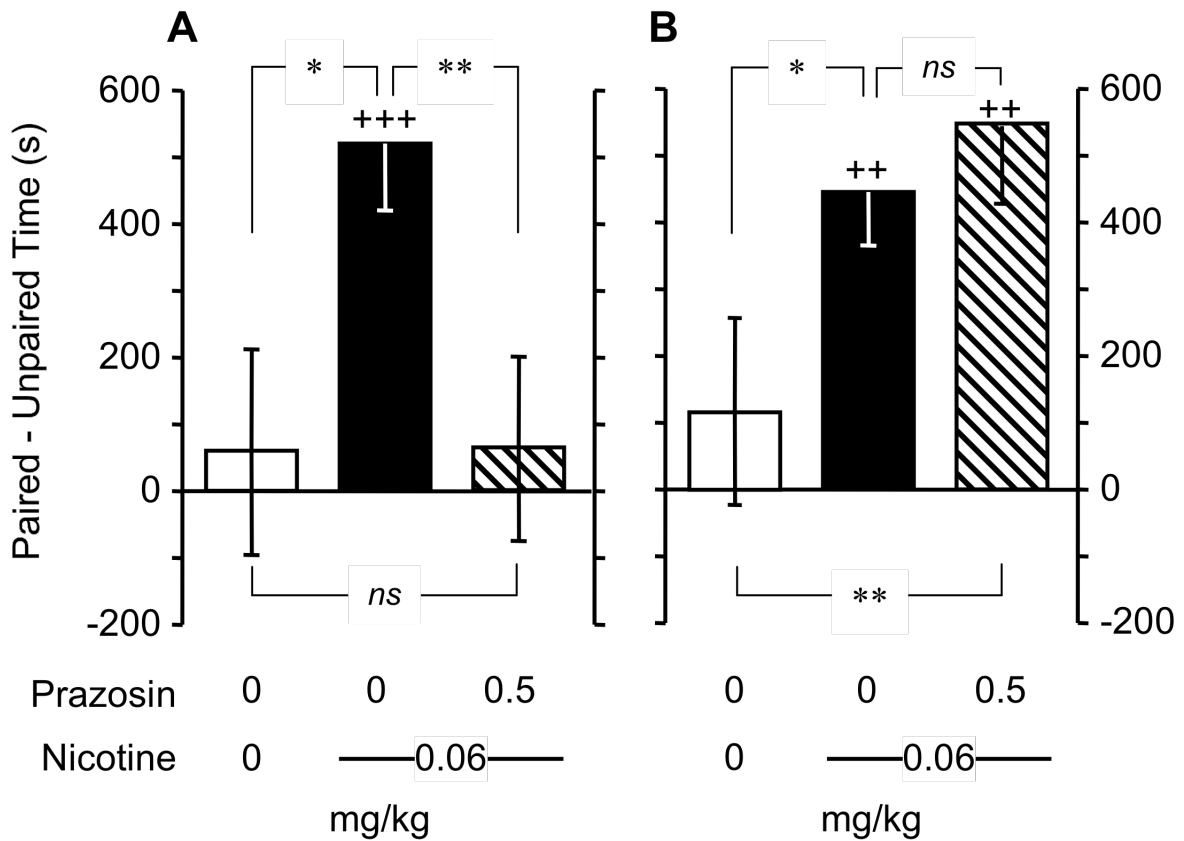


Figure 2 – Prazosin impaired the short-term (24 h), but not the long-term (21 days), expression of nicotine-induced conditioned place preference.

Histograms represent the mean (\pm SEM) difference between the time (s) spent on the floor texture previously paired with nicotine (0.06 mg/kg, s.c.) and the time spent on the unpaired texture during the 20-min test session. Positive values indicate preference for the paired texture. Prazosin (0.5 mg/kg, i.p.), or its vehicle (0), was administered only once, 30 min before the test session, conducted either 24 h (A) or 3 weeks (B) after the conditioning phase.

++ $p < 0.001$; +++ $p < 0.0001$, time spent on the nicotine-paired vs. unpaired texture (paired Student's t test); * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; ns, not significant (PLSD test after ANOVA)

Discussion

This study is the first one that evaluated the consequences of an acute blockade of α 1-adrenoceptors on the incentive effects of nicotine. We demonstrate that prazosin, at the 0.5 mg/kg dose that had no positive or negative affective effect on its own, impaired both the establishment and the short-term expression of nicotine-induced CPP. These results indicate that the activation of α 1-ARs by NA is necessary for the perception by rats of the motivational effects of nicotine and nicotine-associated cues. On the contrary, the long-term ability of the nicotine-paired stimuli to elicit approach behaviour was not abolished by an acute pre-test injection of prazosin. Although it cannot be excluded that larger doses would have been effective in this respect, this result suggests that the long-term expression of nicotine-induced CPP does not depend on α 1-AR-mediated mechanisms, or at least, is less vulnerable to an acute reduction of NA neurotransmission.

Before further discussing these results, several points deserve attention. First, nicotine stimulated locomotor activity during the conditioning sessions. In keeping with our previous observations (Forget et al. 2005; Forget et al. 2006), though significant, this effect was small and did not increase with the repetition of the injections, confirming that CPP occurred without sensitization to nicotine locomotor effects. The dose of prazosin used did not significantly affect motor activity but counteracted the nicotine-induced hyperactivity, in line with its reported effect against the hyperactivity induced in rodents by other drugs such as amphetamine, cocaine and morphine (Mathé et al. 1996; Darracq et al. 1998; Drouin et al. 2001; Drouin et al. 2002a; Auclair et al. 2004). Since locomotor activation might participate in the development of place conditioning (Carr et al. 1989), the possibility cannot be discounted that the impairment of the establishment of nicotine-CPP could be secondary to the reversal by prazosin of rats' motor response to nicotine. However, in any case such an action can account for the abolition by prazosin of the short-term expression of nicotine-CPP.

Second, due to its peripheral α 1-adrenoceptor blocking action, prazosin lowers blood pressure and is used as antihypertensive drug in humans (for review, see Reid and Vincent 1986). However, a 6-fold larger dose than the one used in the present study caused no significant hypotension in rats (Sommermeyer et al. 1995), therefore, an effect on blood pressure cannot interfere with the acquisition and expression of nicotine conditioned effects.

Third, nicotine has attention-enhancing properties in humans (Newhouse et al. 2004) and animals (Grottick and Higgins 2000; Stolerman et al. 2000; Rezvani et al. 2002). In rats subjected to an attentional paradigm, adrenoceptor antagonists have been shown to modulate the

effects of nicotine on different response indices : accuracy of signal detection, omission errors and response latency (Hahn and Stolerman 2005). If pro-attentional effects do participate in the nicotine-induced CPP, it cannot be ruled out that CPP blockade by prazosin may result from an effect on attention processes. However, such a possibility seems very unlikely since prazosin, at the dose used in the present study, has been found to reverse only the nicotine-induced reduction in response latency, sparing the indices of enhanced attention (Hahn and Stolerman 2005). Place conditioning is an associative learning paradigm and any interference with memory or learning processes may disrupt the acquisition and recall of drug-context associations. Because (i) nicotine improves performance in memory tasks (Rezvani and Levin 2001), and (ii) NA is known to participate in some aspects of learning and memory (see Sirviö and MacDonald 1999), the blockade by prazosin of the development and expression of nicotine-CPP could be a consequence of impaired memory processes, independent of affecting the incentive value of nicotine. However, no data indicate amnesic-like effects of prazosin in associative learning tasks (Sirviö and MacDonald 1999). In addition, dopamine β -hydroxylase KO mice, that do not synthesize NA, are still able to develop CPP to food and to express normal conditioned taste aversion to ethanol and lithium chloride (Weinshenker et al. 2000; Olson et al. 2006; Schank et al. 2006), suggesting unaltered associative learning capacities.

It has been largely recognized that the mesolimbic dopaminergic system is critical in the reinforcing effects of addictive compounds, including nicotine. Indeed, most drugs of abuse increased extracellular concentrations of DA in the NAcc (Di Chiara and Imperato 1988; Di Chiara 2000; Balfour 2002), and recent studies indicated that burst firing-dependent fluctuations of DA release within the NAcc are of major importance in this regard (Cheer et al. 2007), since subsecond dopaminergic neurotransmission is thought to encode associative aspects of reinforcement (Schultz 2002). The effects of prazosin on reward processes could be secondary to functional interactions between the noradrenergic and dopaminergic systems. Indeed, NA neurones provide excitatory input to midbrain DA neurones (Morrison et al. 1981; Berridge et al. 1997). Electrical stimulation of the LC induces burst firing of DA neurones of the ventral tegmental area (VTA), and this effect is antagonized by prazosin (Grenhoff and Svensson 1993). Likewise, prazosin blocked the increase in burst firing of VTA dopaminergic neurones induced by D-amphetamine (Shi et al. 2000).

The behavioural responses to psychostimulants such as cocaine or amphetamine appear to depend on NA activation of α 1-adrenoceptors in the prefrontal cortex (pFCx), which in turn promotes DA neuron firing in the VTA and DA release in the NAcc (for review, see Weinshenker and Schroeder 2007). In addition, these two drugs induced CPP concomitantly

with NA and DA release within the pFCx and NAcc respectively, and all of these effects were abolished by NA depletion in the pFCx (Ventura et al. 2003; Ventura et al. 2007).

Nicotine selectively enhanced DA release in the NAcc by supporting the burst firing of VTA DA neurons (Rice and Cragg 2004; Zhang and Sulzer 2004), and nicotine-associated cues are also able to induce DA release in the NAcc (Bassareo et al. 2007). In addition, nicotine infusion in the pFCx or reward-predicting stimuli induced NA release in the pFCx (Mingote et al. 2004; Shearman et al. 2005). Therefore, in the present experimental condition it is possible that nicotine, during conditioning, and nicotine-associated cues, during the short-term test-session induced NA release in the pFCx which activated $\alpha 1$ -adrenoceptors to induce burst firing of VTA DA neurons and finally CPP. Such a mechanism would account for the antagonising action of prazosin on both the acquisition and the short-term expression of nicotine-induced CPP.

On the contrary, prazosin did not antagonize long-term expression of nicotine-induced CPP, indicating that $\alpha 1$ -adrenoceptors activation is no longer necessary for this behaviour.

Prazosin shares with rimonabant, a selective antagonist at brain cannabinoid CB1 receptors, the capacity to impair the establishment and the short-term expression of nicotine-induced CPP, while the long-term expression of nicotine-CPP remains unaffected (Forget et al. 2005; 2006). This suggests that, by interacting with separate neurotransmission systems, the two compounds might exert a similar control over final common pathway(s) to mediate these effects. As both drugs are known to modulate the mesolimbic DA system, it is possible that the establishment and the short-term expression of nicotine-induced CPP are mediated by activation of this system, and that the long-term expression is independent of such a process.

In conclusion, the blockade by prazosin of nicotine-induced CPP suggests that the integrity of $\alpha 1$ -adrenergic receptors is necessary to the perception by rats of the motivational value of nicotine during conditioning and participate in the capacity of nicotine-paired stimuli to elicit approach behaviour during the short-term expression phase. On the contrary, the long-term “memory” of incentive learning was not impaired by a single pretest injection of prazosin.

In this paradigm in rats prazosin exhibits the same profile of action as rimonabant. Therefore, it can also be a potentially useful pharmacotherapy for smoking cessation. However, further studies will be necessary to better understand the mechanisms implicated in the effects of prazosin on nicotine reward. For example, it will be interesting to evaluate the participation of mesolimbic DA system in the different phases of nicotine-induced CPP and the effect of

prazosin thereon. It seems also interesting to investigate the effect of a chronic treatment with prazosin after conditioning on the long-term expression of nicotine-induced CPP, as it was done with rimonabant (Forget et al. 2006).

References

- Alexander SP, Mathie A, Peters JA (2007) Guide to Receptors and Channels (GRAC), 2nd edition (2007 Revision). *Br J Pharmacol* 150 (Suppl 1): S1-S168
- Auclair A, Cotecchia S, Glowinski J, Tassin JP (2002) D-amphetamine fails to increase extracellular dopamine levels in mice lacking alpha 1b-adrenergic receptors: relationship between functional and nonfunctional dopamine release. *J Neurosci* 22: 9150-9154
- Auclair A, Drouin C, Cotecchia S, Glowinski J, Tassin JP (2004) 5-HT_{2A} and alpha1b-adrenergic receptors entirely mediate dopamine release, locomotor response and behavioural sensitization to opiates and psychostimulants. *Eur J Neurosci* 20: 3073-3084
- Balfour DJ (2002) Neuroplasticity within the mesoaccumbens dopamine system and its role in tobacco dependence. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 1: 413-421
- Bassareo V, De Luca MA, Di Chiara G (2007) Differential impact of pavlovian drug conditioned stimuli on in vivo dopamine transmission in the rat accumbens shell and core and in the prefrontal cortex. *Psychopharmacology (Berl)* 191: 689-703
- Benwell ME, Balfour DJ (1997) Regional variation in the effects of nicotine on catecholamine overflow in rat brain. *Eur J Pharmacol* 325: 13-20
- Berridge CW, Stratford TL, Foote SL, Kelley AE (1997) Distribution of dopamine beta-hydroxylase-like immunoreactive fibers within the shell subregion of the nucleus accumbens. *Synapse* 27: 230-241
- Carr GD, Fibiger HC, Phillips AG (1989) Conditioned place preference as a measure of drug reward. In: Lieberman JM, Cooper SJ (eds) *The neuropharmacological basis of reward*. Clarendon Press, Oxford, pp 264-319
- Carr KD (2007) Chronic food restriction: Enhancing effects on drug reward and striatal cell signaling. *Physiol Behav*: published online, doi:10.1016/j.physbeh.2006.1009.1021
- Cheer JF, Wassum KM, Sombers LA, Heien ML, Ariansen JL, Aragona BJ, Phillips PE, Wightman RM (2007) Phasic dopamine release evoked by abused substances requires cannabinoid receptor activation. *J Neurosci* 27: 791-795
- Darracq L, Blanc G, Glowinski J, Tassin JP (1998) Importance of the noradrenaline-dopamine coupling in the locomotor activating effects of D-amphetamine. *J Neurosci* 18: 2729-2739
- Di Chiara G, Imperato A (1988) Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proc Natl Acad Sci USA* 85: 5274-5278
- Di Chiara G (2000) Role of dopamine in the behavioural actions of nicotine related to addiction. *Eur J Pharmacol* 393: 295-314
- Drouin C, Blanc G, Trovero F, Glowinski J, Tassin JP (2001) Cortical alpha 1-adrenergic regulation of acute and sensitized morphine locomotor effects. *Neuroreport* 12: 3483-3486
- Drouin C, Blanc G, Villegier AS, Glowinski J, Tassin JP (2002a) Critical role of alpha1-adrenergic receptors in acute and sensitized locomotor effects of D-amphetamine, cocaine, and GBR 12783: influence of preexposure conditions and pharmacological characteristics. *Synapse* 43: 51-61

- Drouin C, Darracq L, Trovero F, Blanc G, Glowinski J, Cotecchia S, Tassin JP (2002b) Alpha1b-adrenergic receptors control locomotor and rewarding effects of psychostimulants and opiates. *J Neurosci* 22: 2873-2884
- Forget B, Hamon M, Thiébot MH (2005) Cannabinoid CB₁ receptors are involved in motivational effects of nicotine in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 181: 722-734
- Forget B, Barthelemy S, Saurini F, Hamon M, Thiebot MH (2006) Differential involvement of the endocannabinoid system in short- and long-term expression of incentive learning supported by nicotine in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 189: 59-69
- Fu Y, Matta SG, James TJ, Sharp BM (1998) Nicotine-induced norepinephrine release in the rat amygdala and hippocampus is mediated through brainstem nicotinic cholinergic receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 284: 1188-1196
- Fu Y, Matta SG, Kane VB, Sharp BM (2003) Norepinephrine release in amygdala of rats during chronic nicotine self-administration: an in vivo microdialysis study. *Neuropharmacology* 45: 514-523
- Grenhoff J, Svensson TH (1993) Prazosin modulates the firing pattern of dopamine neurons in rat ventral tegmental area. *Eur J Pharmacol* 233: 79-84
- Grottick AJ, Higgins GA (2000) Effect of subtype selective nicotinic compounds on attention as assessed by the five-choice serial reaction time task. *Behav Brain Res* 117: 197-208
- Hahn B, Stolerman IP (2005) Modulation of nicotine-induced attentional enhancement in rats by adrenoceptor antagonists. *Psychopharmacology (Berl)* 177: 438-447
- Mathé JM, Nomikos GG, Hildebrand BE, Hertel P, Svensson TH (1996) Prazosin inhibits MK-801-induced hyperlocomotion and dopamine release in the nucleus accumbens. *Eur J Pharmacol* 309: 1-11
- Mingote S, de Bruin JP, Feenstra MG (2004) Noradrenaline and dopamine efflux in the prefrontal cortex in relation to appetitive classical conditioning. *J Neurosci* 24: 2475-2480
- Mitchell SN (1993) Role of the locus coeruleus in the noradrenergic response to a systemic administration of nicotine. *Neuropharmacology* 32: 937-949
- Moore RY, Bloom FE (1979) Central catecholamine neuron systems: anatomy and physiology of the norepinephrine and epinephrine systems. *Annu Rev Neurosci* 2: 113-168
- Morrison JH, Molliver ME, Grzanna R, Coyle JT (1981) The intra-cortical trajectory of the coeruleo-cortical projection in the rat: a tangentially organized cortical afferent. *Neuroscience* 6: 139-158
- Newhouse PA, Potter A, Singh A (2004) Effects of nicotinic stimulation on cognitive performance. *Curr Opin Pharmacol* 4: 36-46
- Olson VG, Heusner CL, Bland RJ, Daring MJ, Weinschenker D, Palmiter RD (2006) Role of noradrenergic signaling by the nucleus tractus solitarius in mediating opiate reward. *Science* 311: 1017-1020
- Rauhut AS, Mullins SN, Dwoskin LP, Bardo MT (2002) Reboxetine: attenuation of intravenous nicotine self-administration in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 303: 664-672
- Rauhut AS, Neugebauer N, Dwoskin LP, Bardo MT (2003) Effect of bupropion on nicotine self-administration in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 169: 1-9
- Reid JL, Vincent J (1986) Clinical pharmacology and therapeutic role of prazosin and related alpha-adrenoceptor antagonists. *Cardiology* 73: 164-174
- Rezvani AH, Levin ED (2001) Cognitive effects of nicotine. *Biol Psychiatry* 49: 258-267
- Rezvani AH, Bushnell PJ, Levin ED (2002) Effects of nicotine and mecamylamine on choice accuracy in an operant visual signal detection task in female rats. *Psychopharmacology (Berl)* 164: 369-375
- Rice ME, Cragg SJ (2004) Nicotine amplifies reward-related dopamine signals in striatum. *Nat Neurosci* 7: 583-584

- Sahraei H, Ghazzaghi H, Zarrindast MR, Ghoshooni H, Sepehri H, Haeri-Rohan A (2004) The role of alpha-adrenoceptor mechanism(s) in morphine-induced conditioned place preference in female mice. *Pharmacol Biochem Behav* 78: 135-141
- Schank JR, Ventura R, Puglisi-Allegra S, Alcaro A, Cole CD, Liles LC, Seeman P, Weinschenker D (2006) Dopamine beta-hydroxylase knockout mice have alterations in dopamine signaling and are hypersensitive to cocaine. *Neuropsychopharmacology* 31: 2221-2230
- Schultz W (2002) Getting formal with dopamine and reward. *Neuron* 36: 241-263
- Sharp BM, Matta SG (1993) Detection by in vivo microdialysis of nicotine-induced norepinephrine secretion from the hypothalamic paraventricular nucleus of freely moving rats: dose-dependency and desensitization. *Endocrinology* 133: 11-19
- Shearman E, Rossi S, Sershen H, Hashim A, Lajtha A (2005) Locally administered low nicotine-induced neurotransmitter changes in areas of cognitive function. *Neurochem Res* 30: 1055-1066
- Shi WX, Pun CL, Zhang XX, Jones MD, Bunney BS (2000) Dual effects of D-amphetamine on dopamine neurons mediated by dopamine and nondopamine receptors. *J Neurosci* 20: 3504-3511
- Sirviö J, MacDonald E (1999) Central alpha1-adrenoceptors: their role in the modulation of attention and memory formation. *Pharmacol Ther* 83: 49-65
- Sommermeier H, Frielingsdorf J, Knorr A (1995) Effects of prazosin on the dopaminergic neurotransmission in rat brain. *Eur J Pharmacol* 276: 267-270
- Stolerman IP, Naylor C, Elmer GI, Goldberg SR (1999) Discrimination and self-administration of nicotine by inbred strains of mice. *Psychopharmacology (Berl)* 141: 297-306
- Stolerman IP, Mirza NR, Hahn B, Shoaib M (2000) Nicotine in an animal model of attention. *Eur J Pharmacol* 393: 147-154
- Summers KL, Giacobini E (1995) Effects of local and repeated systemic administration of (-)nicotine on extracellular levels of acetylcholine, norepinephrine, dopamine, and serotonin in rat cortex. *Neurochem Res* 20: 753-759
- Ventura R, Cabib S, Alcaro A, Orsini C, Puglisi-Allegra S (2003) Norepinephrine in the prefrontal cortex is critical for amphetamine-induced reward and mesoaccumbens dopamine release. *J Neurosci* 23: 1879-1885
- Ventura R, Morrone C, Puglisi-Allegra S (2007) Prefrontal/accumbal catecholamine system determines motivational salience attribution to both reward- and aversion-related stimuli. *Proc Natl Acad Sci USA* 104: 5181-5186
- Weinschenker D, Rust NC, Miller NS, Palmiter RD (2000) Ethanol-associated behaviors of mice lacking norepinephrine. *J Neurosci* 20: 3157-3164
- Weinschenker D, Schroeder JP (2007) There and back again: A tale of norepinephrine and drug addiction. *Neuropsychopharmacology*: published online, doi:10.1038/sj.npp.1301263
- Zarrindast MR, Bahreini T, Adl M (2002) Effect of imipramine on the expression and acquisition of morphine-induced conditioned place preference in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 73: 941-949
- Zhang H, Sulzer D (2004) Frequency-dependent modulation of dopamine release by nicotine. *Nat Neurosci* 7: 581-582
- Zhang XY, Kosten TA (2005) Prazosin, an alpha-1 adrenergic antagonist, reduces cocaine-induced reinstatement of drug-seeking. *Biol Psychiatry* 57: 1202-1204
- Zhang XY, Kosten TA (2007) Previous exposure to cocaine enhances cocaine self-administration in an alpha 1-adrenergic receptor dependent manner. *Neuropsychopharmacology* 32: 638-645

VI. Implication des récepteurs 5-HT_{1A} dans les effets appétitifs de la nicotine

A. Introduction

Comme nous l'avons vu dans l'introduction de cette thèse, de nombreuses drogues d'abus, dont la nicotine, modifient la transmission sérotoninergique dans le SNC. Les données de la littérature suggèrent que des manipulations de cette neurotransmission peuvent affecter différents aspects de l'appétence des animaux pour des drogues toxicomanogènes. Ainsi, il semble que le pouvoir renforçant de diverses substances d'abus soit atténué lorsque la neurotransmission sérotoninergique est facilitée et, à l'inverse, qu'il soit amplifié lorsque l'activité du système est réduite (voir références p. 91).

Du fait de leur localisation somatodendritique, les récepteurs 5-HT_{1A} contrôlent l'activité électrique des neurones sérotoninergiques du Raphé (voir références p. 90). Ces récepteurs représentent donc une cible par laquelle il est possible de moduler la transmission sérotoninergique. Cependant, aucune étude ne s'est intéressée à l'implication des récepteurs 5-HT_{1A} dans les effets appétitifs de la nicotine. Le WAY 100635 est un antagoniste très sélectif de ces récepteurs (Fletcher et coll. 1996), ce qui en fait un bon outil pharmacologique pour étudier l'effet du blocage des récepteurs 5-HT_{1A}.

Nous nous sommes donc intéressés dans un premier temps aux effets du blocage des récepteurs 5-HT_{1A} sur les effets motivationnels de la nicotine et des stimuli environnementaux qui lui sont associés. Pour ce faire, nous avons étudié l'effet du WAY 100635 sur l'acquisition et l'expression de la PPC induite par la nicotine.

Dans la mesure où une augmentation du nombre de récepteurs 5-HT_{1A} a été constatée *post mortem* dans l'hippocampe de fumeurs (Benwell et coll. 1990), nous avons dans un second temps examiné l'effet du conditionnement à la nicotine sur la fonctionnalité des récepteurs 5-HT_{1A} dans le NRD et l'hippocampe, par la mesure de la liaison du [³⁵S]GTP- γ -S induite par un agoniste de ces récepteurs, la 5-carboxamido-tryptamine (5-CT).

B. Résultats

1. Effet du WAY 100635 sur l'acquisition de la PPC induite par la nicotine

Le WAY 100635 (0,03 - 0,06 - 0,125 - 0,25 mg/kg, SC), ou son solvant pour le groupe témoin, a été administré 30 min avant la nicotine (0,06 mg/kg, SC) lors des séances de conditionnement impaires. Tous les rats ont reçu 2 injections SC de sérum physiologique, 30 min et immédiatement avant les séances de conditionnement paires. La séance-test a été réalisée, sans injection supplémentaire, 24 h après la dernière séance de conditionnement.

Les résultats sont résumés dans la Figure 3.9A.

Les rats témoins conditionnés à la nicotine (0,06 mg/kg ; $n = 12$) avec le solvant du WAY 100635 ont passé 739 ± 40 s sur la texture antérieurement associée à la nicotine. Cette valeur significativement supérieure à 600 s ($t_{11} = 3,47$ $p < 0,01$) confirme les effets appétitifs de cette dose de nicotine.

L'ANOVA indique que, globalement, le WAY 100635 n'a pas modifié le temps passé sur la texture associée à la nicotine ($F_{4,43} = 0,81$; *NS*). Cependant, les rats qui ont reçu les doses de 0,125 et 0,25 mg/kg de WAY 100635 ($n = 8$ /groupe) avant les séances de conditionnement « avec nicotine » ont passé respectivement 634 ± 60 s et 656 ± 61 s sur la texture antérieurement associée à la nicotine. Ces scores, qui ne sont pas significativement supérieurs à 600 s (respectivement, $t_7 = 0,56$ et $t_7 = 0,93$; *NS*), suggèrent que ces doses de WAY 100635 réduisent les effets appétitifs de la nicotine.

L'activité locomotrice des rats pendant les séances de conditionnement n'est pas significativement modifiée par le traitement (résultats non montrés). Le WAY 100635 [0,03-0,25 mg/kg, SC] ne modifie donc pas l'activité locomotrice des animaux qui ont également reçu la nicotine.

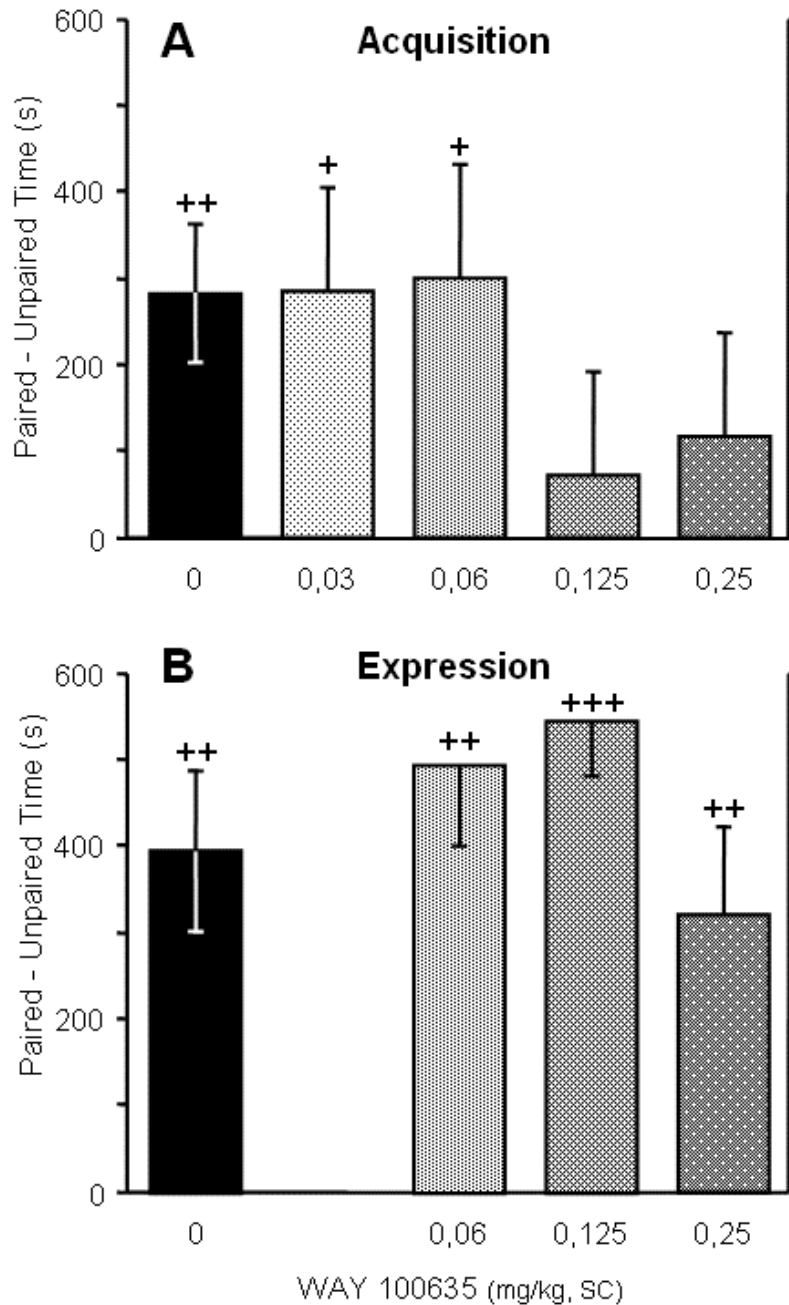


Figure 3.9 – Effets du WAY 100635 sur l'acquisition (A) et l'expression (B) de la PPC induite par la nicotine.

Les histogrammes représentent la moyenne (\pm ESM) des différences de temps passé sur la texture associée à la nicotine et sur la texture associée au sérum physiologique au cours de la séance-test de 20 min. Les valeurs positives représentent une préférence pour la texture « nicotine ».

Les rats de tous les groupes ont reçu la nicotine (0,06 mg/kg, SC) immédiatement avant chaque séance de conditionnement impaire. Le WAY 100635, ou son solvant (0), a été injecté SC, 30 min avant chaque séance de conditionnement « avec nicotine » (Acquisition) ou 1 seule fois, 30 min avant la séance-test (Expression).

+ $p < 0,05$; ++ $p < 0,01$; +++ $p < 0,001$; temps passé sur la texture « Nicotine » vs. sur la texture « Veh » (t de Student pour séries appariées).

2. Effet du WAY 100635 sur l'expression de la PPC induite par la nicotine

Tous les rats ont reçu la nicotine (0,06 mg/kg, SC) immédiatement avant chaque séance de conditionnement impaire et du sérum physiologique immédiatement avant les séances de conditionnement paires. Le WAY 100635 (0,06 - 0,125 - 0,25 mg/kg, SC), ou son solvant pour le groupe témoin, a été administré 30 min avant la seule séance-test réalisée 24 h après la dernière séance de conditionnement ($n = 12/\text{groupe}$).

Les résultats sont résumés dans la Figure 3.9B.

Les rats témoins conditionnés à la nicotine (0,06 mg/kg) et qui ont reçu de la solution saline avant la séance-test ont passé 796 ± 46 s sur la texture antérieurement associée à la nicotine (*vs.* 600 s, $t_{11} = 4,27$ $p < 0,002$).

Les rats qui ont reçu 0,06, 0,125 et 0,25 mg/kg de WAY 100635 avant la séance-test passent respectivement 845 ± 45 s, 871 ± 31 s et 758 ± 51 s sur la texture antérieurement associée à la nicotine. Ces scores, significativement supérieurs à 600 s (respectivement, $t_{11} = 5,39$, $p = 0,0002$; $t_{11} = 8,62$, $p < 0,0001$ et $t_{11} = 3,11$, $p < 0,01$), et l'ANOVA ($F_{3,44} = 1,31$; *NS*) indiquent que le WAY 100635 n'a pas modifié le score de préférence pour la texture associée à la nicotine. A ces doses, le WAY 100635 ne modifie donc pas la capacité des stimuli environnementaux à évoquer les effets plaisants de la nicotine.

Le WAY 100635 [0,06-0,25 mg/kg, SC] administré avant la séance-test n'a pas modifié l'activité locomotrice des animaux au cours de cette séance.

3. Effets du conditionnement à la nicotine sur la fonctionnalité des récepteurs 5-HT_{1A} évaluée par mesure de la liaison de [³⁵S]GTP-γ-S induite par la 5-carboxamidotryptamine

Pour cette expérience, 16 rats ont été conditionnés à la nicotine (groupe « Nicotine ») et 8 rats contrôles ont reçu la solution saline dans les mêmes conditions (groupe « Phy »). Une séance-test a été réalisée 24 h après la dernière séance de conditionnement, sans injection supplémentaire.

Trois rats de chacun des 2 groupes ont ensuite été tirés au sort. Les cerveaux ont été prélevés 24 h après la séance-test puis coupés au niveau du noyau raphé dorsal (NRD) et de l'hippocampe, comme indiqué dans les « matériels et méthodes ».

Nous avons ensuite mesuré la liaison spécifique du [³⁵S]GTP-γ-S induite par des concentrations croissantes de 5-CT (0,1 - 1 - 10 μM), agoniste des récepteurs 5-HT_{1A}. Les résultats sont exprimés en pourcentage de stimulation par rapport à la liaison non spécifique (coupes adjacentes auxquelles on a ajouté 10 μM de WAY 100635 « froid »), selon la formule indiquée dans les « matériels et méthodes ».

Lors de la séance-test, les rats « Nicotine » ont passé 756 ± 49 s sur la texture « nicotine ». Ce score, significativement supérieur à l'indifférence ($t_{15} = 3,16$; $p < 0,01$), confirme la valeur renforçante de cette dose de nicotine. Les rats « Phy » ont passé 541 ± 58 s sur cette même texture, score non différent de 600 s.

La liaison de [³⁵S]GTP-γ-S induite par la 5-CT est illustrée par la Figure 3.10. Les ANOVAs à deux facteurs, avec valeurs répétées pour le facteur concentration de 5-CT, indiquent un effet significatif de la 5-CT ($p_s < 0,0001$), mais pas d'effet nicotine et pas d'interaction, dans la couche CA1 de l'hippocampe, le gyrus denté (GD) et le NRD. L'effet de la 5-CT peut être attribué à l'activation des récepteurs 5-HT_{1A} car il est totalement prévenu par le WAY 100635 (10 μM). La 5-CT [0,1 - 10 μM] induit donc bien une augmentation de la liaison du [³⁵S]GTP-γ-S proportionnelle à la concentration dans ces 3 structures, mais cet effet n'est pas modifié par un traitement préalable à la nicotine.

Les images autoradiographiques des coupes dans les conditions « stimulé » par la plus forte concentration de 5-CT (10 μM) et « non spécifique » dans les différentes structures cérébrales sont présentées dans la Figure 3.11.

Ainsi, le conditionnement à la nicotine ne modifie pas le couplage fonctionnel des récepteurs 5-HT_{1A} à leurs protéines G évalué 48h après la dernière séance de conditionnement.

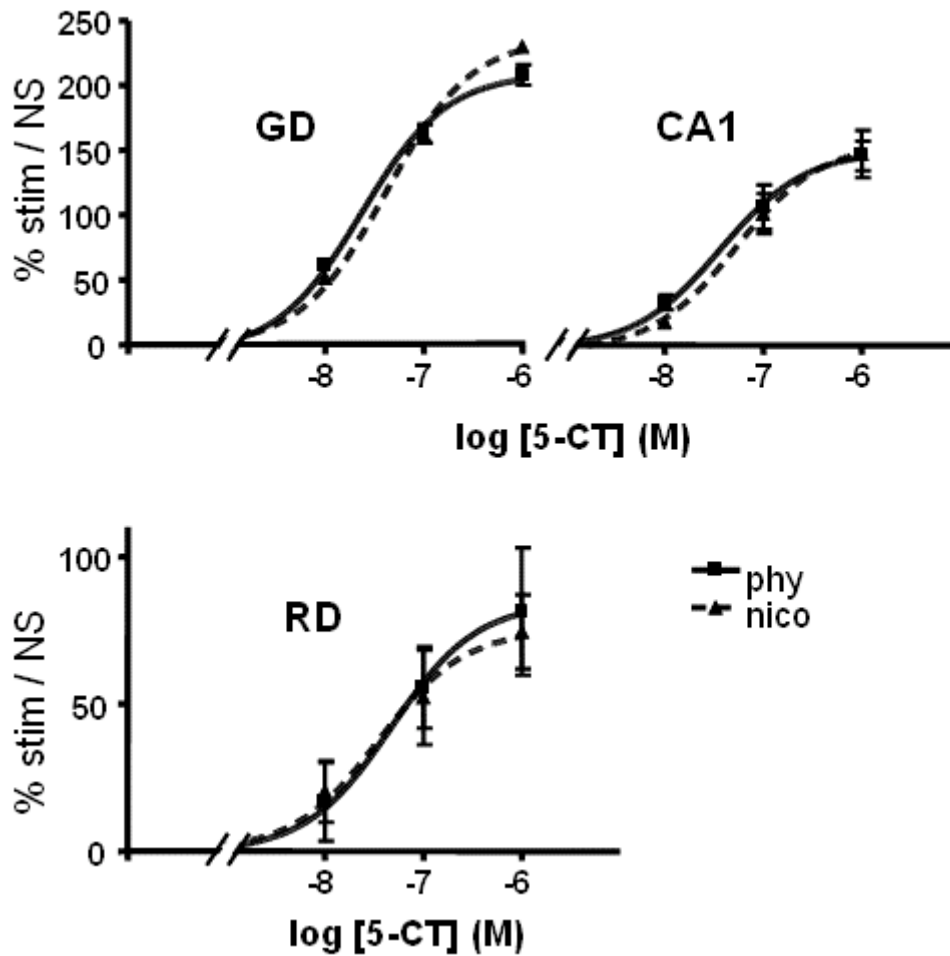


Fig. 3.10: Liaison spécifique du [35 S]GTP- γ -S induite par des concentrations croissantes de 5-CT dans le gyrus denté (GD), la couche CA1 de l'hippocampe (CA1) et le noyau raphé dorsal (RD) chez des rats conditionnés à la nicotine (nico, lignes pointillées) ou à la solution saline (phy, lignes pleines) (n=3 par groupe).

Les résultats sont exprimés en % de stimulation par rapport au marquage non spécifique (en présence de 10 μ M de WAY 100635) (formule dans les « matériels et méthodes »).

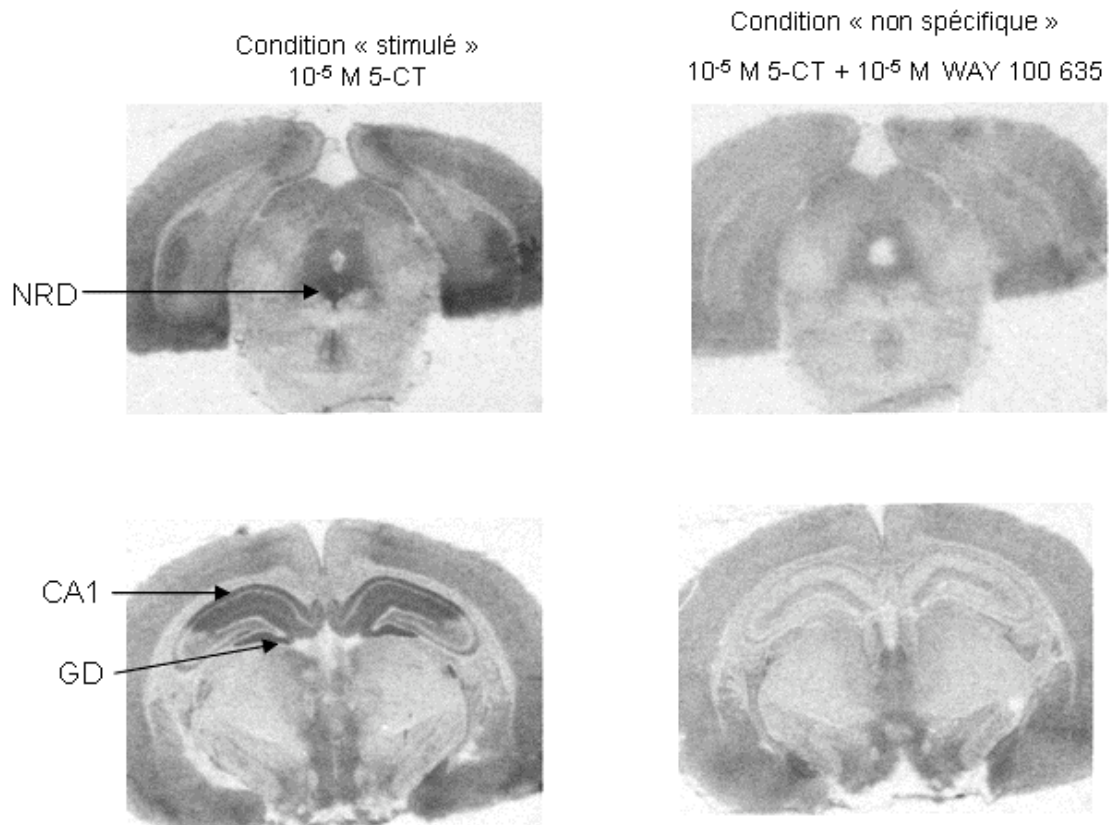


Fig. 3.11: Images autoradiographiques de coupes de cerveaux montrant la liaison du [³⁵S]GTP- γ -S aux récepteurs 5-HT_{1A} stimulée par la 5-CT (10^{-5} M) avec (“non spécifique”) ou sans (“stimulé”) WAY 100635 à 10^{-5} M, dans le noyau raphé dorsal (NRD) et l’hippocampe [couche CA1 (CA1) et gyrus denté (GD)].

C. Conclusion

Le blocage des récepteurs 5-HT_{1A} semble s’opposer à l’acquisition de la PPC induite par la nicotine, et donc réduire la perception par les rats des effets plaisants de la nicotine. Cependant, ce résultat devra être confirmé, car le nombre d’animaux étudiés avec les doses de WAY 100635 qui semblent actives ($n = 8$) ne permet pas de conclure au plan statistique. De

plus, il sera nécessaire d'évaluer l'effet motivationnel propre de cette molécule afin de déterminer si son action inhibitrice sur l'acquisition de la PPC est spécifique, et non le reflet d'un effet aversif du WAY 100635.

De plus, aux doses étudiées, le WAY 100635 ne s'oppose pas, à court terme (24 h), à l'expression de la PPC induite par la nicotine.

Enfin, le conditionnement à la nicotine (précédé du prétraitement à la nicotine) ne modifie pas la fonctionnalité des récepteurs 5-HT_{1A} dans le raphé dorsal et l'hippocampe.

VII. Réinstallation par une dose-test de nicotine de la PPC induite par cette drogue

A . Introduction

La rechute même après de longues périodes d'abstinence est un phénomène qui se retrouve dans toutes les toxicomanies. Comme nous l'avons vu dans l'introduction, il y a deux manières d'approcher ce comportement chez l'animal après extinction : la réinstallation de l'auto-administration ou la réinstallation d'une PPC. Les comportements d'auto-administration et de PPC sont généralement très robustes, le temps seul ne pouvant les éteindre. Il est donc nécessaire de faciliter leur extinction : pour ce qui est de l'auto-administration, par délivrance de sérum physiologique contingente de la réponse qui délivrait initialement la drogue, ou, dans le cas de la PPC, par appariements répétés de sérum physiologique aux deux environnements de conditionnement. Plusieurs types d'événements sont à même de réinstaller ces comportements une fois éteints : le stress, les stimuli associés à la drogue ou encore la drogue elle-même.

Nous avons décidé d'étudier ici la capacité d'une dose-test de nicotine à réactiver, après déconditionnement actif, la PPC induite par la nicotine.

B. Protocole expérimental

Nous avons conditionné 64 rats à la nicotine (0,06 mg/kg, SC) et réalisé un premier test 24 h après la dernière séance de conditionnement, sans injection supplémentaire. Lors de ce « probe-test », les rats ont passé en moyenne 768 ± 21 s sur la texture antérieurement associée à la nicotine, score significativement supérieur à 600 s ($t_{63} = 7,84$; $p < 0,0001$). Parmi ces animaux, nous avons sélectionné ceux qui présentaient des scores supérieurs à 600 s ($n = 47$, score au « probe-test » : 845 ± 17 s). Ces rats ont été soumis à 12 séances (30 min/jour) de déconditionnement actif, au cours desquelles du sérum physiologique a été associé

alternativement à chacune des deux textures de sol. Une 2^{ème} séance-test a été pratiquée 24 heures après la dernière séance de déconditionnement, sans prétraitement. Lors de cette séance-test, les rats ont passé 700 ± 39 s sur la texture « nicotine ». Ce score, significativement supérieur à 600 s ($t_{46} = 2,58$; $p < 0,02$), indique que globalement les 12 séances de déconditionnement actif n'ont pas été suffisantes pour éteindre totalement la PPC. Nous avons donc décidé de sélectionner de nouveau parmi ces animaux les rats ayant des scores inférieurs à 600s que l'on pouvait donc considérer comme « déconditionnés » ($n = 21$, moyenne des scores : 450 ± 35 s), que nous avons répartis en 2 groupes équilibrés en fonction des performances à cette 2^{ème} séance-test.

Enfin, une troisième séance-test (**de 30 min**) a été réalisée 5 jours plus tard. Juste avant d'être placés dans l'enceinte, les rats ont reçu une dose-test de nicotine (0,06 mg/kg, SC, $n = 11$) ou de solution saline (SC, $n = 10$). Les scores ont été relevés toutes les 5 minutes.

C. Résultats

A la 20^{ème} min de test, les rats « déconditionnés » qui ont reçu la solution saline ou la dose-test de nicotine avant le test ont passé respectivement 617 ± 70 s et 721 ± 71 s sur la texture « nicotine ». Ces scores, non différents de 600s (respectivement, $t_9 = 0,51$ et $t_{10} = 1,70$; *NS*), indiquent d'une part que les animaux sélectionnés n'expriment pas d'aversion pour la texture « nicotine », et d'autre part que les rats qui ont reçu la dose-test de nicotine ne manifestent pas, à ce temps, de réactivation significative de la préférence pour la texture « nicotine ». En revanche, à la 30^{ème} min de test, les rats qui ont reçu la dose-test de nicotine ont passé 1148 ± 83 s sur la texture « nicotine », score significativement supérieur à 900 s, temps qui correspond à l'indifférence ($t_{10} = 3,00$; $p < 0,02$), alors que le score des rats ayant reçu la solution saline est de 850 ± 87 s (vs. 900 s, $t_9 = 0,58$; *NS*). Les scores des 2 groupes sont significativement différents ($t_{19} = 2,49$; $p < 0,05$) (Figure 3.12A).

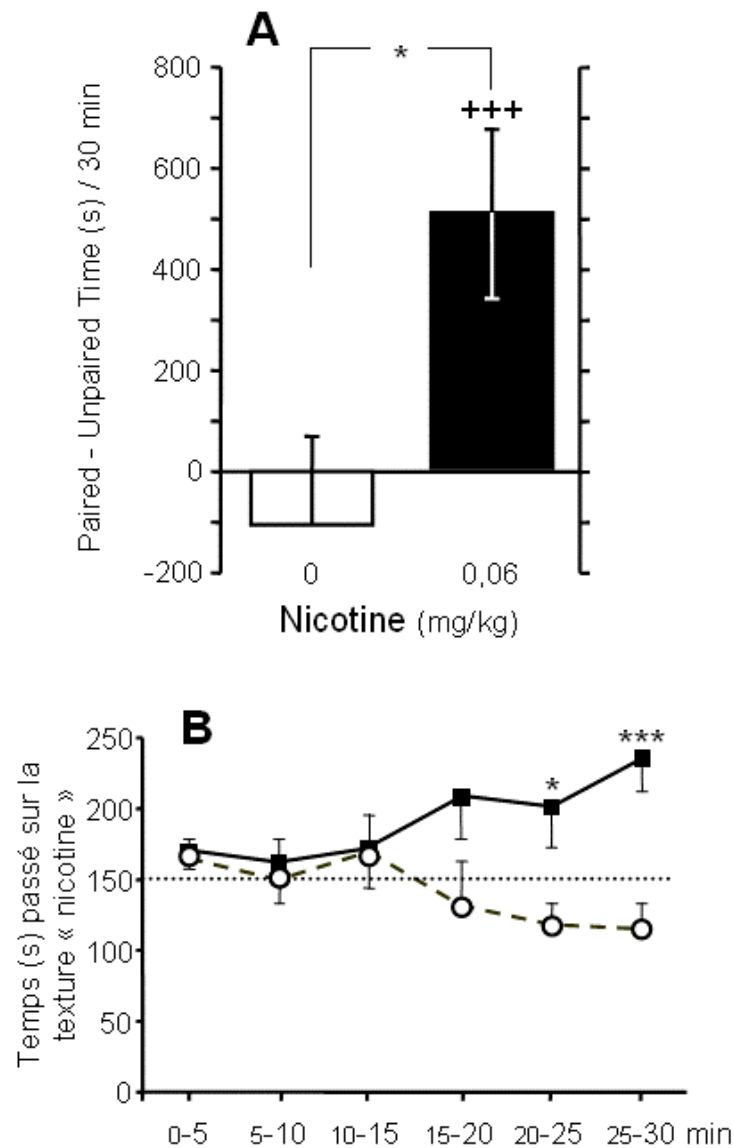


Figure 3.12 – Réactivation de la préférence pour la texture antérieurement associée à la nicotine par une dose-test de nicotine après déconditionnement actif réussi.

A – Les histogrammes représentent la moyenne (\pm ESM) des différences de temps passé sur la texture associée à la nicotine et sur la texture associée au sérum physiologique au cours de la séance-test de 30 min.

B – Déroulé temporel 5 min par 5 min des temps moyens (\pm ESM) passés sur la texture « nicotine » après une dose-test de nicotine (■) ou de son solvant (○).

Après conditionnement, 48 rats ont été soumis à 12 séances de déconditionnement actif (appariement de sérum physiologique en alternance avec chacune des 2 textures). Les 21 rats considérés comme « déconditionnés », c'est-à-dire dont les scores de préférence étaient inférieurs à 600 s, ont reçu une dose-test de nicotine (0,06 mg/kg, $n = 11$) ou de son solvant (0, $n = 10$) immédiatement avant la séance-test de 30 min.

+++ $p < 0,001$; temps passé sur la texture « Nicotine » vs. sur la texture « Veh » (t de Student pour séries appariées). * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$; comparaisons entre groupes (t de Student pour séries indépendantes)

Chez les rats dont les scores de préférence ont été réduits par 12 séances de déconditionnement, la dose-test de nicotine a donc réactivé la PPC induite par la nicotine.

Toutefois, comme l'illustre la Figure 3.12B, la réactivation de ce comportement ne se développe qu'à partir de la 15^{ème} minute du test, soit plus tardivement que lorsqu'il s'agit de l'expression de ce comportement (Figure 3.13).

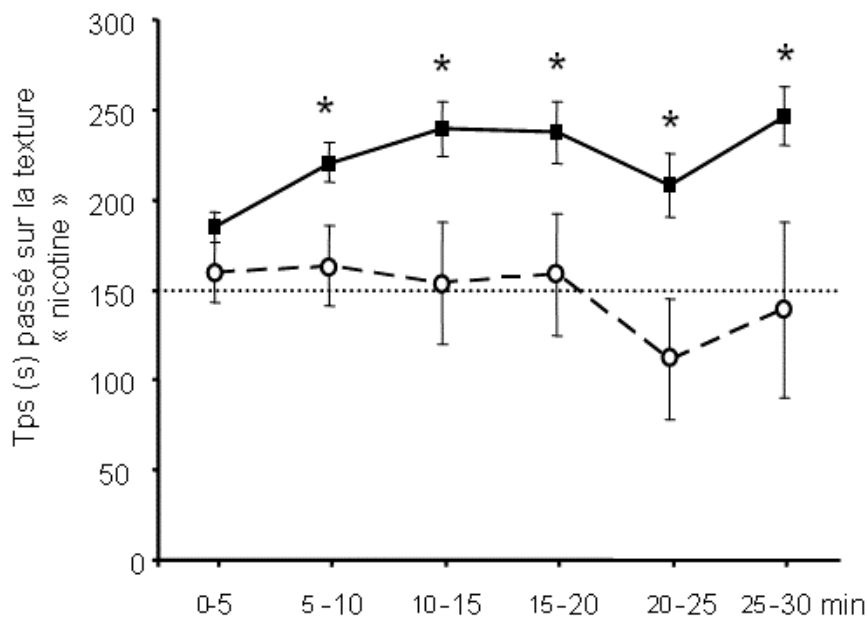


Figure 3.13: Décours temporel 5 min par 5 min des temps moyens (\pm ESM) passés sur la texture « nicotine » lors d'une séance-test classique après conditionnement à la nicotine (■) ou à son solvant (○).

* $p < 0,05$; comparaisons entre groupes (t de Student pour séries indépendantes)

La dose-test de nicotine injectée avant la 3^{ème} séance-test n'a pas modifié la distance parcourue par les rats (cm/30 min : saline = 4444 ± 174 ; nicotine = 4721 ± 694 ; $t_{19} = 0,37$; NS).

D. Conclusion

La PPC induite par la nicotine est extrêmement robuste et résiste au déconditionnement actif, puisque 12 séances de déconditionnement n'éteignent pas cette préférence, sur le plan des moyennes de groupe. Cependant, chez les animaux qui présentent des scores inférieurs à 600 s et paraissent donc « déconditionnés », une dose-test de nicotine (0,06 mg/kg) réactive la préférence pour la texture « nicotine », effet visible au-delà de la 20^{ème} minute de test. Ainsi, la réactivation de ce comportement se développe tardivement au cours du test.

REMARQUE : Nous avons également mis en oeuvre d'autres protocoles pour tenter d'éteindre totalement le comportement de PPC et ainsi ne pas avoir à sélectionner les sujets, notamment en injectant de la solution saline avant de placer les rats dans les enceintes en configuration « séance-test », c'est-à-dire avec les 2 textures de sol disposées en diagonale, et ceci plusieurs jours de suite. Ce protocole de déconditionnement, qui présente l'avantage de permettre le contrôle jour par jour de l'évolution des scores de préférence, n'a malheureusement pas permis d'obtenir un déconditionnement satisfaisant puisque les rats exprimaient encore une PPC significative après 14 séances de déconditionnement (résultats non présentés). Nous n'avons donc pas poursuivi les études prévues initialement concernant le rôle des stimuli environnementaux dans les mécanismes de rechute.

DISCUSSION

I. Synthèse des résultats

Ce travail avait pour objectif de déterminer l'implication de différents systèmes neurobiologiques dans les effets appétitifs de la nicotine. Il a donc tout d'abord été nécessaire de mettre en place une procédure permettant d'évaluer la valeur motivationnelle de la nicotine. Nous nous sommes attachés dans un premier temps à déterminer les conditions expérimentales nécessaires à l'obtention d'une préférence de place conditionnée (PPC) induite par la nicotine chez le rat, notamment en étudiant l'effet d'une large gamme de doses de nicotine [0,006-0,6 mg/kg].

Nous avons ainsi montré que la nicotine entraîne une préférence de place aux doses de 0,06 et 0,125 mg/kg. Les rats peuvent donc percevoir les effets « plaisants » de ces faibles doses, et ceci de manière plus marquée et reproductible pour la dose de 0,06 mg/kg qui a été choisie pour la suite du travail. Cette dose est plus faible que celles (0,6 - 0,8 mg/kg) qui sont le plus souvent utilisées pour le conditionnement de place (Fudala et coll. 1985; Fudala et Iwamoto 1986), mais se rapproche des doses unitaires qui maintiennent le comportement d'auto-administration (Cox et coll. 1984) ou de celles utilisées dans les procédures de discrimination de drogue (Cohen et coll. 2002). Cette dose de nicotine induit une augmentation modérée de l'activité locomotrice, mais ne produit pas de sensibilisation comportementale dans les conditions utilisées ici.

Une fois acquise, la PPC induite par la nicotine se maintient au moins 12 semaines, sans réexposition à la drogue ou au dispositif expérimental.

Les effets plaisants et hyperlocomoteurs de la nicotine résultent de l'activation des nAChRs (puisque'ils sont bloqués par un antagoniste non sélectif de ces récepteurs, la mécamylamine) et plus particulièrement du/des sous-type(s) de récepteurs contenant la sous-unité $\beta 2$ (car ils sont bloqués par un antagoniste sélectif de ces nAChRs, la DH- β -E).

Nous avons dans un deuxième temps évalué l'implication du système endocannabinoïde dans l'acquisition et l'expression de la PPC induite par la nicotine, en utilisant un antagoniste sélectif des récepteurs CB1, le rimonabant, comme outil pharmacologique. Nous avons montré que le blocage de ces récepteurs s'oppose à la fois à l'acquisition et à l'expression à court terme (24 h après la dernière séance de conditionnement) de la PPC induite par la nicotine. Le système endocannabinoïde semble donc nécessaire à la perception par les rats des effets plaisants de la

nicotine elle-même, ainsi qu'à leur évocation à court terme par les stimuli environnementaux qui lui ont été associés.

En revanche, le blocage aigu des récepteurs CB1 ne s'oppose pas à l'expression à long terme de la PPC (3 ou 12 semaines après le conditionnement), phénomène qui se développe progressivement en 3 semaines. Cependant, le blocage prolongé des récepteurs CB1 pendant cette période permet de maintenir la capacité d'une injection aiguë pré-test de rimonabant à bloquer l'expression du conditionnement à long terme. Il semble donc que les mécanismes neurobiologiques impliqués dans l'expression de la PPC induite par la nicotine deviennent progressivement indépendants du système endocannabinoïde dans un délai de 3 semaines post-acquisition. Enfin, l'intégrité du système endocannabinoïde semble nécessaire pour permettre le passage d'une expression CB1-dépendante vers une expression CB1-indépendante.

Au niveau biochimique, nous avons montré que le conditionnement de place à la nicotine (avec ou sans rimonabant) ne modifie pas l'état fonctionnel des récepteurs CB1 et D2 (évalué, 48 h après le conditionnement, par la mesure de la liaison du [³⁵S]GTP- γ -S induite respectivement par le WIN 55,212-2 et la NPA) dans les différentes structures cérébrales étudiées.

Le nombre de récepteurs CB1, quantifié par la mesure de la liaison du [³H]-rimonabant 48h après le conditionnement, n'est pas non plus modifié par la nicotine dans le Cx cingulaire et préfrontal médian ou dans le striatum ventral et dorsal.

De plus, le conditionnement à la nicotine, suivi ou non d'administrations journalières de rimonabant pendant 3 semaines, n'a pas d'effet sur le couplage des récepteurs CB1 à leurs protéines G dans les structures étudiées, 3 semaines après le conditionnement.

Nous avons ensuite évalué le rôle des récepteurs α 1-adrenergiques dans le développement et l'expression de la PPC induite par la nicotine en utilisant un antagoniste de ces récepteurs, la prazosine, comme outil pharmacologique. Nous avons ainsi montré que, comme le rimonabant, la prazosine s'oppose à l'acquisition et à l'expression à court terme, mais pas à long terme (3 semaines après le conditionnement) de la PPC induite par la nicotine, sans avoir d'effet motivationnel propre. Le blocage des récepteurs α 1-adrenergiques s'oppose aussi à l'augmentation d'activité locomotrice induite par la nicotine sans avoir d'effet moteur propre.

L'implication des récepteurs 5-HT_{1A} dans ces comportements a été étudiée plus succinctement. Le blocage de ces récepteurs par un antagoniste sélectif, le WAY 100635, semble diminuer l'acquisition de la PPC induite par la nicotine, mais cet effet n'est pas significatif, peut-être du fait du nombre réduit d'animaux testés. Il serait donc nécessaire de compléter cette étude pour augmenter les effectifs et de vérifier si, par lui-même, le WAY 100635 n'a pas d'effet motivationnel. En revanche, il apparaît clairement que le blocage des récepteurs 5-HT_{1A} n'a pas d'influence sur l'expression à 24 heures de la PPC induite par la nicotine, en tout cas dans la gamme des doses de WAY 100635 étudiées (0,06 – 0,25 mg/kg).

De plus, le conditionnement à la nicotine ne modifie pas la fonctionnalité des récepteurs 5-HT_{1A} (évaluée par la mesure de la liaison du [³⁵S]GTP- γ -S induite par la 5-CT), que ce soit dans le NRD, structure contenant les corps cellulaires des neurones sérotoninergiques, ou dans l'hippocampe, une des principales structures de projection.

Enfin, nous avons cherché à déterminer les conditions expérimentales permettant d'étudier l'aspect « rechute à l'envie de nicotine ». Il était donc nécessaire, dans un premier temps, d'éteindre le comportement de PPC induit par la nicotine (car le seul passage du temps ne semble pas suffire) pour ensuite le réactiver par l'administration d'une dose-test de nicotine. Pour ce faire, une stratégie possible a consisté à apparier de façon répétée la solution saline à chacune des deux textures de conditionnement. Malheureusement, en règle générale, nous n'avons pas réussi à éteindre totalement la PPC de cette manière. La seule possibilité que nous ayons eu a consisté à sélectionner, après 12 séances d'extinction active, les rats passant moins de 50 % du temps sur la texture associée à la nicotine. Chez ces animaux, nous avons montré que la réexposition à une dose-test de nicotine (0,06 mg/kg) était capable de réactiver l'attrait pour l'environnement initialement associé à la nicotine et que cette réactivation se mettait en place tardivement au cours du test (à partir de la 15^{ème} minute).

Cependant, ce protocole n'est pas satisfaisant puisqu'il oblige à sélectionner des animaux. En outre, la sélection réduit le nombre de rats disponibles pour la séance-test, ce qui nous a empêché d'étudier l'effet de composés pharmacologiques sur la réinstallation du comportement de PPC éteint.

II. Discussion des Résultats

A. PPC induite par la nicotine et nAChRs impliqués

1. Établissement de la PPC induite par la nicotine

Dans la procédure que nous avons utilisée chez le rat, la dose de 0,06 mg/kg de nicotine a induit une PPC robuste et remarquablement reproductible¹. Ce comportement est considéré comme un reflet de la perception par l'animal de la valeur « plaisante » de cette dose de nicotine.

a) Mécanismes possibles

De nombreuses études chez l'animal montrent un accroissement de l'activité des neurones dopaminergiques de l'ATV en réponse à une administration aiguë de nicotine. L'augmentation de libération de DA dans le NAcc qui en résulte est considérée comme centrale dans les effets récompensants de la nicotine (pour revue, voir Di Chiara 2000).

L'auto-administration de nicotine entraîne une augmentation de libération de DA plus marquée dans le shell que dans le core du NAcc (Lecca et coll. 2006), et un antagoniste des récepteurs D1 s'oppose à l'acquisition d'une PPC induite par la nicotine quand il est administré dans le shell, mais pas dans le core, de cette structure (Spina et coll. 2006). Les effets appétitifs de la nicotine semblent donc associés à une augmentation préférentielle de libération de DA dans le shell du NAcc.

¹ Sur la totalité des expériences réalisées au cours de ce travail, aucune n'a échoué à mettre en évidence une préférence conditionnée pour la texture associée à cette dose de nicotine. Selon les expériences, le temps moyen passé par les rats témoins, en 20 min de test, sur la texture « nicotine » a varié de 740 à 900 secondes.

Bien qu'aucune étude n'ait évalué l'effet de l'administration de doses aiguës de nicotine inférieures à 0,1 mg/kg en s.c. sur la libération de DA dans le NAcc, il n'est pas exclu que la faible dose utilisée ici puisse exercer une action physiologiquement significative sur cette libération, responsable de la perception par les rats des effets plaisants de la nicotine.

De fait, la PPC développée avec la dose de à 0,06 mg/kg de nicotine a été obtenue dans les conditions particulières suivantes :

(1) Au cours de la semaine précédant la phase de conditionnement, les rats ont reçu 3 injections de nicotine (0,06 mg/kg), dans le but de dépasser les effets « première dose » aversifs fréquemment rapportés (Shoaib et coll. 1994; Laviolette et van der Kooy 2004). Cependant, dans la mesure où une *sensibilisation* de la libération de DA dans le NAcc a été décrite après 5 injections de nicotine (0,1 mg/kg/jour) (Benwell et Balfour 1992), ce court prétraitement a pu potentialiser l'efficacité de la nicotine à stimuler la libération de DA pendant le conditionnement. Il serait donc intéressant, dans des études futures, d'évaluer la contribution du prétraitement sur la PPC induite par la nicotine (0,06 mg/kg).

(2) Les rats ont été soumis à une légère restriction alimentaire pendant toute la durée de leur vie expérimentale et, sans cette restriction, les scores de préférence pour la texture associée à 0,06 mg/kg de nicotine n'atteignent pas le seuil de signification statistique. Ces résultats sont en accord avec ceux de nombreuses études qui indiquent qu'une restriction alimentaire potentialise des effets des drogues, notamment en modifiant les propriétés des neurones dopaminergiques mésolimbiques. Ainsi, les travaux de Carroll et collaborateurs montrent clairement que la restriction alimentaire accélère l'acquisition du comportement d'auto-administration, réduit le seuil des doses renforçantes, accroît l'effort que le sujet est prêt à fournir pour obtenir la drogue et en augmente la quantité consommée (Carroll et coll. 1979; Carroll et Stotz 1984; Carroll et coll. 1986; Campbell et Carroll 2001). Compte tenu de la diversité des drogues dont les effets sont ainsi accrus, l'hypothèse a été avancée selon laquelle la restriction alimentaire induit une neuroplasticité affectant les neurones dopaminergiques mésolimbiques, « voie finale commune » aux effets renforçants des substances d'abus. De fait, l'immunoréactivité c-fos (reflet du degré d'activation neuronale) induite par l'amphétamine ou des agonistes des récepteurs D1 et D2 est plus élevée chez des rats soumis à une restriction alimentaire chronique que chez ceux qui sont nourris *ad libitum*, et ceci dans de nombreuses structures contenant des terminaisons dopaminergiques (Carr et Kutchukhidze 2000; Carr et coll. 2003). Des études de microdialyse chez le rat indiquent également que la restriction alimentaire chronique, tout en réduisant la concentration basale de DA dans le NAcc (Pothos et coll. 1995), induit une augmentation de la libération de DA en réponse à la présentation de stimuli « saillants » tels que

nourriture ou drogues d'abus (Rouge-Pont et coll. 1995; Wilson et coll. 1995; Bassareo et Di Chiara 1999). Des liens semblent donc établis entre restriction alimentaire et activité du système dopaminergique.

Enfin, la restriction alimentaire induit, chez le rat, une régulation positive des voies des MAP kinases et CAM kinase II, de la phosphorylation de CREB et de l'expression de gènes précoces dans le NAcc (Carr 2006). Or ces voies sont impliquées dans les phénomènes de plasticité neuronale et d'apprentissage associé à des renforcements (Berke et Hyman 2000; Sweatt 2001; Girault et coll. 2007). Par cette action, la restriction alimentaire pourrait également favoriser l'apprentissage associatif, entre effet des drogues et environnement, qui sous-tend le conditionnement de place.

La restriction alimentaire chronique paraît donc à l'origine d'importantes adaptations neuronales au niveau des aires de projections dopaminergiques. Il est donc possible que de telles adaptations, en favorisant la libération de DA dans le NAcc, contribuent à l'efficacité de la faible dose de nicotine utilisée ici.

Enfin, en utilisant une procédure et une dose identiques aux nôtres, Mombereau et coll. (2007) ont récemment montré que le conditionnement de place à la nicotine induit une accumulation de Δ FosB dans le NAcc, positivement corrélée au score de préférence exprimé par les rats. Variant extrêmement stable de FosB, le Δ FosB s'accumule lors d'expositions chroniques à des drogues d'abus (Kelz et Nestler 2000). Selon les auteurs, cette accumulation de Δ FosB dans le NAcc pourrait être la conséquence d'une augmentation de la libération de DA dans le NAcc induite par la nicotine au cours de la phase de conditionnement (Mombereau et coll. 2007). Dans leur ensemble, ces données indiquent que, dans les conditions expérimentales utilisées ici, la dose de 0,06 mg/kg de nicotine administrée avant et pendant le conditionnement —suffisante pour la manifestation des effets plaisants de la nicotine et/ou l'établissement d'une association entre les stimuli environnementaux et ces effets plaisants— est à même de stimuler la libération de DA dans le NAcc.

b) nAChRs impliqués

Les effets de la nicotine que nous avons observés dans la procédure de conditionnement de place sont sous-tendus par l'activation des nAChRs contenant la sous-unité β 2. En effet,

l'acquisition de la PPC est prévenue par la co-administration d'un antagoniste sélectif de ces récepteurs, la DH- β -E. Ce résultat est en accord avec les données de la littérature qui indiquent que l'augmentation de l'activité électrique des neurones dopaminergiques et de la libération de DA normalement induites par la nicotine, ainsi que ses effets récompensants, ne sont observés ni après le blocage des nAChRs $\beta 2^*$ (Watkins et coll. 1999; Grottick et coll. 2000; Grabus et coll. 2006; Walters et coll. 2006), ni chez des souris $\beta 2^{-/-}$ (Picciotto et coll. 1998; Maskos et coll. 2005; Besson et coll. 2006; Mameli-Engvall et coll. 2006).

De façon intéressante, la réexpression locale de ces nAChRs dans l'ATV des souris $\beta 2^{-/-}$ restaure à la fois l'augmentation de libération de DA et l'auto-administration de nicotine absente chez ces animaux (Maskos et coll. 2005), signant ainsi le rôle clé des nAChRs $\beta 2^*$ au sein de l'ATV dans les mécanismes qui sous-tendent les effets appétitifs de cette substance.

L'ATV et le NAcc contiennent aussi des nAChRs $\alpha 7$, exprimés par les terminaisons glutamatergiques provenant, entre autres, du CxPF (Jones et Wonnacott 2004). De nombreuses études indiquent que ces récepteurs ne sont pas impliqués dans les effets plaisants et dopaminergiques de la nicotine (Grottick et coll. 2000; Mameli-Engvall et coll. 2006; Walters et coll. 2006). Toutefois ce point ne fait pas l'unanimité puisque d'autres études suggèrent une participation des nAChRs $\alpha 7$ dans les effets appétitifs de la nicotine (Markou et Paterson 2001; Laviolette et van der Kooy 2003). Il serait donc intéressant d'étudier les effets d'un antagoniste des nAChRs $\alpha 7$ sur le développement de PPC induite par la nicotine dans les conditions expérimentales qui sont utilisées ici.

2. Expression de la PPC induite par la nicotine

Au cours de la séance test, réalisée en l'absence de nicotine, la PPC exprimée par les rats traduit le « souvenir » qu'ils ont des effets plaisants de cette substance. On considère que les stimuli, qui ont été explicitement associés à la nicotine pendant le conditionnement, en évoquent les effets plaisants, et la DA pourrait là aussi jouer un rôle crucial.

Il a ainsi été montré que la présentation de stimuli associés à une récompense provoque une libération de DA dans le NAcc (Di Ciano et coll. 1998; Weiss et coll. 2000; Roitman et coll.

2004), et ceci préférentiellement dans le core (Ito et coll. 2000). Au plan comportemental, l'administration locale dans le NAcc d'antagonistes des récepteurs D1 et D2 s'oppose aux réponses induites par des stimuli associés à un renforcement (Yun et coll. 2004) et le blocage des récepteur D3 par le SB-277011A (IP) s'oppose à l'expression d'une préférence de place induite par la nicotine (Pak et coll. 2006).

L'hypothèse de l'implication préférentielle du core par rapport au shell du NAcc dans l'expression d'une PPC est renforcée par les observations suivantes : (i) une kinase (ERK) et des facteurs de transcription (CREB, elk-1) sont activés dans le core, mais pas dans le shell, du NAcc au moment de l'expression de la PPC induite par la cocaïne et (ii) l'infusion d'un inhibiteur de l'activation de ERK dans le core du NAcc bloque l'expression de la PPC (Miller et Marshall 2005). De plus, la réactivation de l'auto-administration de cocaïne par les stimuli environnementaux associés à la cocaïne est abolie par l'inactivation pharmacologique du core, mais pas du shell, du NAcc (Fuchs et coll. 2004).

Cependant, une étude récente indique au contraire que des stimuli associés à la morphine ou à la nicotine induisent une augmentation de libération de DA dans le shell, mais pas dans le core du NAcc (Bassareo et coll. 2007). La signification fonctionnelle de cet effet reste toutefois à préciser car l'infusion d'un antagoniste des récepteurs D1 ou D2 dans le shell comme dans le core du NAcc ne s'oppose pas à l'expression de la CPP induite par la nicotine (Spina et coll. 2006). Quoiqu'il en soit, ces données indiquent que les stimuli associés à des renforcements sont capables, par eux-mêmes, d'entraîner une augmentation de libération de DA dans le NAcc et de faciliter les réponses comportementales qui permettent d'obtenir ces renforcements (Nicola et coll. 2005).

En ce qui concerne le conditionnement de place, il est donc possible que, lors de la séance-test, une libération de DA dans le NAcc induite par la texture associée à la nicotine sous-tende le comportement d'approche préférentielle de cette texture.

B. Implication du système endocannabinoïde dans les effets appétitifs de la nicotine

Nous avons montré que le blocage des récepteurs CB1 par le rimonabant s'oppose à l'acquisition et à l'expression à court terme de la PPC induite par la nicotine. Il semble donc que le système endocannabinoïde soit nécessaire à la perception par les rats des effets plaisants de la nicotine elle-même, ainsi que des stimuli environnementaux qui lui ont été associés. Ces effets, confirmés par d'autres études (voir références [page 83](#)), peuvent être sous-tendus par différents mécanismes. Les éventuels effets non spécifiques du rimonabant ont été envisagés dans l'Article 1, nous allons donc ici limiter la discussion aux effets spécifiques du blocage des récepteurs CB1 et, à partir des données de la littérature, présenter plusieurs hypothèses susceptibles de rendre compte du rôle des endocannabinoïdes dans le conditionnement de place induit par la nicotine.

1. Implication des endocannabinoïdes dans l'acquisition de la PPC

Ainsi qu'il est discuté plus haut, une augmentation de la libération de DA (induite par l'activation phasique des neurones dopaminergiques de l'ATV) peut jouer un rôle clé dans la perception par les animaux des effets plaisants de la nicotine. Le fait que le rimonabant bloque cet effet neurochimique (Cohen et coll. 2002; Cheer et coll. 2007) permet d'avancer l'hypothèse selon laquelle, au cours de la phase d'acquisition du conditionnement de place, le système endocannabinoïde exercerait un contrôle permissif sur l'activation des neurones dopaminergiques mésolimbiques par la nicotine.

La localisation et la fonction des récepteurs CB1 dans le SNC sont compatibles avec une telle hypothèse.

Ainsi qu'il est rappelé dans l'Introduction ([page 74](#)), les récepteurs CB1 sont présents dans les différentes régions du « circuit de récompense », en particulier dans l'ATV et le NAcc ainsi que dans les aires qui se projettent sur ces deux structures, telles que le CxPF, l'amygdale et

l'hippocampe (Herkenham et coll. 1991). Les endocannabinoïdes ont un mode d'action trans-synaptique rétrograde inhibiteur. Synthétisés et libérés par la dépolarisation de neurones postsynaptiques, ils activent les récepteurs CB1 préterminaux présents sur les afférences à ces neurones et inhibent la libération du neurotransmetteur dans la synapse (Lupica et coll. 2004). C'est le cas notamment dans l'ATV où les endocannabinoïdes sont synthétisés et libérés par les neurones dopaminergiques lorsque ceux-ci sont activés (Maldonado et coll. 2006).

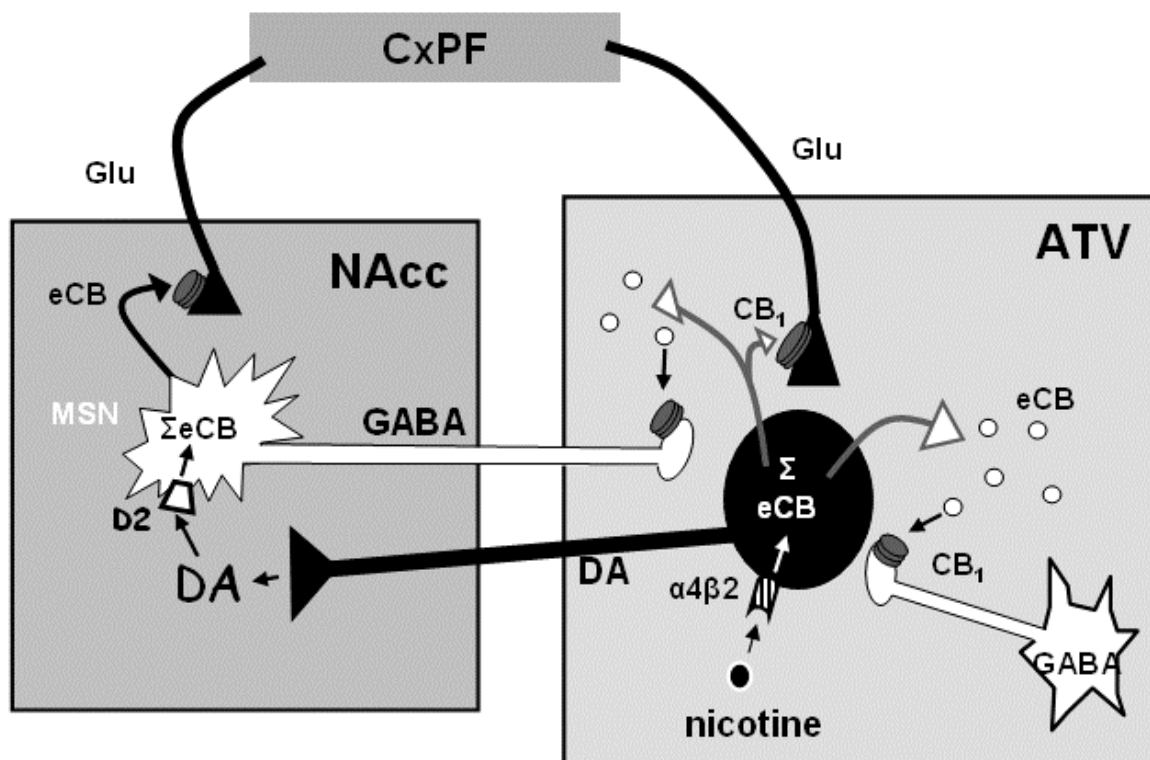


Figure 4.1 - Modulation de l'activité du système dopaminergique mésolimbique par les endocannabinoïdes

Au niveau de l'ATV, la nicotine, en se fixant sur les nAChR $\beta 2^*$ présents sur le soma des neurones dopaminergiques, entraîne la synthèse (Σ) et la libération d'endocannabinoïdes (eCB). Ceux-ci, en activant les récepteurs CB1 présents sur les terminaisons des neurones « épineux moyens » GABAergiques (MSN) et des interneurons GABAergiques, inhibent la libération de GABA et donc lèvent le contrôle inhibiteur GABAergique sur les neurones dopaminergiques. Les eCB activent aussi les récepteurs CB1 présents sur les terminaisons des neurones glutamatergiques (Glu) provenant du CxPF, et donc s'opposent au contrôle excitateur exercé par le glutamate sur les neurones dopaminergiques.

Au niveau du NAcc, la libération de DA active les récepteurs D2 présents sur les corps cellulaires des MSNs entraînant la synthèse et la libération d'eCB. Ces eCB, en se fixant sur les récepteurs CB1 présents sur les terminaisons des neurones glutamatergiques, inhibent l'activation des MSN et ainsi lèvent l'inhibition GABAergique sur les neurones dopaminergiques de l'ATV.

a) Au niveau de l'ATV

Dans l'ATV, l'activation des récepteurs CB1 présents sur les terminaisons GABAergiques (interneurones et MSNs provenant du NAcc), en réduisant localement la libération du GABA, lève le contrôle inhibiteur exercé par celui-ci sur les neurones dopaminergiques (Riegel et Lupica 2004; Lupica et Riegel 2005). L'activation des récepteurs CB1 présents sur les terminaisons glutamatergiques provenant du CxPF inhibe la libération de glutamate (Robbe et coll. 2001; Melis et coll. 2004), atténuant ainsi les entrées excitatrices sur les neurones dopaminergiques de l'ATV. L'effet net des endocannabinoïdes sur l'activité des neurones dopaminergiques mésolimbiques dépend donc de l'équilibre entre modulation des entrées GABAergiques inhibitrices et modulation des entrées glutamatergiques excitatrices. (Figure 4.1)

b) Au niveau du NAcc

L'influence des endocannabinoïdes sur l'activité des neurones dopaminergiques mésolimbiques pourrait également dépendre d'effets distants, notamment au niveau du NAcc. De fait, les corps cellulaires des MSNs GABAergiques reçoivent des afférences glutamatergiques issues, entre autres, du CxPF. La stimulation des récepteurs CB1 présents sur les terminaisons de ces neurones, en réduisant la libération de glutamate, atténue l'activation des MSNs GABAergiques et par conséquent lève l'inhibition que ces derniers exercent sur les neurones dopaminergiques de l'ATV, contribuant ainsi à l'activation des neurones dopaminergiques et à l'augmentation de libération de DA dans le NAcc (Robbe et coll. 2001).

Gonzalez et coll. (2002a) rapportent, chez le rat, une augmentation des concentrations d'anandamide (+67%) dans les structures limbiques en réponse à un traitement chronique par la nicotine. Bien que la dose et le rythme des injections soient différents de ceux utilisés dans le présent travail, un tel effet pourrait participer à l'activation du système dopaminergique mésolimbique par la nicotine.

Dans leur ensemble, ces données ainsi que le blocage par le rimonabant de l'acquisition de la PPC induite par la nicotine indiquent que, par une action dans les différentes structures du système mésolimbique, les endocannabinoïdes facilitent l'activation des neurones dopaminergiques mésocorticaux par la nicotine. Le système endocannabinoïde contribue donc aux mécanismes qui sous-tendent la perception par les rats des effets plaisants de la nicotine.

2. Implication des endocannabinoïdes dans l'expression à court terme de la PPC

Nous avons aussi montré que le rimonabant s'oppose à l'expression à court terme de la PPC induite par la nicotine. En d'autres termes, le blocage des récepteurs CB1 réduit la capacité acquise par les stimuli environnementaux associés à la nicotine à en évoquer les effets plaisants, au moins lorsque cet effet est évalué 24 heures après le conditionnement. Là aussi, les mécanismes de l'action des endocannabinoïdes sur le système dopaminergique mésolimbique peuvent rendre compte de l'effet du rimonabant sur ce comportement si l'on considère, comme les données de la littérature semblent l'indiquer (voir plus haut), que les stimuli associés à la nicotine sont capables d'induire une activation du système dopaminergique mésolimbique.

Nous envisagerons plus loin dans la discussion l'aspect expression à long terme de la PPC ([page 216](#))

3. Hypothèse alternative

Même si les mécanismes envisagés plus haut peuvent sous-tendre, de manière relativement satisfaisante, l'effet du rimonabant sur l'acquisition et l'expression à court terme de la PPC induite par la nicotine, un autre processus peut être pris en considération.

Une hypothèse intéressante a été proposée par Gerdeman et coll. (2003), selon laquelle la consommation de drogues toxicomanogènes entraînerait des changements à long terme de la transmission synaptique. Les drogues usurperaient ainsi des mécanismes normalement impliqués dans des fonctions « bénéfiques » à l'organisme telles que l'apprentissage et la mémoire. Diverses études ont d'ailleurs montré que les drogues d'abus peuvent induire ou modifier la plasticité synaptique au sein des circuits de récompense (Thomas et coll. 2001; Robbe et coll. 2002; Saal et coll. 2003).

Comme nous l'avons vu dans l'Introduction ([page 49](#)), la nicotine est aussi capable de modifier la plasticité synaptique dans différentes structures limbiques.

Par exemple, une dépression à long terme (LTD) impliquant l'activation des nAChRs $\beta 2^*$ a été rapportée dans le striatum dorsal (Partridge et coll. 2002). Or, d'après Gerdeman et coll. (2003), une LTD des afférences glutamatergiques corticales aux MSNs du striatum dorsal peut se mettre

en place après libération conjointe de DA et de glutamate sur ces neurones, et ceci sous la dépendance des endocannabinoïdes. Selon ces auteurs, c'est en effet la **concomitance** de l'activation des récepteurs D2 et des récepteurs glutamatergiques métabotropiques de type 1 (mGluR) présents sur les MSNs qui déclencherait la synthèse d'anandamide (pour cette raison qualifiée « détecteur de coïncidence »). Par son action trans-synaptique rétrograde sur les récepteurs CB1, l'anandamide induirait une LTD des afférences glutamatergiques aux MSNs, diminuant ainsi les entrées excitatrices sur ces neurones GABAergiques.

Dans la mesure où le striatum dorsal semble jouer un rôle important dans la genèse des habitudes liées à l'addiction (Di Chiara 1999; Everitt et coll. 2001; Robbins et Everitt 2002), l'induction d'une LTD à ce niveau pourrait jouer un rôle clé dans l'acquisition d'habitudes persistantes associées à la prise de drogue et conduisant à la consommation compulsive (Gerdeman et coll. 2003).

Comme nous l'avons mentionné plus haut, (i) l'induction d'une LTD dépendante de la DA dans le striatum dorsal nécessite l'activation des nAChRs $\beta 2^*$ (Partridge et coll. 2002) et (ii) la nicotine augmente la libération de DA dans cette structure (Janhunen et Ahtee 2004; Tammimaki et coll. 2006), il est donc possible que les endocannabinoïdes participent aux associations qui s'établissent au cours du conditionnement de place entre les effets de la nicotine et le contexte.

Une LTD des afférences glutamatergiques corticales aux MSNs du NAcc a également été décrite, dépendant elle aussi de la libération d'endocannabinoïdes (Robbe et coll. 2002). A notre connaissance, il n'existe pas de donnée concernant l'effet de la nicotine à ce niveau, mais une LTD dans le shell du NAcc a été rapportée, chez la souris, lors de l'administration chronique de cocaïne (Thomas et coll. 2001). Dans la mesure où les MSNs du NAcc projettent aussi sur les corps cellulaires des neurones dopaminergiques de l'ATV, si une LTD est également induite par la nicotine, elle pourrait participer, par des processus semblables à ceux qui ont été décrits pour le striatum dorsal, à la fois à l'augmentation de libération de DA dans le NAcc induite par la nicotine (Cohen et coll. 2002) et aux associations qui s'établissent pendant le conditionnement (« détecteur de coïncidence »).

Le rimonabant, en bloquant les récepteurs CB1 présents sur les afférences glutamatergiques au NAcc et/ou au striatum dorsal, s'oppose à l'induction de(s) LTD(s) qui dépend(ent) de l'action des endocannabinoïdes neo-synthétisés (Gerdeman et coll. 2002; Robbe et coll. 2002). L'inhibition par le rimonabant de l'acquisition de la PPC induite par la nicotine pourrait donc participer de ce processus.

C. Implication des récepteurs α 1-adrénergiques dans les effets appétitifs de la nicotine

Nous avons montré que le blocage des récepteurs α 1-adrénergiques par la prazosine s'oppose à la fois à l'acquisition et à l'expression à court terme de la PPC induite par la nicotine.

Le rôle éventuel des effets non spécifiques de la prazosine ayant été discuté dans l'Article 3, nous allons nous intéresser ici aux possibles mécanismes d'action de cette molécule qui pourraient rendre compte des résultats obtenus.

Comme nous l'avons rappelé dans l'Introduction (page 95), les manipulations du système noradrénergique influencent l'activité des neurones dopaminergiques mésolimbiques, notamment via les récepteurs α 1-adrénergiques. Ainsi, la stimulation électrique du LC ou l'injection systémique d'amphétamine déclenche des décharges en bouffées des neurones de l'ATV, effet bloqué par la prazosine (Grenhoff et coll. 1993; Grenhoff et Svensson 1993; Shi et coll. 2000). Cet antagoniste des récepteurs α 1 s'oppose aussi à la libération de DA dans le NAcc induite par l'amphétamine et la morphine (Darracq et coll. 1998; Auclair et coll. 2004).

Plusieurs études indiquent que la nicotine favorise également le passage de l'activité des neurones dopaminergiques mésolimbiques du mode de décharge tonique au mode phasique en bouffées, ce qui se traduit par une augmentation notable de la libération de DA dans le NAcc (Rice et Cragg 2004; Zhang et Sulzer 2004). Les mêmes études suggèrent que le mode d'activité phasique sous-tend les effets renforçants primaires (le composé lui-même) ou secondaires (les stimuli associés) de la nicotine, comme c'est également décrit pour d'autres drogues d'abus (Rice et Cragg 2004; Zhang et Sulzer 2004). L'hypothèse peut donc être proposée selon laquelle le blocage par la prazosine de l'acquisition et de l'expression à court terme de la PPC induite par la nicotine résulte de l'inhibition de ce pattern d'activation des neurones dopaminergiques.

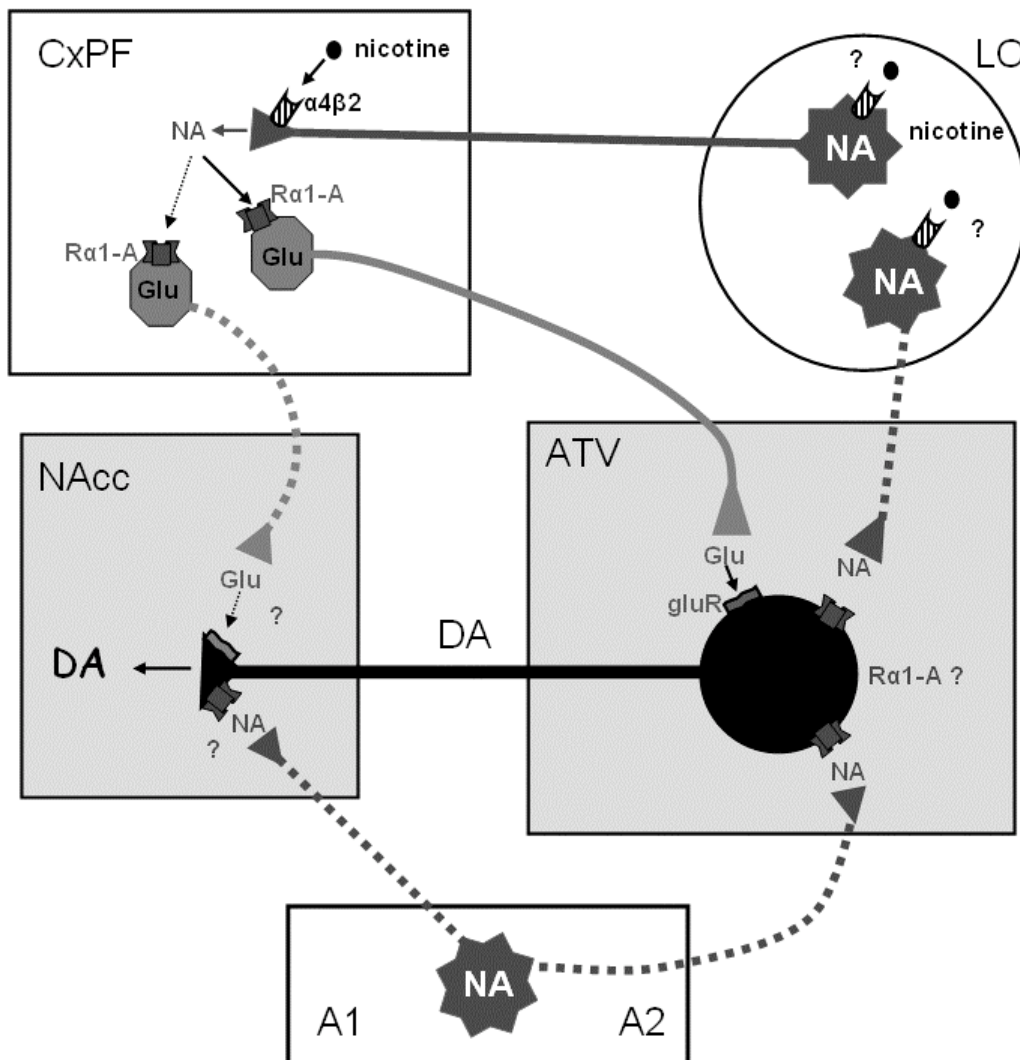


Figure 4.2: Implications possibles de la NA dans la modulation du système DAergique mésolimbique.

L'hypothèse principale est que la nicotine, au niveau du CxPF, active les nAChRs $\beta2^*$ présents sur les terminaisons des neurones NAergiques provenant du LC, ce qui entraîne une augmentation de libération de NA dans le CxPF. La NA va se fixer sur les récepteurs $\alpha1$ -adrenérgiques ($R\alpha1-A$), ce qui va activer, directement ou indirectement, les neurones glutamatergiques qui se projettent sur les neurones dopaminergiques mésolimbiques. Ces derniers vont donc être activés, ce qui va entraîner une augmentation de libération de DA dans le NAcc.

La prazosine, en bloquant les $R\alpha1-A$, s'oppose aux effets de la nicotine.

Les voies en pointillés représentent les hypothèses alternatives.

Schéma modifié d'après (Weinshenker et Schroeder 2006).

1. Acquisition de la PPC

a) Au niveau de l'ATV

La prazosine s'oppose aux décharges phasiques en bouffées des neurones dopaminergiques mésolimbiques, il est donc probable qu'elle agisse, directement ou indirectement, sur les corps cellulaires de ces neurones présents dans l'ATV (Figure 4.2).

L'ATV reçoit des afférences noradrénergiques issues du LC et des noyaux A1 et A2, mais aucune étude n'y a détecté de façon claire la présence de récepteurs $\alpha 1$ -adrénergiques ou de leurs ARNm (Palacios et coll. 1987; Jones et Palacios 1991; Pieribone et coll. 1994). Une action directe de la prazosine dans l'ATV est donc peu probable. Toutefois, une étude électrophysiologique sur coupes a montré que la prazosine abolit totalement la dépolarisation des neurones dopaminergiques de l'ATV provoquée par l'application de NA (Grenhoff et coll. 1995); l'hypothèse d'une action directe de la prazosine sur les neurones dopaminergiques mésolimbiques ne peut donc être totalement écartée.

Diverses données anatomo-fonctionnelles fournissent des indications sur un mécanisme par lequel la prazosine pourrait contrôler indirectement l'activité du système mésolimbique (Weinshenker et Schroeder 2006).

Le CxPF reçoit une innervation noradrénergique dense provenant du LC (Swanson et Hartman 1975). La stimulation des récepteurs $\alpha 1$ -adrénergiques par la NA semble participer (indirectement) à l'activation des neurones pyramidaux glutamatergiques du CxPF (Marek et Aghajanian, 1999) qui envoient des projections excitatrices sur, entre autres, les neurones dopaminergiques de l'ATV [possiblement via un noyau glutamatergique relais (Carr et Sesack 2000)]. La prazosine appliquée localement dans le CxPF bloque l'augmentation d'activité locomotrice et la libération de DA dans le NAcc induites par l'amphétamine (Blanc et coll. 1994; Darracq et coll. 1998). En ce qui concerne la nicotine, son infusion dans le CxPF provoque une augmentation des concentrations locales de NA (Shearman et coll. 2005), probablement via les nAChRs $\beta 2^*$ (Rao et coll. 2003).

Ces données convergentes indiquent qu'un substratum neurobiologique existe par lequel la prazosine peut s'opposer à l'acquisition de la PPC induite par la nicotine.

b) Au niveau du NAcc

Les neurones glutamatergiques du CxPF projettent également sur le NAcc. Si des récepteurs glutamatergiques sont présents sur les terminaisons des neurones dopaminergiques dans le NAcc, comme cela a été mis en évidence dans le noyau caudé (Cheramy et coll. 1986), un mécanisme semblable à celui évoqué plus haut pourrait également participer au contrôle par la NA des effets appétitifs de la nicotine et à leur abolition par la prazosine.

Une action directe de la prazosine dans le NAcc n'est pas non plus à exclure. En effet, chez le rat, la libération de DA dans le NAcc est réduite par l'infusion locale de prazosine (Sommermeier et coll. 1995). De plus, l'administration systémique d'amphétamine induit une augmentation différentielle des concentrations de NA et de DA dans le core et le shell du NAcc (McKittrick et Abercrombie 2007). Des données de microscopie électronique indiquent qu'il existe des interactions étroites entre neurones noradrénergiques et dopaminergiques dans le NAcc (Nirenberg et al, 1997) et des récepteurs α 1-adrénergiques sont présents dans cette structure (Rainbow et Biegon 1983). Bien que leur localisation sur les terminaisons dopaminergiques ne soit pas établie, il est possible que, par une action à ce niveau, la prazosine s'oppose aux effets facilitateurs de la NA sur la libération de DA dans le NAcc.

Les études de Ventura et coll. (2003, 2007), chez la souris, montrent que (i) l'injection systémique d'amphétamine ou de cocaïne augmente les concentrations de NA dans le CxPF et de DA dans le NAcc, et (ii) la lésion des afférences noradrénergiques au CxPF bloque l'augmentation de DA dans le NAcc et l'acquisition d'une PPC induites par ces deux drogues. La transmission noradrénergique du CxPF semble donc nécessaire à la perception par les animaux des effets plaisants de la cocaïne et l'amphétamine, via une modulation de la libération de DA dans le NAcc.

En conclusion, il semble que la prazosine abolisse certains effets des drogues d'abus en bloquant l'augmentation de libération de DA qu'elles produisent dans le NAcc. Plusieurs niveaux d'action de la prazosine ont été envisagés plus haut. Le plus probable semble être les neurones glutamatergiques du CxPF qui projettent sur l'ATV. Un blocage des récepteurs α 1-adrénergiques du CxPF, en s'opposant à l'activation des efférences glutamatergiques, inhiberait le passage au mode de décharge phasique en bouffées des neurones dopaminergiques mésolimbiques et, par conséquent, préviendrait l'augmentation de la libération de DA dans le NAcc.

Cependant, ce mécanisme hypothétique repose sur des résultats obtenus avec des substances d'abus autres que la nicotine. Il serait donc intéressant de vérifier si les décharges en bouffées des neurones dopaminergiques de l'ATV et l'augmentation de libération de DA dans le NAcc induites par la nicotine sont également bloquées par la prazosine. Si c'est effectivement le cas, des expériences de microinjections de prazosine dans le CxPF, l'ATV et le NAcc devraient permettre de préciser à quel niveau elle agit.

2. Expression à court terme de la PPC

Nous avons mis en évidence que la prazosine s'oppose aussi à l'expression à court terme de la PPC induite par la nicotine. Dans la mesure où les stimuli environnementaux associés aux renforcements induisent par eux-mêmes une libération de DA dans le NAcc (Di Ciano et coll. 1998; Weiss et coll. 2000; Roitman et coll. 2004), des mécanismes peu différents de ceux qui sous-tendent les effets des drogues elles-mêmes, pourraient rendre compte de la modulation par la prazosine des effets appétitifs acquis par les stimuli associés à la nicotine.

Diverses études suggèrent que le glutamate joue un rôle clé dans la capacité des stimuli environnementaux à évoquer les effets plaisants de drogues d'abus. Ainsi, divers antagonistes glutamatergiques s'opposent à l'expression de la PPC induite par la morphine et l'amphétamine (Popik et Kolasiewicz 1999; Popik et Wrobel 2002; Herzig et coll. 2005; Dallimore et coll. 2006; Yonghui et coll. 2006).

Il a également été montré qu'un stimulus conditionné, qu'il ait été associé à un stimulus absolu aversif ou plaisant, pouvait par lui-même induire une augmentation de la libération de NA dans le CxPF (Feenstra et coll. 1999; Mingote et coll. 2004). Il est donc possible qu'au moment de la séance-test de PPC, l'exposition à la texture antérieurement associée à la nicotine induise une augmentation de libération de NA dans le CxPF. La stimulation des récepteurs $\alpha 1$ -adrénergiques par la NA libérée, en activant (probablement indirectement) les neurones glutamatergiques qui projettent sur l'ATV et le NAcc, participerait ainsi à l'augmentation de libération de DA dans le NAcc évoquée par les stimuli conditionnés. La suppression par la prazosine de l'expression à court terme de la PPC induite par la nicotine était cette hypothèse.

D. Différences entre l'expression à court et à long terme de la PPC induite par la nicotine

Les résultats du présent travail soulignent l'implication différentielle de plusieurs systèmes neurobiologiques dans l'expression à court terme *versus* l'expression à long terme de la PPC induite par la nicotine. De fait, alors que l'activation des récepteurs CB1 et $\alpha 1$ -adrénergiques est nécessaire pour que les stimuli environnementaux évoquent les effets plaisants de la nicotine lorsque le test a lieu 24 h après la dernière séance de conditionnement, il apparaît clairement que ce n'est plus le cas 3 semaines après la phase de conditionnement.

Avant de proposer quelques hypothèses qui pourraient rendre compte de ce phénomène, deux points particuliers doivent être évoqués ici.

(1) L'âge des rats au moment du test : Les cannabinoïdes semblent capables d'abolir des courants post-synaptiques excitateurs dans les tissus provenant d'animaux jeunes, mais sont sans effet sur ceux provenant d'animaux adultes (Alger 2002). L'inévitable différence d'âge des rats soumis à la séance-test immédiatement ou après un délai de 3 semaines (9 semaines *vs.* 12 semaines) pourrait être un facteur important responsable de la sensibilité différentielle au blocage des récepteurs CB1.

(2) La nouveauté relative de l'environnement expérimental au moment du test : La nouveauté est un facteur important qui influence l'activation des neurones dopaminergiques (Spanagel et Weiss 1999). Bien que les 8 séances de conditionnement assurent une habituation solide des rats à la procédure et au dispositif expérimental, la nouveauté relative de la configuration-test peut contribuer à la sensibilité de l'expression à court terme de la PPC au rimonabant et à la prazosine. En revanche, l'expression à long terme de la PPC est évaluée chez des rats préalablement soumis au « probe-test » (destiné à vérifier l'établissement de la PPC induite par la nicotine). On ne peut donc exclure que la familiarisation avec la configuration-test réduise les composantes endocannabinoïde et noradrénergique impliquées dans l'expression de la PPC induite par la nicotine.

1. Hypothèse du transfert de la trace mnésique

Le conditionnement de place nécessite une mise en mémoire de l'association entre les effets subjectifs de la drogue et l'environnement, ainsi que le rappel de cette trace mnésique lors de l'expression de ce comportement. Or, il est classiquement admis que des différences existent entre mémoire à court terme et mémoire à long terme, les théories de la mémoire peuvent donc nous éclairer pour comprendre les différences que nous avons observées entre le rappel à court et à long terme.

Une théorie classique de l'apprentissage suggère que le codage des informations perceptives, motrices et cognitives a lieu dans différentes aires corticales spécialisées, primaires et associatives, dites « modules corticaux ». A court terme, l'hippocampe intègrerait ces informations en une trace mnésique cohérente, du fait de la plasticité efficace et rapide des connexions cortico-hippocampiques. Au cours du temps, les réactivations successives de ces liens cortico-hippocampiques conduiraient à l'établissement progressif et/ou la consolidation de connexions cortico-corticales entre les différents modules, permettant ainsi à la trace mnésique de devenir indépendante de l'hippocampe. Cette mémoire à long terme serait très robuste. Ce « modèle », qui repose sur une plasticité rapide mais transitoire des connexions cortico-hippocampiques associée à des changements lents mais pérennes de l'intensité des connexions cortico-corticales, reste à confirmer, mais il est étayé par de nombreuses données de la littérature (pour revue voir Frankland et Bontempi 2005).

Par exemple, en utilisant une procédure de transmission sociale de préférence de nourriture chez le rat, Ross et coll. (2006) montrent que l'inactivation de l'hippocampe 24 heures, mais pas 21 jours, après l'apprentissage abolit le rappel à long terme de cette mémoire. L'activation de c-fos dans l'hippocampe observée à court terme décroît progressivement avec le temps, alors qu'à l'inverse, plusieurs régions du cortex présentent une augmentation progressive de l'activation c-fos.

Il a également été montré que l'hippocampe dorsal était nécessaire à l'acquisition du comportement de PPC (Ferbinteanu et McDonald 2001; Meyers et coll. 2003) et à l'expression à court terme d'une PPC induite par la cocaïne (Meyers et coll. 2006). De façon similaire, l'amygdale paraît nécessaire à l'acquisition et à l'expression à court terme de la PPC induite par la nourriture (Holahan 2005), le sucre (Everitt et coll. 1991) ou l'amphétamine (Hiroi et White 1991; Hsu et coll. 2002). Il est surprenant de constater que les effets de telles lésions sur

l'expression à plus long terme du conditionnement de place n'ont, à notre connaissance, fait l'objet d'aucune étude. Néanmoins, sur la base des données résumées ci-dessus, il est possible de faire l'hypothèse que, avec le temps, le rappel des informations nécessaires à l'expression de la PPC devient indépendant de l'intégrité de l'hippocampe et/ou de l'amygdale.

Une interaction, directe ou indirecte, du rimonabant et de la prazosine avec les connexions corticales de l'hippocampe et/ou de l'amygdale, pourrait constituer le substratum de leur effet délétère sur le rappel à court terme de l'information nécessaire à l'expression de la PPC. D'ailleurs, des données de la littérature montrent que les endocannabinoïdes et la NA semblent impliqués dans des phénomènes de plasticité dans l'hippocampe et l'amygdale (Tachibana et coll. 2004; Chevaleyre et coll. 2006; Vouimba et coll. 2007).

Le rappel à plus long terme, devenu indépendant de ces 2 structures, serait ainsi épargné.

2. Hypothèse de la reconsolidation de la trace mnésique

Certaines données de la littérature nous permettent de formuler une autre hypothèse qui n'exclut pas la précédente.

Ainsi, Miller et Marshall (2005) ont montré, dans une procédure de PPC induite par la cocaïne, que l'inhibition pharmacologique de la kinase qui phosphoryle ERK1/2 (MEK) dans le core du NAcc au moment du test (réalisé 24 h après la dernière séance de conditionnement) ou immédiatement après cette séance-test empêche l'expression à plus long terme (48 h ou 2 semaines après le conditionnement) de la préférence de place.

Les auteurs font ainsi l'hypothèse selon laquelle l'exposition aux stimuli associés à la cocaïne lors du premier test entraîne une reconsolidation de l'information nécessaire à l'expression à plus long terme de la PPC induite par la cocaïne. Cette hypothèse repose sur diverses données de la littérature qui indiquent que la réactivation d'une trace mnésique peut induire une phase labile qui nécessite un *processus* actif pour stabiliser cette trace. Une telle « reconsolidation », qui semble être une composante importante dans les mécanismes de mémoire à long terme, nécessite une synthèse protéique *de novo* (pour revue, voir Tronson et Taylor 2007).

Ce phénomène de reconsolidation a été observé pour la mémoire épisodique chez l'Homme (Hupbach et coll. 2007), ainsi que pour différents types de mémoire chez l'animal, telle que la mémoire spatiale (piscine de Morris) (Artinian et coll. 2007), de reconnaissance (reconnaissance d'objet) (Rossato et coll. 2007), de peur conditionnée (Debiec et LeDoux 2006), et également dans la mémoire associée aux drogues d'abus (Lee et coll. 2005; Miller et Marshall 2005; Lee et coll. 2006; Valjent et coll. 2006).

La reconsolidation d'une mémoire de type spatial impliquerait l'hippocampe (Artinian et coll. 2007; Rossato et coll. 2006) alors que la reconsolidation des mémoires associées à des renforcements positifs impliquerait, outre l'hippocampe, le core du NAcc et l'amygdale (Lee et coll. 2005; Miller et Marshall 2005; Lee et coll. 2006; Milekic et coll. 2006).

Cette théorie pourrait rendre compte de certains des résultats que nous avons obtenus. En effet, pour évaluer l'expression à long terme de la PPC induite par la nicotine, une 1^{ère} séance-test a toujours été réalisée, sans traitement, 24 h après la dernière séance de conditionnement. Ce « probe-test » pourrait ainsi avoir entraîné une « reconsolidation » de la trace mnésique de l'apprentissage associatif, permettant une expression à long terme extrêmement robuste et résistante aux différents traitements pharmacologiques pourtant capables de bloquer l'expression de la PPC lors d'une 1^{ère} séance- test.

3. Hypothèse de l'implication d'une plasticité synaptique dépendante des endocannabinoïdes

Les résultats de l'Article 2 indiquent que les récepteurs CB1, qui semblent indispensables à l'acquisition et à l'expression à court terme de la PPC induite par la nicotine, perdent progressivement leur rôle pendant les 3 semaines post-conditionnement. En revanche, l'administration quotidienne post-apprentissage de rimonabant permet à une injection aiguë supplémentaire de conserver sa capacité à s'opposer à l'expression de la PPC induite par la nicotine, indiquant que, dans ces conditions, l'expression du conditionnement dépend toujours d'une étape assurée par le système endocannabinoïde.

Ces résultats suggèrent qu'une plasticité synaptique se met en place progressivement au cours des 3 semaines qui suivent le premier test, avec pour résultat final une expression à long terme de la PPC totalement indépendante du système endocannabinoïde. Ils indiquent en outre que la plasticité dépend de l'intégrité du système endocannabinoïde pendant cette période.

De façon intéressante, des phénomènes de plasticité (LTD au niveau de synapses GABAergiques) qui dépendent des endocannabinoïdes ont été décrits dans des structures cérébrales impliquées dans l'appétence pour les drogues et dans les processus mnésiques, à savoir le NAcc, l'hippocampe et l'amygdale (pour revue, voir Chevalleyre et coll. 2006).

De plus, l'exposition à des stimuli environnementaux associés à la nicotine ou la cocaïne induit une augmentation de l'expression, respectivement, de *arc* et *zif 268*, —2 gènes précoces impliqués dans les phénomènes de plasticité synaptique et de mémoire à long terme (Davis et coll. 2003; Schiltz et coll. 2005)— entre autres dans le NAcc et l'amygdale (Hall et coll. 2001; Schiltz et coll. 2005). Il est donc possible que les phénomènes de plasticité qui dépendent des endocannabinoïdes contribuent au remodelage des circuits impliqués dans le passage d'une expression CB1-dépendante (à court terme) vers une expression CB1-indépendante (à long terme).

Le rimonabant, en perturbant ces phénomènes de plasticité lors de la période post-acquisition, empêcherait le développement de la reconsolidation de la trace mnésique, maintenant ainsi l'expression de la PPC sous la dépendance des mêmes systèmes qu'à court terme.

E. Extinction et réinstallation de la PPC induite par la nicotine

La préférence de place conditionnée induite par la nicotine, telle qu'elle est obtenue dans la présente procédure, est très difficile à éteindre. A l'issue de 12 séances de déconditionnement actif, à peine 50% des rats semblent être déconditionnés. En sélectionnant les rats dont les scores sont inférieurs à l'indifférence, nous avons tout de même réussi à mettre en évidence

qu'une dose test de nicotine (0,06 mg/kg) était capable de réinstaller l'attraction pour la texture antérieurement associée à la nicotine.

De façon surprenante, à notre connaissance une seule étude a été publiée concernant cet aspect du comportement de recherche de drogue. Avec des conditions expérimentales très différentes des nôtres, et après une extinction complète obtenue en très peu de séances, cette étude indique également une réinstallation par une dose-test de nicotine de la PPC induite par la nicotine (Biala et Budzynska 2006).

1. Extinction

Dans la présente étude, 12 séances de déconditionnement actif n'éteignent pas totalement, mais atténuent, la PPC induite par la nicotine. Les stimuli environnementaux initialement associés à la nicotine perdent donc de leur attractivité après des associations répétées à la solution saline, au moins pour une partie des animaux.

Le déconditionnement représente en fait un nouvel apprentissage (les stimuli antérieurement associés à la nicotine ne sont plus accompagnés d'effets plaisants) qui conduit à l'extinction de la mémoire de l'association initiale par un processus de consolidation du nouvel apprentissage. Nader (2003) et Dudai (2004) ont proposé l'hypothèse de la « dominance de la trace », selon laquelle une compétition existerait pour les « ressources de plasticité cellulaire » nécessaires à la consolidation de la mémoire récente d'extinction et à la reconsolidation de la mémoire ancienne d'association entre environnement et effets de la drogue. Si tel est le cas, les résultats que nous avons obtenus suggèrent que cette compétition favorise plutôt la reconsolidation chez certains rats et l'extinction chez les autres.

2. Réinstallation par une dose-test de nicotine

Chez les rats déconditionnés (chez qui l'extinction semble avoir pris le pas sur la reconsolidation), l'administration d'une dose-test de nicotine réinstalle l'attrait pour la texture antérieurement associée à la nicotine. La « trace » de cette mémoire initialement acquise est donc toujours présente et peut être réactivée.

Le fait que la réactivation se mette en place tardivement au cours du test est en accord avec certaines données de la littérature. Ainsi, une étude de Mueller et coll. (2002) indique qu'après extinction du conditionnement, une réactivation de la préférence des rats pour l'environnement « morphine » par une dose-test de morphine administrée immédiatement avant le test n'est manifeste que lorsque celui-ci dure 30 min, mais non 15 min. En revanche, si la dose-test de morphine est injectée 15 min avant la séance, la préférence se manifeste de façon équivalente pendant les 15 premières et les 15 dernières minutes de test. Ces résultats, comme les nôtres, indiquent qu'un certain délai est nécessaire pour que la dose-test déclenche les effets susceptibles de réactiver efficacement l'attraction des rats pour l'environnement initialement associé à la drogue.

Le blocage des récepteurs glutamatergiques métabotropiques de type 1 ou des récepteurs dopaminergiques D3 s'oppose à la réinstallation, par une dose-test, du comportement d'auto-administration de nicotine (Andreoli et coll. 2003; Dravolina et coll. 2007). Si les mécanismes qui président à la réinstallation de l'auto-administration et de la PPC sont les mêmes, il est possible que la dose-test de nicotine induise une augmentation des transmissions glutamatergiques et dopaminergiques nécessaires à la réactivation de la PPC.

La dose-test de nicotine pourrait ainsi induire les mêmes mécanismes pendant la réactivation du comportement éteint que l'administration de nicotine pendant le conditionnement. Dans ce cadre, il serait intéressant d'étudier l'effet du rimonabant et de la prazosine sur la réactivation de la PPC.

F. État fonctionnel des récepteurs CB1, D2 et 5-HT_{1A}

Comme nous l'avons vu, sept injections de nicotine à la dose de 0,06 mg/kg (3 en prétraitement et 4 pendant le conditionnement) ne semblent modifier la fonctionnalité ni des récepteurs CB1, mesurée 72 h ou 3 semaines après la dernière injection de nicotine, ni des récepteurs D2 et 5-HT_{1A}, évaluée 48 h après cette dernière injection.

1. Fonctionnalité des récepteurs CB1

La nicotine induit une augmentation de libération d'endocannabinoïdes dans des structures limbiques (Gonzalez et coll. 2002a) et les récepteurs CB1 semblent particulièrement plastiques. En effet, l'administration chronique d'agonistes cannabinoïdes exogènes ou endogènes diminue le nombre des récepteurs CB1 et/ou leur liaison à leurs protéines G dans de nombreuses structures cérébrales (Breivogel et coll. 1999; Rubino et coll. 2000; Rubino et coll. 2000). Il était donc légitime d'évaluer la fonctionnalité des récepteurs CB1 chez les rats soumis au conditionnement de place à la nicotine.

En fait, peu d'études ont exploré les effets de la nicotine sur la fonctionnalité des récepteurs CB1. L'une d'elles indique néanmoins qu'en administration subchronique chez le rat, la nicotine (0,4 mg/kg/jour x 9 jours) entraîne une diminution dans le striatum et une augmentation dans l'hippocampe du nombre de récepteurs CB1 (Marco et coll. 2007). Une autre étude, chez des souris porteuses de minipompes délivrant environ 25 mg/kg/jour de nicotine pendant 6 jours, n'a toutefois pas mis en évidence de modification du nombre ou du couplage des récepteurs CB1 à leurs protéines G dans de nombreuses structures cérébrales (Balerio et coll. 2004).

La nicotine, à la dose et au rythme d'administration employés ici, n'a pas modifié la fonctionnalité des récepteurs CB1 dans les structures cérébrales étudiées. Cependant, l'extraction des cerveaux se fait 72 h après la dernière injection de nicotine, on ne peut donc exclure la possibilité que des modifications de l'état fonctionnel des récepteurs CB1 aient lieu de façon transitoire dans un délai bref après l'injection de nicotine, et que celles-ci ne soient plus présentes au moment du sacrifice des rats.

De plus, le rimonabant, qu'il soit injecté avant la nicotine pendant le conditionnement ou administré quotidiennement pendant 3 semaines post-conditionnement, ne modifie pas non plus la fonctionnalité des récepteurs CB1 dans les structures considérées. Ce résultat est cohérent avec les données de la littérature qui indiquent que l'administration de rimonabant (5mg/kg/jour) pendant 4 jours ne modifie pas les niveaux d'AMPc et de PKA dans plusieurs structures cérébrales, ce qui semble indiquer qu'un tel traitement n'affecte pas les mécanismes de signalisation intracellulaire de ces récepteurs (Rubino et coll. 2000).

2. Fonctionnalité des récepteurs D2

Des polymorphismes du récepteur D2 ont été associés au tabagisme et à l'augmentation du désir compulsif de tabac après exposition à des stimuli associés à la cigarette chez certaines populations de fumeurs (Spitz et coll. 1998; Erblich et coll. 2005).

Quelques études chez le rat rapportent des modifications de la fonctionnalité des récepteurs D2 consécutives à l'administration chronique de nicotine. Ainsi, la dose de 3 mg/kg/jour pendant 4 semaines entraîne une augmentation des taux d'ARNm du récepteur D2 dans le caudé putamen et le NAcc (Bahk et coll. 2002). Pour Fung et coll. (1996) cette dose de nicotine administrée pendant 14 jours diminue le Bmax des récepteurs D2 dans le NAcc, sans modifier le Kd (évalués par mesure de la liaison de [³H]-spipérone, antagoniste D2). Enfin Janson et coll. (1992) rapportent une réduction à la fois du Bmax et du Kd des récepteurs D2 dans le NAcc et les tubercules olfactifs (évalués par mesure de la liaison de [³H]-NPA), après un traitement par la nicotine (0,125 mg/kg/j x 14 jours).

Dans les conditions expérimentales du conditionnement de place, la fonctionnalité des récepteurs D2 du striatum, mesurée 72 h après la dernière injection de nicotine, n'est pas modifiée par les sept injections de nicotine réalisées avant et pendant le conditionnement.

Des liens physiques et fonctionnels étroits semblent exister entre récepteurs CB1 et D2, notamment au niveau du striatum (Meschler et Howlett 2001; Centonze et coll. 2004; Houchi et coll. 2005; Kearn et coll. 2005). Par exemple, le blocage chronique des récepteurs D2 entraîne une augmentation de la densité non seulement des récepteurs D2 mais aussi des récepteurs CB1 dans le striatum (Andersson et coll. 2005). Des souris dépourvues de récepteurs CB1 présentent une augmentation de la densité des récepteurs D2 dans cette structure (Houchi et coll. 2005).

Ici toutefois, le blocage des récepteurs CB1 par le rimonabant (3 mg/kg) avant chaque séance de conditionnement « avec nicotine » n'a pas modifié la fonctionnalité des récepteurs D2 dans le striatum. Comme pour les études fonctionnelles précédentes, les doses utilisées, le nombre et le rythme des administrations, et surtout les délais entre la dernière injection, le test comportemental, puis le sacrifice, sont autant de facteurs possibles, responsables de ce résultat négatif.

3. Fonctionnalité des récepteurs 5-HT_{1A}

Comme nous l'avons vu dans l'Introduction (p.94), la nicotine peut modifier les taux d'ARNm ainsi que le nombre de récepteurs 5-HT_{1A} dans certaines conditions. Cependant, nous n'avons observé aucune modification de la fonctionnalité de ces récepteurs dans le NRD et l'hippocampe à l'issue des sept injections de nicotine (0,06 mg/kg) délivrées en prétraitement et lors du conditionnement de place.

G. *Activité locomotrice*

L'activité locomotrice des rats pendant les séances de conditionnement « avec nicotine » est augmentée significativement par rapport aux performances des animaux recevant la solution saline, ce qui est en accord avec les données de la littérature (Ksir 1994; Domino 2001). Il n'y a pas d'effet moteur rémanent au cours des séances de conditionnement intercalées « sans nicotine ».

De nombreuses données indiquent que la réponse locomotrice aux psychostimulants, dont la nicotine, est sensibilisée après des administrations chroniques de la drogue (voir références dans l'Introduction, [page 43](#)). Nous n'avons pas observé une telle sensibilisation de l'hyperactivité motrice. Bien que l'on ne puisse totalement exclure qu'une sensibilisation se soit développée pendant le court prétraitement, la dose faible de nicotine utilisée pour induire le comportement de PPC, le rythme des injections, le fait que les rats soient exposés à la même enceinte alternativement avec et sans nicotine, sont autant de facteurs qui peuvent rendre compte de l'absence de sensibilisation aux effets moteurs de la nicotine.

Ce résultat souligne le fait que l'établissement d'un conditionnement de place robuste, reproductible et de longue durée n'est pas subordonné au développement d'une sensibilisation aux effets de la drogue.

L'administration systémique de nicotine stimule la voie dopaminergique mésolimbique à des doses qui augmentent l'activité locomotrice (Clarke et coll. 1988; Di Chiara et Imperato 1988; Benwell et Balfour 1992) et divers antagonistes dopaminergiques réduisent l'hyperactivité

induite par la nicotine (Corrigall et Coen 1991). De plus, les effets locomoteurs de la nicotine sont bloqués chez des animaux porteurs d'une lésion (6-OH-DA) des systèmes dopaminergiques au niveau du NAcc (Clarke et coll. 1988) ou de l'ATV (Louis et Clarke 1998). Il semble donc que l'augmentation de l'activité locomotrice par la nicotine soit liée, comme ses effets plaisants, à une activation des neurones dopaminergiques mésolimbiques et donc à une libération de DA dans le NAcc.

1. nAChRs impliqués

L'augmentation d'activité locomotrice induite par la nicotine est bloquée par la mécamylamine et par la DH- β -E, indiquant une implication préférentielle des nAChRs contenant la sous-unité β 2. L'augmentation d'activité locomotrice induite par la nicotine est bloquée par l'infusion locale de DH- β -E dans l'ATV (Corrigall et coll. 1994), ce qui suggère que cet effet dépend probablement des nAChRs β 2* présents sur les corps cellulaires des neurones dopaminergiques de l'ATV, dont la stimulation entraîne une augmentation de libération de DA dans le NAcc (Maskos et coll. 2005).

2. Implication des récepteurs CB1 et α 1-adrénergiques

Les effets moteurs de la nicotine sont inhibés lorsque les récepteurs α 1-adrénergiques et CB1 sont bloqués respectivement par la prazosine et le rimonabant². Dans la mesure où ces 2 molécules s'opposent aussi aux effets plaisants de la nicotine, ces résultats suggèrent que des mécanismes semblables sont mis en jeu dans les effets appétitifs et moteurs de la nicotine. Les hypothèses développées précédemment pour rendre compte de l'action de la prazosine et du rimonabant sur la PPC induite par la nicotine (via les différents niveaux de modulation du système dopaminergique mésolimbique) peuvent donc être appliquées à leur effet sur l'augmentation d'activité motrice induite par la nicotine.

² Les effets du rimonabant ne sont toutefois pas sélectifs puisque la dose efficace vis-à-vis des de l'hyperactivité induite par la nicotine réduit également la locomotion en absence de nicotine.

H. Mécanisme d'action de la nicotine au cours du conditionnement de place

A partir de nos résultats et des données de la littérature, nous allons tenter de proposer un « mécanisme » qui peut rendre compte des effets de la nicotine dans les différentes phases de la procédure de PPC.

1. Acquisition de la PPC induite par la nicotine

La semaine qui précède le conditionnement, les rats sont soumis à une légère restriction alimentaire et reçoivent 3 injections de nicotine à la dose qui sera celle du conditionnement. Ainsi que nous l'avons développé plus haut (page 188), ces conditions particulières semblent mettre les neurones dopaminergiques dans un « état favorable » à leur activation.

Lors du conditionnement, la nicotine active les neurones dopaminergiques de l'ATV ainsi « sensibilisés », via la stimulation des nAChRs $\beta 2^*$ (probablement de type $\alpha 4\beta 2$) présents au niveau des corps cellulaires de ces neurones. En favorisant le mode de décharges en bouffées, la nicotine induirait ainsi une augmentation de libération de DA dans le NAcc, préférentiellement dans le shell. La stimulation des nAChRs $\beta 2^*$ présents sur les terminaisons dopaminergiques du NAcc pourrait également participer à la libération locale de DA induite par la nicotine. Ce second niveau d'action ne semble toutefois pas indispensable aux effets renforçants de la nicotine. De fait, chez des souris $\beta 2^{-/-}$, la réexpression de la sous-unité $\beta 2$ dans la seule ATV est suffisante pour restaurer le comportement d'auto-administration de nicotine (Maskos et coll. 2005). En outre, l'injection locale de nicotine dans l'ATV induit un comportement d'auto-administration, ce qui n'est pas le cas si elle est infusée dans le NAcc (Corrigall et coll. 1994).

Ainsi que nous l'avons rappelé plus haut (page 193), les décharges en bouffées des neurones dopaminergiques mésolimbiques favorisent la synthèse et la libération d'endocannabinoïdes au niveau des corps cellulaires dans l'ATV (Riegel et Lupica 2004). Par un mécanisme trans-synaptique rétrograde et l'activation de récepteurs CB1 portés par les neurones GABAergiques et glutamatergiques afférents aux neurones dopaminergiques, ces endocannabinoïdes limitent la

libération à la fois de GABA et de glutamate (Szabo et coll. 2002; Melis et coll. 2004). Deux phénomènes opposés sont donc susceptibles d'influencer l'activité des neurones dopaminergiques de l'ATV, une « désinhibition » résultant de la réduction du contrôle inhibiteur GABAergique, et une atténuation du contrôle excitateur exercé par les afférences glutamatergiques. Les résultats de la littérature indiquent que, globalement, la résultante est en faveur d'une activation et donc d'une augmentation de libération de DA dans le NAcc.

Un 2^{ème} niveau de contrôle possible de l'activité des neurones dopaminergiques mésolimbiques semble exister. La DA libérée dans le NAcc, en activant les récepteurs D2 portés par les MSNs, peut induire la synthèse et la libération d'endocannabinoïdes par ces neurones. La stimulation, par les endocannabinoïdes ainsi libérés, des récepteurs CB1 présents sur les terminaisons des neurones glutamatergiques qui proviennent du CxPF, en inhibant la libération de glutamate, désactive les MSNs et conduit donc à une levée du contrôle inhibiteur exercé par ceux-ci sur les neurones dopaminergiques de l'ATV. Cet effet se traduit par une activation de l'activité électrique de ces neurones, contribuant ainsi à l'augmentation de libération de DA dans le NAcc induite par la nicotine.

Un 3^{ème} niveau de contrôle de l'activité des neurones dopaminergiques semble exister dans le CxPF. Les terminaisons des neurones noradrénergiques dans le CxPF portent des nAChRs $\beta 2^*$, dont l'activation par la nicotine semble favoriser la libération de NA dans cette structure. La NA ainsi libérée, en stimulant les récepteurs $\alpha 1$ -adrénergiques présents sur les neurones glutamatergiques qui projettent sur l'ATV, favoriserait le mode de décharges en bouffées des neurones dopaminergiques mésolimbiques et donc une augmentation de libération de DA dans le NAcc. (Figure 4.3).

Les résultats que nous avons obtenus indiquent que tous ces niveaux d'action de la nicotine (dépendants des nAChRs $\beta 2^*$, des récepteurs CB1 et des récepteurs $\alpha 1$ -adrénergiques) sont nécessaires à la perception par les rats des effets plaisants de cette drogue. En effet, les animaux ne manifestent pas d'attraction pour les stimuli associés à la nicotine lorsque l'un ou l'autre de ces récepteurs est bloqué pendant le conditionnement. Dans la mesure où chacun de ces niveaux d'action semblent contribuer à une facilitation de la transmission de DA dans le NAcc, il est possible de faire l'hypothèse selon laquelle les concentrations de DA devraient atteindre un seuil critique dans cette structure pour qu'un effet plaisant soit observé ou pour que s'établisse correctement l'association entre effets plaisants de la nicotine et environnement.

2. Expression de la PPC induite par la nicotine

Nous avons rappelé plus haut (page 191) que plusieurs événements neurobiologiques induits par les drogues d'abus pouvaient également être observés lors de la seule présentation des stimuli qui ont été explicitement associés à ces drogues. De nombreuses études indiquent que c'est le cas pour la libération de DA dans le NAcc, qui semble toutefois affecter préférentiellement le core (Di Ciano et coll. 1998; Ito et coll. 2000; Weiss et coll. 2000; Roitman et coll. 2004). La présentation d'un stimulus conditionnel antérieurement annonciateur de la délivrance d'une récompense induit une libération de NA dans le CxPF (Mingote et coll. 2004). De plus, le CxPF et les voies glutamatergiques cortico-sous-corticales, via la libération de glutamate dans le NAcc et l'ATV, semblent particulièrement importants dans la recherche de drogue induite par les stimuli environnementaux qui lui ont été associés (Di Ciano et Everitt 2001; Bossert et coll. 2004; Rebec et Sun 2005; Bossert et coll. 2006).

Dans la procédure de conditionnement de place, le blocage des récepteurs $\alpha 1$ -adrénergiques ou CB1 s'oppose à l'expression à court terme de la PPC induite par la nicotine. On peut donc proposer l'hypothèse suivante : l'exposition aux stimuli récemment associés à la nicotine (la texture de conditionnement) pendant la séance-test favorise la libération de NA dans le CxPF ; celle-ci, en stimulant les récepteurs $\alpha 1$ -adrénergiques, active les neurones glutamatergiques qui projettent sur l'ATV et/ou le NAcc. Par des mécanismes équivalents à ceux qui ont été envisagés pour l'acquisition du conditionnement (libération de glutamate et d'endocannabinoïdes dans les deux structures), cet effet pourrait conduire à une augmentation de la libération de DA dans le core du NAcc. Ce phénomène, prédictif des effets plaisants de la nicotine, pourrait ainsi rendre compte de l'attraction exercée sur les rats par la texture associée à la nicotine.

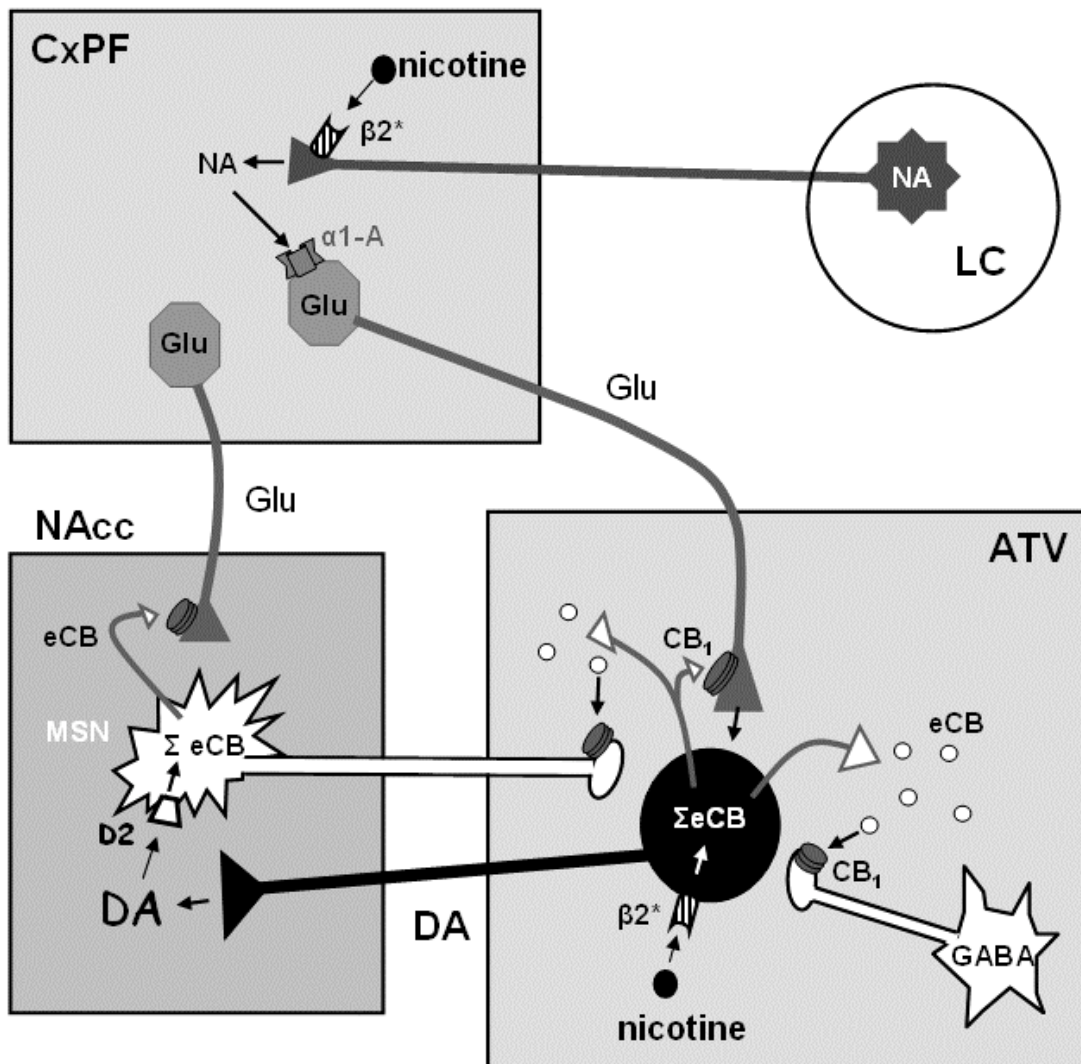


Figure 4.3: Schéma récapitulatif des implications possibles de la NA et des eCB dans l'activation du système dopaminergique mésolimbique par la nicotine.

La nicotine contribue à l'activation des neurones dopaminergiques via respectivement les eCB au niveau de l'ATV et la NA dans le CxPF.

Le rimonabant et la prazosine, en bloquant les effets des eCB et de la NA, peuvent donc réduire la libération de DA dans le NAcc induite par la nicotine ou les stimuli environnementaux qui lui ont été associés.

3. Différences entre l'expression à court et long terme de la PPC

Afin de cerner les mécanismes manifestement différents qui sous-tendent l'expression à court et à long terme de la PPC induite par la nicotine, nous allons tenter de relier les diverses théories envisagées et d'en extraire un schéma cohérent avec l'ensemble de nos résultats et les données de la littérature.

Selon l'hypothèse que nous venons d'évoquer, lors de la 1^{ère} séance-test de PPC, réalisée 24 h après la dernière séance de conditionnement, la texture associée à la nicotine évoque les effets plaisants de la nicotine, ou en prédit la survenue, ce qui rend compte de l'allongement du temps passé sur cette texture. Selon la théorie proposée par Miller et Marshal (2005), cette réexposition au contexte induit une « reconsolidation » de la trace mnésique de l'association « effets plaisants-texture de sol », possiblement via la mise en place de plasticités synaptiques, l'activation de gènes précoces (tels que *arc*, *zif268* et *elk-1*) et des synthèses protéiques *de novo* dans le NAcc, l'hippocampe et l'amygdale (voir p. 198).

Dans les 3 semaines suivant le « probe-test » et la reconsolidation, selon le « modèle » du transfert mnésique [qui repose sur une plasticité synaptique rapide et transitoire de connexions cortico-sous-corticales, associée à des changements lents mais pérennes de l'intensité de connexions cortico-corticales (voir p. 197)], une seconde phase de plasticité se développerait progressivement, rendant l'expression du conditionnement de place indépendante d'un contrôle endocannabinoïde et adrénérgique (□1). Dans la mesure où des administrations quotidiennes de rimonabant pendant cette période perturbent la mise en place de ce processus, cette phase tardive de plasticité synaptique semble subordonnée à l'activation des systèmes endocannabinoïdes.

A long terme, la trace mnésique des associations entre effets de la nicotine et texture de sol est extrêmement robuste (visible pendant au moins 12 semaines) et résistante aux traitements qui, avant reconsolidation, sont actifs pour bloquer l'expression du conditionnement. Les données de la littérature laissent à penser que cette expression à long terme peut être abolie par des manipulations pharmacologiques au moment de la reconsolidation (celle-ci induisant une phase labile, sensible entre autres au blocage de la synthèse protéique et à des agents amnésiants).

L'étude des conséquences sur le rappel à long terme (2^{ème} séance-test), de l'administration au moment de la reconsolidation (1^{ère} séance-test) de composés actifs pour abolir la reconsolidation de mémoires associées à la cocaïne (par exemple un inhibiteur de l'activation de ERK) devrait permettre d'évaluer l'existence ou non de ce phénomène dans le cadre de la PPC induite par la nicotine.

4. Réinstallation de la PPC

Enfin, comme nous l'avons souligné dans la discussion portant sur l'extinction et la réinstallation de la PPC, la réactivation du comportement de recherche de nicotine par une dose-test semble dépendre d'une activation des systèmes glutamatergique et dopaminergique.

Le système noradrénergique du CxPF pourrait également participer à ce phénomène. En effet, une étude chez le rat montre qu'une déplétion en NA dans le CxPF bloque, après extinction active, la réactivation par une dose-test de morphine de la PPC induite par cette substance (Ventura et coll. 2005). De façon similaire, la neurotransmission noradrénergique dans le CxPF pourrait participer à la réactivation de la PPC par une dose test de nicotine, que nous avons observée (après extinction chez une partie des animaux).

Au total, il est possible que la dose-test de nicotine soit à l'origine d'une augmentation de libération de DA dans le NAcc via des mécanismes identiques à ceux en vigueur au cours de l'acquisition : action de la nicotine à la fois directe sur les neurones dopaminergiques et indirecte, impliquant d'une part les endocannabinoïdes, et d'autre part la stimulation des récepteurs $\alpha 1$ -adrénergiques. L'étude des effets du rimonabant et de la prazosine sur la réactivation de la PPC par une dose-test de nicotine devrait permettre de vérifier ce point.

III. Perspectives

Certaines études devraient permettre de vérifier quelques unes des hypothèses que nous avons relayées ou proposées ici.

Dans un premier temps, afin d'évaluer l'implication du système dopaminergique mésolimbique dans les différentes phases de la procédure de PPC induite par la nicotine, il serait intéressant d'étudier :

si une injection de nicotine (0,06 mg/kg), chez des rats soumis à une légère restriction alimentaire et qui ont reçu trois injections de nicotine à la même dose la semaine précédente, induit une augmentation de libération de DA dans le NAcc.

si le fait de placer l'animal, 24 heures ou 3 semaines après la dernière séance de conditionnement, sur la texture antérieurement associée à la nicotine induit une augmentation de libération de DA dans le NAcc.

Ces données peuvent être recueillies par les techniques de microdialyse ou voltamétrie (technique qui présente une meilleure résolution spatiale et temporelle, mais qui ne garantit pas que le signal détecté correspond bien à la DA) dans le NAcc (et éventuellement dans le core et le shell) de rats vigiles.

Cette étude devrait permettre de déterminer si la nicotine (0,06 mg/kg) et/ou les stimuli environnementaux qui lui ont été associés (i) induisent une augmentation de libération de DA dans le NAcc (et dans quelle région, core ou shell) et (ii) si le système dopaminergique mésolimbique est impliqué de façon différente à court et à long terme après le conditionnement. Il faudrait aussi vérifier l'effet du rimonabant et de la prazosine sur les éventuelles augmentations de libération de DA dans le NAcc.

Dans un deuxième temps, pour évaluer la cible d'action primaire du rimonabant et de la prazosine sur l'acquisition et l'expression à court terme de la PPC induite par la nicotine, il serait important d'étudier l'effet de microinjections de ces 2 composés dans les différentes structures potentiellement impliquées dans le comportement de PPC (NAcc, ATV, CxPF) lors

des 2 phases du conditionnement. Cette étude pourrait ainsi fournir des précisions quant aux mécanismes neurobiologiques qui sous-tendent leurs effets.

De plus, une étude récente réalisée dans des conditions identiques aux nôtres a montré que le conditionnement à la nicotine (0,06 mg/kg) induit une accumulation de Δ FosB dans le NAcc, corrélée positivement au degré de préférence exprimée par les rats (Mombereau et coll. 2007). Il serait donc intéressant d'évaluer l'effet de l'administration de rimonabant ou de prazosine lors de l'acquisition de la PPC induite par la nicotine sur cette accumulation de Δ FosB.

Les hypothèses de reconsolidation et/ou de transfert de la trace mnésique de l'association entre les effets de la nicotine et l'environnement associé ouvrent la voie à de nombreuses possibilités d'études. Il faudrait ainsi étudier :

Si, lors de l'expression à court terme de la PPC induite par la nicotine, une activation de ERK a lieu dans le NAcc [comme c'est le cas lors de l'expression d'une PPC induite par la cocaïne (Miller et Marshall 2005)] et si un blocage de l'activation de ERK au moment du probe-test s'oppose à l'expression à long terme de la PPC induite par la nicotine.

Si l'expression de la PPC implique des structures cérébrales différentes lorsqu'elle est examinée à court terme ou à long terme. Pour ce faire, deux démarches sont possibles :

(i) étudier les conséquences de l'inactivation transitoire de certaines structures cérébrales (par microinjections de lidocaïne dans l'hippocampe, l'amygdale et le cortex préfrontal et cingulaire) sur l'expression à court et à long terme de la PPC induite par la nicotine.

(ii) évaluer et comparer les différentes structures cérébrales activées à ces deux temps post-acquisition, par la détection de marqueurs de l'activité neuronale tels que *c-fos*.

Enfin, il faudrait approfondir les études sur l'extinction et la réinstallation de la PPC induite par la nicotine. En effet, il apparaît nécessaire de déterminer les conditions requises pour obtenir une extinction globale et relativement rapide de la PPC induite par la nicotine afin d'obtenir un modèle fiable de réinstallation par une dose test de nicotine (et éventuellement par d'autres facteurs, comme par exemple un stress aigu), et ainsi pouvoir étudier l'implication de différents systèmes neurobiologiques, notamment endocannabinoïde et noradrénergique, dans ce comportement.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références Bibliographiques

-A-

- Aantaa R, Matjamaki A, Scheinin M (1995) Molecular pharmacology of alpha 2-adrenoceptor subtypes. *Ann Med* 27: 439-49
- Abrous DN, Adriani W, Montaron MF, Aurousseau C, Rougon G, Le Moal M, Piazza PV (2002) Nicotine self-administration impairs hippocampal plasticity. *J Neurosci* 22: 3656-62
- Acquas E, Carboni E, Leone P, Di Chiara G (1988) 5-HT₃ receptors antagonists block morphine- and nicotine- but not amphetamine-induced place-preference conditioning. *Pharmacol Res Commun* 20: 1113-4
- Acquas E, Carboni E, Leone P, Di Chiara G (1989) SCH 23390 blocks drug-conditioned place-preference and place-aversion: anhedonia (lack of reward) or apathy (lack of motivation) after dopamine-receptor blockade? *Psychopharmacology (Berl)* 99: 151-5
- Acquas E, Pisanu A, Marrocu P, Di Chiara G (2000) Cannabinoid CB(1) receptor agonists increase rat cortical and hippocampal acetylcholine release in vivo. *Eur J Pharmacol* 401: 179-85
- Adams IB, Compton DR, Martin BR (1998) Assessment of anandamide interaction with the cannabinoid brain receptor: SR 141716A antagonism studies in mice and autoradiographic analysis of receptor binding in rat brain. *J Pharmacol Exp Ther* 284: 1209-17
- Adriani W, Spijker S, Deroche-Gamonet V, Laviola G, Le Moal M, Smit AB, Piazza PV (2003) Evidence for enhanced neurobehavioral vulnerability to nicotine during periadolescence in rats. *J Neurosci* 23: 4712-6
- Ahmed SH, Koob GF (1998) Transition from moderate to excessive drug intake: change in hedonic set point. *Science* 282: 298-300
- Akaike A, Tamura Y, Yokota T, Shimohama S, Kimura J (1994) Nicotine-induced protection of cultured cortical neurons against N-methyl-D-aspartate receptor-mediated glutamate cytotoxicity. *Brain Res* 644: 181-7
- Alger BE (2002) Retrograde signaling in the regulation of synaptic transmission: focus on endocannabinoids. *Prog Neurobiol* 68: 247-86
- Altman J (1962) Are new neurons formed in the brains of adult mammals? *Science* 135: 1127-8
- Anderson JE, Jorenby DE, Scott WJ, Fiore MC (2002) Treating tobacco use and dependence: an evidence-based clinical practice guideline for tobacco cessation. *Chest* 121: 932-41
- Andersson M, Terasmaa A, Fuxe K, Stromberg I (2005) Subchronic haloperidol increases CB(1) receptor binding and G protein coupling in discrete regions of the basal ganglia. *J Neurosci Res* 82: 264-72
- Andreoli M, Tessari M, Pilla M, Valerio E, Hagan JJ, Heidbreder CA (2003) Selective antagonism at dopamine D₃ receptors prevents nicotine-triggered relapse to nicotine-seeking behavior. *Neuropsychopharmacology* 28: 1272-80
- Arendash GW, Sengstock GJ, Sanberg PR, Kem WR (1995) Improved learning and memory in aged rats with chronic administration of the nicotinic receptor agonist GTS-21. *Brain Res* 674: 252-9

- Arnone M, Maruani J, Chaperon F, Thiebot MH, Poncelet M, Soubrie P, Le Fur G (1997) Selective inhibition of sucrose and ethanol intake by SR 141716, an antagonist of central cannabinoid (CB1) receptors. *Psychopharmacology (Berl)* 132: 104-6
- Arqueros L, Naquira D, Zunino E (1978) Nicotine-induced release of catecholamines from rat hippocampus and striatum. *Biochem Pharmacol* 27: 2667-74
- Arroyo M, Markou A, Robbins TW, Everitt BJ (1998) Acquisition, maintenance and reinstatement of intravenous cocaine self-administration under a second-order schedule of reinforcement in rats: effects of conditioned cues and continuous access to cocaine. *Psychopharmacology (Berl)* 140: 331-44
- Artinian J, Jaeger XD, Fellini L, Saint Blanquat P, Roullet P (2007) Reactivation with a simple exposure to the experimental environment is sufficient to induce reconsolidation requiring protein synthesis in the hippocampal CA3 region in mice. *Hippocampus* 17: 181-91
- Ascher JA, Cole JO, Colin JN, Feighner JP, Ferris RM, Fibiger HC, Golden RN, Martin P, Potter WZ, Richelson E, et al. (1995) Bupropion: a review of its mechanism of antidepressant activity. *J Clin Psychiatry* 56: 395-401
- Aston-Jones G, Cohen JD (2005) An integrative theory of locus coeruleus-norepinephrine function: adaptive gain and optimal performance. *Annu Rev Neurosci* 28: 403-50
- Ator NA, Griffiths RR (1983) Nicotine self-administration in baboons. *Pharmacol Biochem Behav* 19: 993-1003
- Attaway CM, Compton DM, Turner MD (1999) The effects of nicotine on learning and memory: a neuropsychological assessment in young and senescent Fischer 344 rats. *Physiol Behav* 67: 421-31
- Auclair A, Cotecchia S, Glowinski J, Tassin JP (2002) D-amphetamine fails to increase extracellular dopamine levels in mice lacking alpha 1b-adrenergic receptors: relationship between functional and nonfunctional dopamine release. *J Neurosci* 22: 9150-4
- Auclair A, Drouin C, Cotecchia S, Glowinski J, Tassin JP (2004) 5-HT_{2A} and alpha1b-adrenergic receptors entirely mediate dopamine release, locomotor response and behavioural sensitization to opiates and psychostimulants. *Eur J Neurosci* 20: 3073-84
- Auclair N, Otani S, Soubrie P, Crepel F (2000) Cannabinoids modulate synaptic strength and plasticity at glutamatergic synapses of rat prefrontal cortex pyramidal neurons. *J Neurophysiol* 83: 3287-93
- Azmitia EC (1981) Bilateral serotonergic projection to the dorsal hippocampus of the rat: Simultaneous localisation of [³H]5-HT and HRP retrograde transport. *J. Comp. Neurol.* 203: 737-743

-B-

- Bahk JY, Li S, Park MS, Kim MO (2002) Dopamine D1 and D2 receptor mRNA up-regulation in the caudate-putamen and nucleus accumbens of rat brains by smoking. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 26: 1095-104
- Baldessarini RJ, Kula NS, Gao Y, Campbell A, Neumeyer JL (1991) R(-)-2-fluoro-N-n-propylnorapomorphine: a very potent and D2-selective dopamine agonist. *Neuropharmacology* 30: 97-9
- Balerio GN, Aso E, Berrendero F, Murtra P, Maldonado R (2004) Delta9-tetrahydrocannabinol decreases somatic and motivational manifestations of nicotine withdrawal in mice. *Eur J Neurosci* 20: 2737-48
- Barde YA (1989) Trophic factors and neuronal survival. *Neuron* 2: 1525-34

- Bardo MT, Miller JS, Neisewander JL (1984) Conditioned place preference with morphine: the effect of extinction training on the reinforcing CR. *Pharmacol Biochem Behav* 21: 545-9
- Bassareo V, Di Chiara G (1999) Differential responsiveness of dopamine transmission to food-stimuli in nucleus accumbens shell/core compartments. *Neuroscience* 89: 637-41
- Bassareo V, De Luca MA, Di Chiara G (2007) Differential impact of pavlovian drug conditioned stimuli on in vivo dopamine transmission in the rat accumbens shell and core and in the prefrontal cortex. *Psychopharmacology (Berl)* 191: 689-703
- Begg M, Pacher P, Batkai S, Osei-Hyiaman D, Offertaler L, Mo FM, Liu J, Kunos G (2005) Evidence for novel cannabinoid receptors. *Pharmacol Ther* 106: 133-45
- Beinfeld MC, Connolly K (2001) Activation of CB1 cannabinoid receptors in rat hippocampal slices inhibits potassium-evoked cholecystokinin release, a possible mechanism contributing to the spatial memory defects produced by cannabinoids. *Neurosci Lett* 301: 69-71
- Belluardo N, Blum M, Mudo G, Andbjør B, Fuxe K (1998) Acute intermittent nicotine treatment produces regional increases of basic fibroblast growth factor messenger RNA and protein in the tel- and diencephalon of the rat. *Neuroscience* 83: 723-40
- Belluzzi JD, Lee AG, Oliff HS, Leslie FM (2004) Age-dependent effects of nicotine on locomotor activity and conditioned place preference in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 174: 389-95
- Belluzzi JD, Wang R, Leslie FM (2005) Acetaldehyde enhances acquisition of nicotine self-administration in adolescent rats. *Neuropsychopharmacology* 30: 705-12
- Beltramo M, Stella N, Calignano A, Lin SY, Makriyannis A, Piomelli D (1997) Functional role of high-affinity anandamide transport, as revealed by selective inhibition. *Science* 277: 1094-7
- Bencherif M, Fowler K, Lukas RJ, Lippiello PM (1995) Mechanisms of up-regulation of neuronal nicotinic acetylcholine receptors in clonal cell lines and primary cultures of fetal rat brain. *J Pharmacol Exp Ther* 275: 987-94
- Benowitz NL (1990) Pharmacokinetic considerations in understanding nicotine dependence. *Ciba Found Symp* 152: 186-200; discussion 200-9
- Benowitz NL (1999) Nicotine addiction. *Prim Care* 26: 611-31
- Benwell ME, Balfour DJ, Anderson JM (1988) Evidence that tobacco smoking increases the density of (-)-[3H]nicotine binding sites in human brain. *J Neurochem* 50: 1243-7
- Benwell ME, Balfour DJ, Anderson JM (1990) Smoking-associated changes in the serotonergic systems of discrete regions of human brain. *Psychopharmacology (Berl)* 102: 68-72
- Benwell ME, Balfour DJ (1992) The effects of acute and repeated nicotine treatment on nucleus accumbens dopamine and locomotor activity. *Br J Pharmacol* 105: 849-56
- Berke JD, Hyman SE (2000) Addiction, dopamine, and the molecular mechanisms of memory. *Neuron* 25: 515-32
- Berrendero F, Mendizabal V, Murtra P, Kieffer BL, Maldonado R (2003) Cannabinoid receptor and WIN 55 212-2-stimulated [35S]-GTPgammaS binding in the brain of mu-, delta- and kappa-opioid receptor knockout mice. *Eur J Neurosci* 18: 2197-202
- Berridge CW, Waterhouse BD (2003) The locus coeruleus-noradrenergic system: modulation of behavioral state and state-dependent cognitive processes. *Brain Res Brain Res Rev* 42: 33-84
- Berridge KC, Robinson TE (1998) What is the role of dopamine in reward: hedonic impact, reward learning, or incentive salience? *Brain Res Brain Res Rev* 28: 309-69

- Berridge KC (2006) The debate over dopamine's role in reward: the case for incentive salience. *Psychopharmacology (Berl)*
- Besson M, David V, Suarez S, Cormier A, Cazala P, Changeux JP, Granon S (2006) Genetic dissociation of two behaviors associated with nicotine addiction: beta-2 containing nicotinic receptors are involved in nicotine reinforcement but not in withdrawal syndrome. *Psychopharmacology (Berl)* 187: 189-99
- Biala G, Budzynska B (2006) Reinstatement of nicotine-conditioned place preference by drug priming: effects of calcium channel antagonists. *Eur J Pharmacol* 537: 85-93
- Birks RI, Macintosh FC (1957) Acetylcholine metabolism at nerve-endings. *Br Med Bull* 13: 157-61
- Blanc G, Trovero F, Vezina P, Herve D, Godeheu AM, Glowinski J, Tassin JP (1994) Blockade of prefronto-cortical alpha 1-adrenergic receptors prevents locomotor hyperactivity induced by subcortical D-amphetamine injection. *Eur J Neurosci* 6: 293-8
- Bliss TV, Lomo T (1973) Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *J Physiol* 232: 331-56
- Blondel A, Sanger DJ, Moser PC (2000) Characterisation of the effects of nicotine in the five-choice serial reaction time task in rats: antagonist studies. *Psychopharmacology (Berl)* 149: 293-305
- Bobillier P, Seguin S, Degueurce A, Lewis DB, Pujol JF (1979) The efferent connections of the nucleus raphe centralis as revealed by radioautography. *Brain Research* 166: 1-8
- Boger DL, Fecik RA, Patterson JE, Miyauchi H, Patricelli MP, Cravatt BF (2000) Fatty acid amide hydrolase substrate specificity. *Bioorg Med Chem Lett* 10: 2613-6
- Bogeso KP, Arnt J, Boeck V, Christensen AV, Hyttel J, Jensen KG (1988) Antihypertensive activity in a series of 1-piperazino-3-phenylindans with potent 5-HT₂-antagonistic activity. *J Med Chem* 31: 2247-56
- Bonhaus DW, Chang LK, Kwan J, Martin GR (1998) Dual activation and inhibition of adenylyl cyclase by cannabinoid receptor agonists: evidence for agonist-specific trafficking of intracellular responses. *J Pharmacol Exp Ther* 287: 884-8
- Borsini F, Giraldo E, Monferini E, Antonini G, Parenti M, Bietti G, Donetti A (1995) BIMT 17, a 5-HT_{2A} receptor antagonist and 5-HT_{1A} receptor full agonist in rat cerebral cortex. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 352: 276-82
- Bossert JM, Liu SY, Lu L, Shaham Y (2004) A role of ventral tegmental area glutamate in contextual cue-induced relapse to heroin seeking. *J Neurosci* 24: 10726-30
- Bossert JM, Gray SM, Lu L, Shaham Y (2006) Activation of group II metabotropic glutamate receptors in the nucleus accumbens shell attenuates context-induced relapse to heroin seeking. *Neuropsychopharmacology* 31: 2197-209
- Bouaboula M, Rinaldi M, Carayon P, Carillon C, Delpech B, Shire D, Le Fur G, Casellas P (1993) Cannabinoid-receptor expression in human leukocytes. *Eur J Biochem* 214: 173-80
- Bouaboula M, Perrachon S, Milligan L, Canat X, Rinaldi-Carmona M, Portier M, Barth F, Calandra B, Pecceu F, Lupker J, Maffrand JP, Le Fur G, Casellas P (1997) A selective inverse agonist for central cannabinoid receptor inhibits mitogen-activated protein kinase activation stimulated by insulin or insulin-like growth factor I. Evidence for a new model of receptor/ligand interactions. *J Biol Chem* 272: 22330-9
- Bouthenet ML, Souil E, Martres MP, Sokoloff P, Giros B, Schwartz JC (1991) Localization of dopamine D₃ receptor mRNA in the rat brain using in situ hybridization histochemistry: comparison with dopamine D₂ receptor mRNA. *Brain Res* 564: 203-19

- Boyajian CL, Leslie FM (1987) Pharmacological evidence for alpha-2 adrenoceptor heterogeneity: differential binding properties of [3H]rauwolscine and [3H]idazoxan in rat brain. *J Pharmacol Exp Ther* 241: 1092-8
- Braida D, Pozzi M, Cavallini R, Sala M (2001a) Conditioned place preference induced by the cannabinoid agonist CP 55,940: interaction with the opioid system. *Neuroscience* 104: 923-6
- Braida D, Pozzi M, Parolaro D, Sala M (2001b) Intracerebral self-administration of the cannabinoid receptor agonist CP 55,940 in the rat: interaction with the opioid system. *Eur J Pharmacol* 413: 227-34
- Breese CR, Marks MJ, Logel J, Adams CE, Sullivan B, Collins AC, Leonard S (1997) Effect of smoking history on [3H]nicotine binding in human postmortem brain. *J Pharmacol Exp Ther* 282: 7-13
- Breivogel CS, Sim LJ, Childers SR (1997) Regional differences in cannabinoid receptor/G-protein coupling in rat brain. *J Pharmacol Exp Ther* 282: 1632-42
- Breivogel CS, Childers SR, Deadwyler SA, Hampson RE, Vogt LJ, Sim-Selley LJ (1999) Chronic delta9-tetrahydrocannabinol treatment produces a time-dependent loss of cannabinoid receptors and cannabinoid receptor-activated G proteins in rat brain. *J Neurochem* 73: 2447-59
- Breivogel CS, Griffin G, Di Marzo V, Martin BR (2001) Evidence for a new G protein-coupled cannabinoid receptor in mouse brain. *Mol Pharmacol* 60: 155-63
- Breslau N, Johnson EO, Hiripi E, Kessler R (2001) Nicotine dependence in the United States: prevalence, trends, and smoking persistence. *Arch Gen Psychiatry* 58: 810-6
- Brigham J, Henningfield JE, Stitzer ML (1990) Smoking relapse: a review. *Int J Addict* 25: 1239-55
- Brower VG, Fu Y, Matta SG, Sharp BM (2002) Rat strain differences in nicotine self-administration using an unlimited access paradigm. *Brain Res* 930: 12-20
- Brown J, Cooper-Kuhn CM, Kempermann G, Van Praag H, Winkler J, Gage FH, Kuhn HG (2003) Enriched environment and physical activity stimulate hippocampal but not olfactory bulb neurogenesis. *Eur J Neurosci* 17: 2042-6
- Brown RW, Kolb B (2001) Nicotine sensitization increases dendritic length and spine density in the nucleus accumbens and cingulate cortex. *Brain Res* 899: 94-100
- Buccafusco JJ, Jackson WJ (1991) Beneficial effects of nicotine administered prior to a delayed matching-to-sample task in young and aged monkeys. *Neurobiol Aging* 12: 233-8
- Buczek Y, Le AD, Wang A, Stewart J, Shaham Y (1999) Stress reinstates nicotine seeking but not sucrose solution seeking in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 144: 183-8
- Buisson B, Bertrand D (2002) Nicotine addiction: the possible role of functional upregulation. *Trends Pharmacol Sci* 23: 130-6
- Burmeister JJ, Lungren EM, Neisewander JL (2003) Effects of fluoxetine and d-fenfluramine on cocaine-seeking behavior in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 168: 146-54

-C-

- Cadogan AK, Alexander SP, Boyd EA, Kendall DA (1997) Influence of cannabinoids on electrically evoked dopamine release and cyclic AMP generation in the rat striatum. *J Neurochem* 69: 1131-7
- Cadoni C, Di Chiara G (2000) Differential changes in accumbens shell and core dopamine in behavioral sensitization to nicotine. *Eur J Pharmacol* 387: R23-5

- Caggiula AR, Donny EC, White AR, Chaudhri N, Booth S, Gharib MA, Hoffman A, Perkins KA, Sved AF (2001) Cue dependency of nicotine self-administration and smoking. *Pharmacol Biochem Behav* 70: 515-30
- Calcagnetti DJ, Schechter MD (1993) Extinction of cocaine-induced place approach in rats: a validation of the "biased" conditioning procedure. *Brain Res Bull* 30: 695-700
- Calcagnetti DJ, Schechter MD (1994) Nicotine place preference using the biased method of conditioning. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 18: 925-33
- Campbell UC, Carroll ME (2001) Effects of ketoconazole on the acquisition of intravenous cocaine self-administration under different feeding conditions in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 154: 311-8
- Cappelleri JC, Bushmakin AG, Baker CL, Merikle E, Olufade AO, Gilbert DG (2005) Revealing the multidimensional framework of the Minnesota nicotine withdrawal scale. *Curr Med Res Opin* 21: 749-60
- Carboni E, Acquas E, Leone P, Perezzi L, Di Chiara G (1988) 5-HT₃ receptor antagonists block morphine- and nicotine-induced place-preference conditioning. *Eur J Pharmacol* 151: 159-60
- Carboni E, Acquas E, Frau R, Di Chiara G (1989) Differential inhibitory effects of a 5-HT₃ antagonist on drug-induced stimulation of dopamine release. *Eur J Pharmacol* 164: 515-9
- Carboni E, Bortone L, Giua C, Di Chiara G (2000a) Dissociation of physical abstinence signs from changes in extracellular dopamine in the nucleus accumbens and in the prefrontal cortex of nicotine dependent rats. *Drug Alcohol Depend* 58: 93-102
- Carboni E, Silvagni A, Rolando MT, Di Chiara G (2000b) Stimulation of in vivo dopamine transmission in the bed nucleus of stria terminalis by reinforcing drugs. *J Neurosci* 20: RC102
- Carney JM, Uwaydah IM, Balster RL (1977) Evaluation of a suspension system for intravenous self-administration studies of water-insoluble compounds in the rhesus monkey. *Pharmacol Biochem Behav* 7: 357-64
- Carr DB, Sesack SR (2000) Projections from the rat prefrontal cortex to the ventral tegmental area: target specificity in the synaptic associations with mesoaccumbens and mesocortical neurons. *J Neurosci* 20: 3864-73
- Carr KD, Kutchukhidze N (2000) Chronic food restriction increases fos-like immunoreactivity (FLI) induced in rat forebrain by intraventricular amphetamine. *Brain Res* 861: 88-96
- Carr KD, Tsimberg Y, Berman Y, Yamamoto N (2003) Evidence of increased dopamine receptor signaling in food-restricted rats. *Neuroscience* 119: 1157-67
- Carr KD (2006) Chronic food restriction: Enhancing effects on drug reward and striatal cell signaling. *Physiol Behav*
- Carroll ME, France CP, Meisch RA (1979) Food deprivation increases oral and intravenous drug intake in rats. *Science* 205: 319-21
- Carroll ME, Stotz DC (1984) Increased phencyclidine self-administration due to food deprivation: interaction with concentration and training conditions. *Psychopharmacology (Berl)* 84: 299-303
- Carroll ME, Lac ST, Walker MJ, Kragh R, Newman T (1986) Effects of naltrexone on intravenous cocaine self-administration in rats during food satiation and deprivation. *J Pharmacol Exp Ther* 238: 1-7
- Carroll ME, Lac ST, Asencio M, Kragh R (1990) Fluoxetine reduces intravenous cocaine self-administration in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 35: 237-44

- Castane A, Valjent E, Ledent C, Parmentier M, Maldonado R, Valverde O (2002) Lack of CB1 cannabinoid receptors modifies nicotine behavioural responses, but not nicotine abstinence. *Neuropharmacology* 43: 857-67
- Centonze D, Battista N, Rossi S, Mercuri NB, Finazzi-Agro A, Bernardi G, Calabresi P, Maccarrone M (2004) A critical interaction between dopamine D2 receptors and endocannabinoids mediates the effects of cocaine on striatal gabaergic Transmission. *Neuropsychopharmacology* 29: 1488-97
- Cervo L, Rozio M, Ekalle-Soppo CB, Carnovali F, Santangelo E, Samanin R (2002) Stimulation of serotonin1B receptors induces conditioned place aversion and facilitates cocaine place conditioning in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 163: 142-50
- Champtiaux N, Gotti C, Cordero-Erausquin M, David DJ, Przybylski C, Lena C, Clementi F, Moretti M, Rossi FM, Le Novere N, McIntosh JM, Gardier AM, Changeux JP (2003) Subunit composition of functional nicotinic receptors in dopaminergic neurons investigated with knock-out mice. *J Neurosci* 23: 7820-9
- Changeux JP, Bertrand D, Corringier PJ, Dehaene S, Edelstein S, Lena C, Le Novere N, Marubio L, Picciotto M, Zoli M (1998) Brain nicotinic receptors: structure and regulation, role in learning and reinforcement. *Brain Res Brain Res Rev* 26: 198-216
- Chaperon F, Soubrie P, Puech AJ, Thiebot MH (1998) Involvement of central cannabinoid (CB1) receptors in the establishment of place conditioning in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 135: 324-32
- Chaperon F, Thiebot MH (1999) Behavioral effects of cannabinoid agents in animals. *Crit Rev Neurobiol* 13: 243-81
- Chaudhri N, Caggiula AR, Donny EC, Palmatier MI, Liu X, Sved AF (2006a) Complex interactions between nicotine and nonpharmacological stimuli reveal multiple roles for nicotine in reinforcement. *Psychopharmacology (Berl)* 184: 353-66
- Chaudhri N, Caggiula AR, Donny EC, Booth S, Gharib M, Craven L, Palmatier MI, Liu X, Sved AF (2006b) Self-administered and noncontingent nicotine enhance reinforced operant responding in rats: impact of nicotine dose and reinforcement schedule. *Psychopharmacology (Berl)*
- Cheer JF, Kendall DA, Marsden CA (2000) Cannabinoid receptors and reward in the rat: a conditioned place preference study. *Psychopharmacology (Berl)* 151: 25-30
- Cheer JF, Wassum KM, Sombers LA, Heien ML, Ariansen JL, Aragona BJ, Phillips PE, Wightman RM (2007) Phasic dopamine release evoked by abused substances requires cannabinoid receptor activation. *J Neurosci* 27: 791-5
- Cheeta S, Tucci S, File SE (2001a) Antagonism of the anxiolytic effect of nicotine in the dorsal raphe nucleus by dihydro-beta-erythroidine. *Pharmacol Biochem Behav* 70: 491-6
- Cheeta S, Irvine EE, Kenny PJ, File SE (2001b) The dorsal raphe nucleus is a crucial structure mediating nicotine's anxiolytic effects and the development of tolerance and withdrawal responses. *Psychopharmacology (Berl)* 155: 78-85
- Chen JP, Paredes W, Li J, Smith D, Lowinson J, Gardner EL (1990a) Delta 9-tetrahydrocannabinol produces naloxone-blockable enhancement of presynaptic basal dopamine efflux in nucleus accumbens of conscious, freely-moving rats as measured by intracerebral microdialysis. *Psychopharmacology (Berl)* 102: 156-62
- Chen J, Paredes W, Lowinson JH, Gardner EL (1990b) Delta 9-tetrahydrocannabinol enhances presynaptic dopamine efflux in medial prefrontal cortex. *Eur J Pharmacol* 190: 259-62
- Chen JP, van Praag HM, Gardner EL (1991a) Activation of 5-HT3 receptor by 1-phenylbiguanide increases dopamine release in the rat nucleus accumbens. *Brain Res* 543: 354-7

- Chen JP, Paredes W, Lowinson JH, Gardner EL (1991b) Strain-specific facilitation of dopamine efflux by delta 9-tetrahydrocannabinol in the nucleus accumbens of rat: an in vivo microdialysis study. *Neurosci Lett* 129: 136-80
- Cheramy A, Barbeito L, Romo R, Godeheu G, Glowinski J (1986) Involvement of cortico-striatal "glutamatergic" neurons in the presynaptic control of dopamine release in the cat caudate nucleus. *Clin Neuropharmacol* 9 Suppl 4: 500-2
- Chevaleyre V, Takahashi KA, Castillo PE (2006) Endocannabinoid-Mediated Synaptic Plasticity in the CNS. *Annu Rev Neurosci*
- Chiamulera C, Borgo C, Falchetto S, Valerio E, Tessari M (1996) Nicotine reinstatement of nicotine self-administration after long-term extinction. *Psychopharmacology (Berl)* 127: 102-7
- Ciamei A, Aversano M, Cestari V, Castellano C (2001) Effects of MK-801 and nicotine combinations on memory consolidation in CD1 mice. *Psychopharmacology (Berl)* 154: 126-30
- Cippitelli A, Bilbao A, Hansson AC, del Arco I, Sommer W, Heilig M, Massi M, Bermudez-Silva FJ, Navarro M, Ciccocioppo R, de Fonseca FR (2005) Cannabinoid CB1 receptor antagonism reduces conditioned reinstatement of ethanol-seeking behavior in rats. *Eur J Neurosci* 21: 2243-51
- Clarke PB, Kumar R (1983) The effects of nicotine on locomotor activity in non-tolerant and tolerant rats. *Br J Pharmacol* 78: 329-37
- Clarke PB, Schwartz RD, Paul SM, Pert CB, Pert A (1985) Nicotinic binding in rat brain: autoradiographic comparison of [3H]acetylcholine, [3H]nicotine, and [125I]-alpha-bungarotoxin. *J Neurosci* 5: 1307-15
- Clarke PB, Fibiger HC (1987) Apparent absence of nicotine-induced conditioned place preference in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 92: 84-8
- Clarke PB, Fu DS, Jakubovic A, Fibiger HC (1988) Evidence that mesolimbic dopaminergic activation underlies the locomotor stimulant action of nicotine in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 246: 701-8
- Clarke PB, Reuben M (1996) Release of [3H]-noradrenaline from rat hippocampal synaptosomes by nicotine: mediation by different nicotinic receptor subtypes from striatal [3H]-dopamine release. *Br J Pharmacol* 117: 595-606
- Coe JW, Brooks PR, Vetelino MG, Wirtz MC, Arnold EP, Huang J, Sands SB, Davis TI, Lebel LA, Fox CB, Shrikhande A, Heym JH, Schaeffer E, Rollema H, Lu Y, Mansbach RS, Chambers LK, Rovetti CC, Schulz DW, Tingley FD, 3rd, O'Neill BT (2005) Varenicline: an alpha4beta2 nicotinic receptor partial agonist for smoking cessation. *J Med Chem* 48: 3474-7
- Cohen C, Perrault G, Voltz C, Steinberg R, Soubrie P (2002) SR141716, a central cannabinoid (CB(1)) receptor antagonist, blocks the motivational and dopamine-releasing effects of nicotine in rats. *Behav Pharmacol* 13: 451-63
- Cohen C, Perrault G, Griebel G, Soubrie P (2005) Nicotine-associated cues maintain nicotine-seeking behavior in rats several weeks after nicotine withdrawal: reversal by the cannabinoid (CB1) receptor antagonist, rimonabant (SR141716). *Neuropsychopharmacology* 30: 145-55
- Colombo G, Agabio R, Fa M, Guano L, Lobina C, Loche A, Reali R, Gessa GL (1998) Reduction of voluntary ethanol intake in ethanol-preferring sP rats by the cannabinoid antagonist SR-141716. *Alcohol Alcohol* 33: 126-30
- Colombo G, Serra S, Brunetti G, Gomez R, Melis S, Vacca G, Carai MM, Gessa L (2002) Stimulation of voluntary ethanol intake by cannabinoid receptor agonists in ethanol-preferring sP rats. *Psychopharmacology (Berl)* 159: 181-7
- Colpaert FC (1999) Drug discrimination in neurobiology. *Pharmacol Biochem Behav* 64: 337-45

- Compton DR, Gold LH, Ward SJ, Balster RL, Martin BR (1992) Aminoalkylindole analogs: cannabimimetic activity of a class of compounds structurally distinct from delta 9-tetrahydrocannabinol. *J Pharmacol Exp Ther* 263: 1118-26
- Compton DR, Aceto MD, Lowe J, Martin BR (1996) In vivo characterization of a specific cannabinoid receptor antagonist (SR141716A): inhibition of delta 9-tetrahydrocannabinol-induced responses and apparent agonist activity. *J Pharmacol Exp Ther* 277: 586-94
- Connor B, Dragunow M (1998) The role of neuronal growth factors in neurodegenerative disorders of the human brain. *Brain Res Brain Res Rev* 27: 1-39
- Corcoran ME, Amit Z (1974) Reluctance of rats to drink hashish suspensions: free-choice and forced consumption, and the effects of hypothalamic stimulation. *Psychopharmacologia* 35: 129-47
- Cordero-Erausquin M, Marubio LM, Klink R, Changeux JP (2000) Nicotinic receptor function: new perspectives from knockout mice. *Trends Pharmacol Sci* 21: 211-7
- Corradetti R, Le Poul E, Laaris N, Hamon M, Lanfumey L (1996) Electrophysiological effects of N-(2-(4-(2-methoxyphenyl)-1-piperazinyl)ethyl)-N-(2-pyridinyl) cyclohexane carboxamide (WAY 100635) on dorsal raphe serotonergic neurons and CA1 hippocampal pyramidal cells in vitro. *J Pharmacol Exp Ther* 278: 679-688
- Corrigall WA, Coen KM (1989) Nicotine maintains robust self-administration in rats on a limited-access schedule. *Psychopharmacology (Berl)* 99: 473-8
- Corrigall WA, Coen KM (1991a) Opiate antagonists reduce cocaine but not nicotine self-administration. *Psychopharmacology (Berl)* 104: 167-70
- Corrigall WA, Coen KM (1991b) Selective dopamine antagonists reduce nicotine self-administration. *Psychopharmacology (Berl)* 104: 171-6
- Corrigall WA, Coen KM (1994) Nicotine self-administration and locomotor activity are not modified by the 5-HT₃ antagonists ICS 205-930 and MDL 72222. *Pharmacol Biochem Behav* 49: 67-71
- Corrigall WA, Coen KM, Adamson KL (1994) Self-administered nicotine activates the mesolimbic dopamine system through the ventral tegmental area. *Brain Res* 653: 278-84
- Corringer PJ, Le Novère N, Changeux JP (2000) Nicotinic receptors at the amino acid level. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 40: 431-58
- Corringer PJ, Sallette J, Changeux JP (2006) Nicotine enhances intracellular nicotinic receptor maturation: a novel mechanism of neural plasticity? *J Physiol Paris* 99: 162-71
- Cossu G, Ledent C, Fattore L, Imperato A, Bohme GA, Parmentier M, Fratta W (2001) Cannabinoid CB1 receptor knockout mice fail to self-administer morphine but not other drugs of abuse. *Behav Brain Res* 118: 61-5
- Coutts AA, Brewster N, Ingram T, Razdan RK, Pertwee RG (2000) Comparison of novel cannabinoid partial agonists and SR141716A in the guinea-pig small intestine. *Br J Pharmacol* 129: 645-52
- Couturier S, Erkman L, Valera S, Rungger D, Bertrand S, Boulter J, Ballivet M, Bertrand D (1990) Alpha 5, alpha 3, and non-alpha 3. Three clustered avian genes encoding neuronal nicotinic acetylcholine receptor-related subunits. *J Biol Chem* 265: 17560-7
- Cox BM, Goldstein A, Nelson WT (1984) Nicotine self-administration in rats. *Br J Pharmacol* 83: 49-55
- Cox LS, Tiffany ST, Christen AG (2001) Evaluation of the brief questionnaire of smoking urges (QSU-brief) in laboratory and clinical settings. *Nicotine Tob Res* 3: 7-16
- Cryan JF, Gasparini F, van Heeke G, Markou A (2003) Non-nicotinic neuropharmacological strategies for nicotine dependence: beyond bupropion. *Drug Discov Today* 8: 1025-34

-D-

- D'Ambra TE, Estep KG, Bell MR, Eissenstat MA, Josef KA, Ward SJ, Haycock DA, Baizman ER, Casiano FM, Beglin NC, et al. (1992) Conformationally restrained analogues of pravadoline: nanomolar potent, enantioselective, (aminoalkyl)indole agonists of the cannabinoid receptor. *J Med Chem* 35: 124-35
- Daaka Y, Klein TW, Friedman H (1995) Expression of cannabinoid receptor mRNA in murine and human leukocytes. *Adv Exp Med Biol* 373: 91-6
- Dahlström A, Fuxe K (1964) Evidence for the existence of monoamines containing neurons in the central nervous system. I. Demonstration of monoamines in cell bodies of brain stem neurons. *Acta Physiol Scandi Suppl* 232: 1-55
- Dallimore JE, Mickiewicz AL, Napier TC (2006) Intra-ventral pallidal glutamate antagonists block expression of morphine-induced place preference. *Behav Neurosci* 120: 1103-14
- Dani JA, De Biasi M (2001) Cellular mechanisms of nicotine addiction. *Pharmacol Biochem Behav* 70: 439-46
- Dani JA, Ji D, Zhou FM (2001) Synaptic plasticity and nicotine addiction. *Neuron* 31: 349-52
- Darmani NA, Sim-Selley LJ, Martin BR, Janoyan JJ, Crim JL, Parekh B, Breivogel CS (2003) Antiemetic and motor-depressive actions of CP55,940: cannabinoid CB1 receptor characterization, distribution, and G-protein activation. *Eur J Pharmacol* 459: 83-95
- Darracq L, Blanc G, Glowinski J, Tassin JP (1998) Importance of the noradrenaline-dopamine coupling in the locomotor activating effects of D-amphetamine. *J Neurosci* 18: 2729-39
- Darsow T, Booker TK, Pina-Crespo JC, Heinemann SF (2005) Exocytic trafficking is required for nicotine-induced up-regulation of alpha 4 beta 2 nicotinic acetylcholine receptors. *J Biol Chem* 280: 18311-20
- Davis S, Bozon B, Laroche S (2003) How necessary is the activation of the immediate early gene zif268 in synaptic plasticity and learning? *Behav Brain Res* 142: 17-30
- De Vries TJ, Shaham Y, Homberg JR, Crombag H, Schuurman K, Dieben J, Vanderschuren LJ, Schoffelmeer AN (2001) A cannabinoid mechanism in relapse to cocaine seeking. *Nat Med* 7: 1151-4
- De Vries TJ, Homberg JR, Binnekade R, Raaso H, Schoffelmeer AN (2003) Cannabinoid modulation of the reinforcing and motivational properties of heroin and heroin-associated cues in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 168: 164-9
- De Vries TJ, Schoffelmeer AN (2005) Cannabinoid CB1 receptors control conditioned drug seeking. *Trends Pharmacol Sci* 26: 420-6
- de Wit H, Stewart J (1981) Reinstatement of cocaine-reinforced responding in the rat. *Psychopharmacology (Berl)* 75: 134-43
- Debiec J, LeDoux JE (2006) Noradrenergic signaling in the amygdala contributes to the reconsolidation of fear memory: treatment implications for PTSD. *Ann N Y Acad Sci* 1071: 521-4
- Decker MW, Majchrzak MJ, Anderson DJ (1992) Effects of nicotine on spatial memory deficits in rats with septal lesions. *Brain Res* 572: 281-5
- Deneris ES, Boulter J, Swanson LW, Patrick J, Heinemann S (1989) Beta 3: a new member of nicotinic acetylcholine receptor gene family is expressed in brain. *J Biol Chem* 264: 6268-72

- DeNoble VJ, Mele PC (2006) Intravenous nicotine self-administration in rats: effects of mecamylamine, hexamethonium and naloxone. *Psychopharmacology (Berl)* 184: 266-72
- Derkach V, Surprenant A, North R (1989) 5-HT₃ receptors are membrane ion channels. *Nature* 339: 706-709
- Desai RI, Barber DJ, Terry P (2003) Dopaminergic and cholinergic involvement in the discriminative stimulus effects of nicotine and cocaine in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 167: 335-43
- Descarries L, Watkins K, Garcia S, Beaudet A (1982) The serotonin neurons in nucleus raphe dorsalis of adult rat: a light electron microscope autoradiographic study. *J Comp Neurol* 207: 239-254
- Devane WA, Dysarz FA, 3rd, Johnson MR, Melvin LS, Howlett AC (1988) Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol Pharmacol* 34: 605-13
- Devane WA, Hanus L, Breuer A, Pertwee RG, Stevenson LA, Griffin G, Gibson D, Mandelbaum A, Etinger A, Mechoulam R (1992) Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor. *Science* 258: 1946-9
- Di Chiara G, Imperato A (1988) Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 85: 5274-8
- Di Chiara G (1999) Drug addiction as dopamine-dependent associative learning disorder. *Eur J Pharmacol* 375: 13-30
- Di Chiara G (2000) Role of dopamine in the behavioural actions of nicotine related to addiction. *Eur J Pharmacol* 393: 295-314
- Di Ciano P, Blaha CD, Phillips AG (1998) Conditioned changes in dopamine oxidation currents in the nucleus accumbens of rats by stimuli paired with self-administration or yoked-administration of d-amphetamine. *Eur J Neurosci* 10: 1121-7
- Di Ciano P, Everitt BJ (2001) Dissociable effects of antagonism of NMDA and AMPA/KA receptors in the nucleus accumbens core and shell on cocaine-seeking behavior. *Neuropsychopharmacology* 25: 341-60
- Di Marzo V, Fontana A, Cadas H, Schinelli S, Cimino G, Schwartz JC, Piomelli D (1994) Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons. *Nature* 372: 686-91
- Di Marzo V, Breivogel CS, Tao Q, Bridgen DT, Razdan RK, Zimmer AM, Zimmer A, Martin BR (2000) Levels, metabolism, and pharmacological activity of anandamide in CB(1) cannabinoid receptor knockout mice: evidence for non-CB(1), non-CB(2) receptor-mediated actions of anandamide in mouse brain. *J Neurochem* 75: 2434-44
- Diaz J, Levesque D, Lammers CH, Griffon N, Martres MP, Schwartz JC, Sokoloff P (1995) Phenotypical characterization of neurons expressing the dopamine D3 receptor in the rat brain. *Neuroscience* 65: 731-45
- DiFranza JR, Rigotti NA, McNeill AD, Ockene JK, Savageau JA, St Cyr D, Coleman M (2000) Initial symptoms of nicotine dependence in adolescents. *Tob Control* 9: 313-9
- Dineley-Miller K, Patrick J (1992) Gene transcripts for the nicotinic acetylcholine receptor subunit, beta4, are distributed in multiple areas of the rat central nervous system. *Brain Res Mol Brain Res* 16: 339-44
- Dineley KT, Bell KA, Bui D, Sweatt JD (2002) beta -Amyloid peptide activates alpha 7 nicotinic acetylcholine receptors expressed in *Xenopus* oocytes. *J Biol Chem* 277: 25056-61
- Domino EF (2001) Nicotine induced behavioral locomotor sensitization. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 25: 59-71

- Dommett E, Coizet V, Blaha CD, Martindale J, Lefebvre V, Walton N, Mayhew JE, Overton PG, Redgrave P (2005) How visual stimuli activate dopaminergic neurons at short latency. *Science* 307: 1476-9
- Donny EC, Caggiula AR, Knopf S, Brown C (1995) Nicotine self-administration in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 122: 390-94
- Donny EC, Chaudhri N, Caggiula AR, Evans-Martin FF, Booth S, Gharib MA, Clements LA, Sved AF (2003) Operant responding for a visual reinforcer in rats is enhanced by noncontingent nicotine: implications for nicotine self-administration and reinforcement. *Psychopharmacology (Berl)* 169: 68-76
- Dravolina OA, Zakharova ES, Shekunova EV, Zvartau EE, Danysz W, Bernalov AY (2007) mGlu1 receptor blockade attenuates cue- and nicotine-induced reinstatement of extinguished nicotine self-administration behavior in rats. *Neuropharmacology* 52: 263-9
- Drouin C, Blanc G, Trovero F, Glowinski J, Tassin JP (2001) Cortical alpha 1-adrenergic regulation of acute and sensitized morphine locomotor effects. *Neuroreport* 12: 3483-6
- Drouin C, Darracq L, Trovero F, Blanc G, Glowinski J, Cotecchia S, Tassin JP (2002) Alpha1b-adrenergic receptors control locomotor and rewarding effects of psychostimulants and opiates. *J Neurosci* 22: 2873-84
- Dudai Y (2004) The neurobiology of consolidations, or, how stable is the engram? *Annu Rev Psychol* 55: 51-86
- Dumuis A, Bouhelal R, Sebben M, Cory R, Bockaert J (1988) A 5-HT receptor in the central nervous system positively coupled with adenylate cyclase, is antagonized by ICS 205930. *Eur J Pharmacol* 146: 187-188

-E-

- Edelstein SJ, Changeux JP (1998) Allosteric transitions of the acetylcholine receptor. *Adv Protein Chem* 51: 121-84
- Edwards G, Gross MM (1976) Alcohol dependence: provisional description of a clinical syndrome. *Br Med J* 1: 1058-61
- Egertova M, Giang DK, Cravatt BF, Elphick MR (1998) A new perspective on cannabinoid signalling: complementary localization of fatty acid amide hydrolase and the CB1 receptor in rat brain. *Proc Biol Sci* 265: 2081-5
- Egertova M, Elphick MR (2000) Localisation of cannabinoid receptors in the rat brain using antibodies to the intracellular C-terminal tail of CB. *J Comp Neurol* 422: 159-71
- Elgoyhen AB, Johnson DS, Boulter J, Vetter DE, Heinemann S (1994) Alpha 9: an acetylcholine receptor with novel pharmacological properties expressed in rat cochlear hair cells. *Cell* 79: 705-15
- Elgoyhen AB, Vetter DE, Katz E, Rothlin CV, Heinemann SF, Boulter J (2001) alpha10: a determinant of nicotinic cholinergic receptor function in mammalian vestibular and cochlear mechanosensory hair cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98: 3501-6
- Elrod K, Buccafusco JJ, Jackson WJ (1988) Nicotine enhances delayed matching-to-sample performance by primates. *Life Sci* 43: 277-87
- Engberg G, Svensson TH (1980) Pharmacological analysis of a cholinergic receptor mediated regulation of brain norepinephrine neurons. *J Neural Transm* 49: 137-50

- Engel JA, Fahlke C, Hard E, Johannessen K, Svensson L, Soderpalm B (1992) Serotonergic and dopaminergic involvement in ethanol intake. *Clin Neuropharmacol* 15 Suppl 1 Pt A: 64A-65A
- Epping-Jordan MP, Watkins SS, Koob GF, Markou A (1998) Dramatic decreases in brain reward function during nicotine withdrawal. *Nature* 393: 76-9
- Erblich J, Lerman C, Self DW, Diaz GA, Bovbjerg DH (2005) Effects of dopamine D2 receptor (DRD2) and transporter (SLC6A3) polymorphisms on smoking cue-induced cigarette craving among African-American smokers. *Mol Psychiatry* 10: 407-14
- Eriksson PS, Perfilieva E, Bjork-Eriksson T, Alborn AM, Nordborg C, Peterson DA, Gage FH (1998) Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* 4: 1313-7
- Everitt BJ, Morris KA, O'Brien A, Robbins TW (1991) The basolateral amygdala-ventral striatal system and conditioned place preference: further evidence of limbic-striatal interactions underlying reward-related processes. *Neuroscience* 42: 1-18
- Everitt BJ, Dickinson A, Robbins TW (2001) The neuropsychological basis of addictive behaviour. *Brain Res Brain Res Rev* 36: 129-38

-F-

- Fattore L, Cossu G, Martellotta CM, Fratta W (2001) Intravenous self-administration of the cannabinoid CB1 receptor agonist WIN 55,212-2 in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 156: 410-6
- Fattore L, Spano MS, Cossu G, Deiana S, Fratta W (2003) Cannabinoid mechanism in reinstatement of heroin-seeking after a long period of abstinence in rats. *Eur J Neurosci* 17: 1723-6
- Feenstra MG, Teske G, Botterblom MH, De Bruin JP (1999) Dopamine and noradrenaline release in the prefrontal cortex of rats during classical aversive and appetitive conditioning to a contextual stimulus: interference by novelty effects. *Neurosci Lett* 272: 179-82
- Felder CC, Briley EM, Axelrod J, Simpson JT, Mackie K, Devane WA (1993) Anandamide, an endogenous cannabimimetic eicosanoid, binds to the cloned human cannabinoid receptor and stimulates receptor-mediated signal transduction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 90: 7656-60
- Felder CC, Joyce KE, Briley EM, Mansouri J, Mackie K, Blond O, Lai Y, Ma AL, Mitchell RL (1995) Comparison of the pharmacology and signal transduction of the human cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Mol Pharmacol* 48: 443-50
- Felder CC, Joyce KE, Briley EM, Glass M, Mackie KP, Fahey KJ, Cullinan GJ, Hunden DC, Johnson DW, Chaney MO, Koppel GA, Brownstein M (1998) LY320135, a novel cannabinoid CB1 receptor antagonist, unmasks coupling of the CB1 receptor to stimulation of cAMP accumulation. *J Pharmacol Exp Ther* 284: 291-7
- Ferbinteanu J, McDonald RJ (2001) Dorsal/ventral hippocampus, fornix, and conditioned place preference. *Hippocampus* 11: 187-200
- Ferrari R, Le Novere N, Picciotto MR, Changeux JP, Zoli M (2002) Acute and long-term changes in the mesolimbic dopamine pathway after systemic or local single nicotine injections. *Eur J Neurosci* 15: 1810-8
- File SE, Kenny PJ, Ouagazzal AM (1998) Bimodal modulation by nicotine of anxiety in the social interaction test: role of the dorsal hippocampus. *Behav Neurosci* 112: 1423-9
- File SE, Cheeta S, Kenny PJ (2000) Neurobiological mechanisms by which nicotine mediates different types of anxiety. *Eur J Pharmacol* 393: 231-6

- Fiore MC, Smith SS, Jorenby DE, Baker TB (1994) The effectiveness of the nicotine patch for smoking cessation. A meta-analysis. *Jama* 271: 1940-7
- Fiore MC (2000) Treating tobacco use and dependence: an introduction to the US Public Health Service Clinical Practice Guideline. *Respir Care* 45: 1196-9
- Fletcher A, Forster EA, Bill DJ, Brown G, Cliffe IA, Hartley JE, Jones DE, McLenachan A, Stanhope KJ, Critchley DJ, Childs KJ, Middlefell VC, Lanfumey L, Corradetti R, Laporte AM, Gozlan H, Hamon M, Dourish CT (1996) Electrophysiological, biochemical, neurohormonal and behavioural studies with WAY-100635, a potent, selective and silent 5-HT_{1A} receptor antagonist. *Behav Brain Res* 73: 337-53
- Foote SL, Bloom FE, Aston-Jones G (1983) Nucleus locus ceruleus: new evidence of anatomical and physiological specificity. *Physiol Rev* 63: 844-914
- Forster GL, Blaha CD (2000) Laterodorsal tegmental stimulation elicits dopamine efflux in the rat nucleus accumbens by activation of acetylcholine and glutamate receptors in the ventral tegmental area. *Eur J Neurosci* 12: 3596-604
- Forster GL, Blaha CD (2003) Pedunculo-pontine tegmental stimulation evokes striatal dopamine efflux by activation of acetylcholine and glutamate receptors in the midbrain and pons of the rat. *Eur J Neurosci* 17: 751-62
- Frankland PW, Bontempi B (2005) The organization of recent and remote memories. *Nat Rev Neurosci* 6: 119-30
- Freneau RT, Jr., Duncan GE, Fornaretto MG, Dearry A, Gingrich JA, Breese GR, Caron MG (1991) Localization of D1 dopamine receptor mRNA in brain supports a role in cognitive, affective, and neuroendocrine aspects of dopaminergic neurotransmission. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88: 3772-6
- French ED, Dillon K, Wu X (1997) Cannabinoids excite dopamine neurons in the ventral tegmentum and substantia nigra. *Neuroreport* 8: 649-52
- French ED (1997) delta9-Tetrahydrocannabinol excites rat VTA dopamine neurons through activation of cannabinoid CB1 but not opioid receptors. *Neurosci Lett* 226: 159-62
- French SJ, Humby T, Horner CH, Sofroniew MV, Rattray M (1999) Hippocampal neurotrophin and trk receptor mRNA levels are altered by local administration of nicotine, carbachol and pilocarpine. *Brain Res Mol Brain Res* 67: 124-36
- Fride E, Shohami E (2002) The endocannabinoid system: function in survival of the embryo, the newborn and the neuron. *Neuroreport* 13: 1833-41
- Fride E, Foxx A, Rosenberg E, Faigenboim M, Cohen V, Barda L, Blau H, Mechoulam R (2003) Milk intake and survival in newborn cannabinoid CB1 receptor knockout mice: evidence for a "CB3" receptor. *Eur J Pharmacol* 461: 27-34
- Fu Y, Matta SG, James TJ, Sharp BM (1998) Nicotine-induced norepinephrine release in the rat amygdala and hippocampus is mediated through brainstem nicotinic cholinergic receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 284: 1188-96
- Fu Y, Matta SG, Brower VG, Sharp BM (2001) Norepinephrine secretion in the hypothalamic paraventricular nucleus of rats during unlimited access to self-administered nicotine: An in vivo microdialysis study. *J Neurosci* 21: 8979-89
- Fu Y, Matta SG, Kane VB, Sharp BM (2003) Norepinephrine release in amygdala of rats during chronic nicotine self-administration: an in vivo microdialysis study. *Neuropharmacology* 45: 514-23

- Fuchs RA, Evans KA, Parker MC, See RE (2004) Differential involvement of the core and shell subregions of the nucleus accumbens in conditioned cue-induced reinstatement of cocaine seeking in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 176: 459-65
- Fudala PJ, Teoh KW, Iwamoto ET (1985) Pharmacologic characterization of nicotine-induced conditioned place preference. *Pharmacol Biochem Behav* 22: 237-41
- Fudala PJ, Iwamoto ET (1986) Further studies on nicotine-induced conditioned place preference in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 25: 1041-9
- Fujii S, Ji Z, Morita N, Sumikawa K (1999) Acute and chronic nicotine exposure differentially facilitate the induction of LTP. *Brain Res* 846: 137-43
- Fung YK, Schmid MJ, Anderson TM, Lau YS (1996) Effects of nicotine withdrawal on central dopaminergic systems. *Pharmacol Biochem Behav* 53: 635-40

-G-

- Galiegue S, Mary S, Marchand J, Dussossoy D, Carriere D, Carayon P, Bouaboula M, Shire D, Le Fur G, Casellas P (1995) Expression of central and peripheral cannabinoid receptors in human immune tissues and leukocyte subpopulations. *Eur J Biochem* 232: 54-61
- Gallate JE, McGregor IS (1999) The motivation for beer in rats: effects of ritanserin, naloxone and SR 141716. *Psychopharmacology (Berl)* 142: 302-8
- Gallate JE, Saharov T, Mallet PE, McGregor IS (1999) Increased motivation for beer in rats following administration of a cannabinoid CB1 receptor agonist. *Eur J Pharmacol* 370: 233-40
- Galzi JL, Bertrand S, Corringier PJ, Changeux JP, Bertrand D (1996) Identification of calcium binding sites that regulate potentiation of a neuronal nicotinic acetylcholine receptor. *Embo J* 15: 5824-32
- Gao ZG, Cui WY, Zhang HT, Liu CG (1998) Effects of nicotine on 1-methyl-4-phenyl-1,2,5,6-tetrahydropyridine-induced depression of striatal dopamine content and spontaneous locomotor activity in C57 black mice. *Pharmacol Res* 38: 101-6
- Gatley SJ, Lan R, Pyatt B, Gifford AN, Volkow ND, Makriyannis A (1997) Binding of the non-classical cannabinoid CP 55,940, and the diarylpyrazole AM251 to rodent brain cannabinoid receptors. *Life Sci* 61: PL 191-7
- Gentry CL, Lukas RJ (2002) Regulation of nicotinic acetylcholine receptor numbers and function by chronic nicotine exposure. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 1: 359-85
- Gerard CM, Mollereau C, Vassart G, Parmentier M (1991) Molecular cloning of a human cannabinoid receptor which is also expressed in testis. *Biochem J* 279 (Pt 1): 129-34
- Gerdeman GL, Ronesi J, Lovinger DM (2002) Postsynaptic endocannabinoid release is critical to long-term depression in the striatum. *Nat Neurosci* 5: 446-51
- Gerdeman GL, Lovinger DM (2003) Emerging roles for endocannabinoids in long-term synaptic plasticity. *Br J Pharmacol* 140: 781-9
- Gerdeman GL, Partridge JG, Lupica CR, Lovinger DM (2003) It could be habit forming: drugs of abuse and striatal synaptic plasticity. *Trends Neurosci* 26: 184-92
- Gessa GL, Mascia MS, Casu MA, Carta G (1997) Inhibition of hippocampal acetylcholine release by cannabinoids: reversal by SR 141716A. *Eur J Pharmacol* 327: R1-2

- Gessa GL, Casu MA, Carta G, Mascia MS (1998) Cannabinoids decrease acetylcholine release in the medial-prefrontal cortex and hippocampus, reversal by SR 141716A. *Eur J Pharmacol* 355: 119-24
- Gibbs ME, Summers RJ (2002) Role of adrenoceptor subtypes in memory consolidation. *Prog Neurobiol* 67: 345-91
- Gifford AN, Bruneus M, Gatley SJ, Volkow ND (2000) Cannabinoid receptor-mediated inhibition of acetylcholine release from hippocampal and cortical synaptosomes. *Br J Pharmacol* 131: 645-50
- Girault JA, Valjent E, Caboche J, Herve D (2007) ERK2: a logical AND gate critical for drug-induced plasticity? *Curr Opin Pharmacol* 7: 77-85
- Giuffrida A, Beltramo M, Piomelli D (2001) Mechanisms of endocannabinoid inactivation: biochemistry and pharmacology. *J Pharmacol Exp Ther* 298: 7-14
- Gobel I, Trendelenburg AU, Cox SL, Meyer A, Starke K (2000) Electrically evoked release of [(3)H]noradrenaline from mouse cultured sympathetic neurons: release-modulating heteroreceptors. *J Neurochem* 75: 2087-94
- Gobert A, Lejeune F, Rivet JM, Cistarelli L, Millan MJ (1996) Dopamine D3 (auto) receptors inhibit dopamine release in the frontal cortex of freely moving rats in vivo. *J Neurochem* 66: 2209-12
- Gold LH, Balster RL, Barrett RL, Britt DT, Martin BR (1992) A comparison of the discriminative stimulus properties of delta 9-tetrahydrocannabinol and CP 55,940 in rats and rhesus monkeys. *J Pharmacol Exp Ther* 262: 479-86
- Gold LH, Balster RL (1992) Effects of buspirone and gepirone on i.v. cocaine self-administration in rhesus monkeys. *Psychopharmacology (Berl)* 108: 289-94
- Gonzales D, Rennard SI, Nides M, Oncken C, Azoulay S, Billing CB, Watsky EJ, Gong J, Williams KE, Reeves KR (2006) Varenicline, an alpha4beta2 nicotinic acetylcholine receptor partial agonist, vs sustained-release bupropion and placebo for smoking cessation: a randomized controlled trial. *Jama* 296: 47-55
- Gonzalez CL, Gharbawie OA, Wishaw IQ, Kolb B (2005) Nicotine stimulates dendritic arborization in motor cortex and improves concurrent motor skill but impairs subsequent motor learning. *Synapse* 55: 183-91
- Gonzalez S, Cascio MG, Fernandez-Ruiz J, Fezza F, Di Marzo V, Ramos JA (2002) Changes in endocannabinoid contents in the brain of rats chronically exposed to nicotine, ethanol or cocaine. *Brain Res* 954: 73-81
- Gonzalez S, Valenti M, de Miguel R, Fezza F, Fernandez-Ruiz J, Di Marzo V, Ramos JA (2004) Changes in endocannabinoid contents in reward-related brain regions of alcohol-exposed rats, and their possible relevance to alcohol relapse. *Br J Pharmacol* 143: 455-64
- Goodman FR (1974) Effects of nicotine on distribution and release of 14C-norepinephrine and 14C-dopamine in rat brain striatum and hypothalamus slices. *Neuropharmacology* 13: 1025-32
- Gopalakrishnan M, Buisson B, Touma E, Giordano T, Campbell JE, Hu IC, Donnelly-Roberts D, Arneric SP, Bertrand D, Sullivan JP (1995) Stable expression and pharmacological properties of the human alpha 7 nicotinic acetylcholine receptor. *Eur J Pharmacol* 290: 237-46
- Gopalakrishnan M, Monteggia LM, Anderson DJ, Molinari EJ, Piattoni-Kaplan M, Donnelly-Roberts D, Arneric SP, Sullivan JP (1996) Stable expression, pharmacologic properties and regulation of the human neuronal nicotinic acetylcholine alpha 4 beta 2 receptor. *J Pharmacol Exp Ther* 276: 289-97
- Goparaju SK, Ueda N, Yamaguchi H, Yamamoto S (1998) Anandamide amidohydrolase reacting with 2-arachidonoylglycerol, another cannabinoid receptor ligand. *FEBS Lett* 422: 69-73

- Gould E, Beylin A, Tanapat P, Reeves A, Shors TJ (1999) Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. *Nat Neurosci* 2: 260-5
- Gould E, Tanapat P (1999) Stress and hippocampal neurogenesis. *Biol Psychiatry* 46: 1472-9
- Grabus SD, Martin BR, Brown SE, Damaj MI (2006) Nicotine place preference in the mouse: influences of prior handling, dose and strain and attenuation by nicotinic receptor antagonists. *Psychopharmacology (Berl)* 184: 456-63
- Grauer SM, Tao R, Auerbach SB (1992) Morphine induces an increase in extracellular serotonin in the rat diencephalon. *Brain Res* 599: 277-82
- Grenhoff J, Aston-Jones G, Svensson TH (1986) Nicotinic effects on the firing pattern of midbrain dopamine neurons. *Acta Physiol Scand* 128: 351-8
- Grenhoff J, Nisell M, Ferre S, Aston-Jones G, Svensson TH (1993) Noradrenergic modulation of midbrain dopamine cell firing elicited by stimulation of the locus coeruleus in the rat. *J Neural Transm Gen Sect* 93: 11-25
- Grenhoff J, Svensson TH (1993) Prazosin modulates the firing pattern of dopamine neurons in rat ventral tegmental area. *Eur J Pharmacol* 233: 79-84
- Grenhoff J, North RA, Johnson SW (1995) Alpha 1-adrenergic effects on dopamine neurons recorded intracellularly in the rat midbrain slice. *Eur J Neurosci* 7: 1707-13
- Gross A, Ballivet M, Rungger D, Bertrand D (1991) Neuronal nicotinic acetylcholine receptors expressed in *Xenopus* oocytes: role of the alpha subunit in agonist sensitivity and desensitization. *Pflugers Arch* 419: 545-51
- Grottick AJ, Higgins GA (2000) Effect of subtype selective nicotinic compounds on attention as assessed by the five-choice serial reaction time task. *Behav Brain Res* 117: 197-208
- Grottick AJ, Trube G, Corrigan WA, Huwyler J, Malherbe P, Wyler R, Higgins GA (2000a) Evidence that nicotinic alpha(7) receptors are not involved in the hyperlocomotor and rewarding effects of nicotine. *J Pharmacol Exp Ther* 294: 1112-9
- Grottick AJ, Fletcher PJ, Higgins GA (2000b) Studies to investigate the role of 5-HT(2C) receptors on cocaine- and food-maintained behavior. *J Pharmacol Exp Ther* 295: 1183-91
- Grottick AJ, Corrigan WA, Higgins GA (2001) Activation of 5-HT(2C) receptors reduces the locomotor and rewarding effects of nicotine. *Psychopharmacology (Berl)* 157: 292-8
- Gu DF, Hinks LJ, Morton NE, Day IN (2000) The use of long PCR to confirm three common alleles at the CYP2A6 locus and the relationship between genotype and smoking habit. *Ann Hum Genet* 64: 383-90
- Guyon A, Assouly-Besse F, Biala G, Puech AJ, Thiebot MH (1993) Potentiation by low doses of selected neuroleptics of food-induced conditioned place preference in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 110: 460-6

-H-

- Hahn B, Shoaib M, Stolerman IP (2002) Nicotine-induced enhancement of attention in the five-choice serial reaction time task: the influence of task demands. *Psychopharmacology (Berl)* 162: 129-37
- Hahn B, Stolerman IP (2005) Modulation of nicotine-induced attentional enhancement in rats by adrenoceptor antagonists. *Psychopharmacology (Berl)* 177: 438-47

- Hajos N, Katona I, Naiem SS, MacKie K, Ledent C, Mody I, Freund TF (2000) Cannabinoids inhibit hippocampal GABAergic transmission and network oscillations. *Eur J Neurosci* 12: 3239-49
- Hall GH, Turner DM (1972) Effects of nicotine on the release of 3 H-noradrenaline from the hypothalamus. *Biochem Pharmacol* 21: 1829-38
- Hall J, Thomas KL, Everitt BJ (2001) Cellular imaging of zif268 expression in the hippocampus and amygdala during contextual and cued fear memory retrieval: selective activation of hippocampal CA1 neurons during the recall of contextual memories. *J Neurosci* 21: 2186-93
- Hallanger AE, Levey AI, Lee HJ, Rye DB, Wainer BH (1987) The origins of cholinergic and other subcortical afferents to the thalamus in the rat. *J Comp Neurol* 262: 105-24
- Hamon M, Fattaccini CM, Adrien J, Gallissot MC, Martin P, Gozlan H (1988) Alterations of central serotonin and dopamine turnover in rats treated with ipsapirone and other 5-hydroxytryptamine_{1A} agonists with potential anxiolytic properties. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 246: 745-752
- Hamon M, Gozlan H (1993) Les récepteurs centraux de la sérotonine. *Médecine-Sciences* 9: 21-30
- Hamon M (2002) [Neurobiological mechanisms of dependence: implication of serotonin]. *Bull Acad Natl Med* 186: 307-15; discussion 315-7
- Han ZY, Le Novere N, Zoli M, Hill JA, Jr., Champtiaux N, Changeux JP (2000) Localization of nAChR subunit mRNAs in the brain of *Macaca mulatta*. *Eur J Neurosci* 12: 3664-74
- Han ZY, Zoli M, Cardona A, Bourgeois JP, Changeux JP, Le Novere N (2003) Localization of [3H]nicotine, [3H]cytisine, [3H]epibatidine, and [125I]alpha-bungarotoxin binding sites in the brain of *Macaca mulatta*. *J Comp Neurol* 461: 49-60
- Haney M, Comer SD, Ward AS, Foltin RW, Fischman MW (1997) Factors influencing marijuana self-administration by humans. *Behav Pharmacol* 8: 101-12
- Hanus L, Abu-Lafi S, Frideri E, Breuer A, Vogel Z, Shalev DE, Kustanovich I, Mechoulam R (2001) 2-arachidonoyl glyceryl ether, an endogenous agonist of the cannabinoid CB1 receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98: 3662-5
- Harris RT, Waters W, McLendon D (1974) Evaluation of reinforcing capability of delta-9-tetrahydrocannabinol in rhesus monkeys. *Psychopharmacologia* 37: 23-9
- Harrison AA, Parsons LH, Koob GF, Markou A (1999) RU 24969, a 5-HT_{1A/1B} agonist, elevates brain stimulation reward thresholds: an effect reversed by GR 127935, a 5-HT_{1B/1D} antagonist. *Psychopharmacology (Berl)* 141: 242-50
- Hays JT, Hurt RD, Rigotti NA, Niaura R, Gonzales D, Durcan MJ, Sachs DP, Wolter TD, Buist AS, Johnston JA, White JD (2001) Sustained-release bupropion for pharmacologic relapse prevention after smoking cessation. a randomized, controlled trial. *Ann Intern Med* 135: 423-33
- Heath AC, Madden PA, Slutske WS, Martin NG (1995) Personality and the inheritance of smoking behavior: a genetic perspective. *Behav Genet* 25: 103-17
- Heath AC, Kirk KM, Meyer JM, Martin NG (1999) Genetic and social determinants of initiation and age at onset of smoking in Australian twins. *Behav Genet* 29: 395-407
- Heatherton TF, Kozlowski LT, Frecker RC, Fagerstrom KO (1991) The Fagerstrom Test for Nicotine Dependence: a revision of the Fagerstrom Tolerance Questionnaire. *Br J Addict* 86: 1119-27
- Hefli F (1983) Is Alzheimer disease caused by lack of nerve growth factor? *Ann Neurol* 13: 109-10
- Heinemann S, Boulter J, Deneris E, Conolly J, Duvoisin R, Papke R, Patrick J (1990) The brain nicotinic acetylcholine receptor gene family. *Prog Brain Res* 86: 195-203

- Heishman SJ (1999) Behavioral and cognitive effects of smoking: relationship to nicotine addiction. *Nicotine Tob Res* 1 Suppl 2: S143-7; discussion S165-6
- Helton DR, Modlin DL, Tizzano JP, Rasmussen K (1993) Nicotine withdrawal: a behavioral assessment using schedule controlled responding, locomotor activity, and sensorimotor reactivity. *Psychopharmacology (Berl)* 113: 205-10
- Henningfield JE, Moolchan ET, Zeller M (2003) Regulatory strategies to reduce tobacco addiction in youth. *Tob Control* 12 Suppl 1: i14-24
- Herkenham M, Lynn AB, Little MD, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, Rice KC (1990) Cannabinoid receptor localization in brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 87: 1932-6
- Herkenham M, Lynn AB, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, Rice KC (1991) Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: a quantitative *in vitro* autoradiographic study. *J Neurosci* 11: 563-83
- Herzig V, Capuani EM, Kovar KA, Schmidt WJ (2005) Effects of MPEP on expression of food-, MDMA- or amphetamine-conditioned place preference in rats. *Addict Biol* 10: 243-9
- Higgins GA, Wang Y, Corrigan WA, Sellers EM (1994) Influence of 5-HT₃ receptor antagonists and the indirect 5-HT agonist, dexfenfluramine, on heroin self-administration in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 114: 611-9
- Hill JA, Jr., Zoli M, Bourgeois JP, Changeux JP (1993) Immunocytochemical localization of a neuronal nicotinic receptor: the beta 2-subunit. *J Neurosci* 13: 1551-68
- Hillard CJ, Manna S, Greenberg MJ, DiCamelli R, Ross RA, Stevenson LA, Murphy V, Pertwee RG, Campbell WB (1999) Synthesis and characterization of potent and selective agonists of the neuronal cannabinoid receptor (CB1). *J Pharmacol Exp Ther* 289: 1427-33
- Hiramatsu M, Yamatsu T, Kameyama T, Nabeshima T (2002) Effects of repeated administration of (-)-nicotine on AF64A-induced learning and memory impairment in rats. *J Neural Transm* 109: 361-75
- Hiroi N, White NM (1991) The lateral nucleus of the amygdala mediates expression of the amphetamine-produced conditioned place preference. *J Neurosci* 11: 2107-16
- Hjorth S, Magnusson T (1988) The 5-HT_{1A} receptor agonist 8-OH-DPAT preferentially activates cell body autoreceptors in the rat brain *in vivo*. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 338: 463-471
- Hodges H, Sowinski P, Sinden JD, Netto CA, Fletcher A (1995) The selective 5-HT₃ receptor antagonist, WAY100289, enhances spatial memory in rats with ibotenate lesions of the forebrain cholinergic projection system. *Psychopharmacology (Berl)* 117: 318-32
- Holahan MR (2005) Complementary roles for the amygdala and hippocampus during different phases of appetitive information processing. *Neurobiol Learn Mem* 84: 124-31
- Hollister LE (1986) Health aspects of cannabis. *Pharmacol Rev* 38: 1-20
- Horvitz JC (2002) Dopamine gating of glutamatergic sensorimotor and incentive motivational input signals to the striatum. *Behav Brain Res* 137: 65-74
- Houchi H, Babovic D, Pierrefiche O, Ledent C, Daoust M, Naassila M (2005) CB1 receptor knockout mice display reduced ethanol-induced conditioned place preference and increased striatal dopamine D2 receptors. *Neuropsychopharmacology* 30: 339-49
- Howlett AC, Fleming RM (1984) Cannabinoid inhibition of adenylate cyclase. Pharmacology of the response in neuroblastoma cell membranes. *Mol Pharmacol* 26: 532-8

- Howlett AC, Bidaut-Russell M, Devane WA, Melvin LS, Johnson MR, Herkenham M (1990) The cannabinoid receptor: biochemical, anatomical and behavioral characterization. *Trends Neurosci* 13: 420-3
- Howlett AC (1995) Pharmacology of cannabinoid receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 35: 607-34
- Howlett AC, Barth F, Bonner TI, Cabral G, Casellas P, Devane WA, Felder CC, Herkenham M, Mackie K, Martin BR, Mechoulam R, Pertwee RG (2002) International Union of Pharmacology. XXVII. Classification of cannabinoid receptors. *Pharmacol Rev* 54: 161-202
- Hsu EH, Schroeder JP, Packard MG (2002) The amygdala mediates memory consolidation for an amphetamine conditioned place preference. *Behav Brain Res* 129: 93-100
- Huganir RL, Greengard P (1990) Regulation of neurotransmitter receptor desensitization by protein phosphorylation. *Neuron* 5: 555-67
- Hughes JR, Gust SW, Skoog K, Keenan RM, Fenwick JW (1991) Symptoms of tobacco withdrawal. A replication and extension. *Arch Gen Psychiatry* 48: 52-9
- Hughes JR, Goldstein MG, Hurt RD, Shiffman S (1999) Recent advances in the pharmacotherapy of smoking. *Jama* 281: 72-6
- Hungund BL, Szakall I, Adam A, Basavarajappa BS, Vadasz C (2003) Cannabinoid CB1 receptor knockout mice exhibit markedly reduced voluntary alcohol consumption and lack alcohol-induced dopamine release in the nucleus accumbens. *J Neurochem* 84: 698-704
- Hupbach A, Gomez R, Hardt O, Nadel L (2007) Reconsolidation of episodic memories: A subtle reminder triggers integration of new information. *Learn Mem* 14: 47-53
- Hurt RD, Sachs DP, Glover ED, Offord KP, Johnston JA, Dale LC, Khayrallah MA, Schroeder DR, Glover PN, Sullivan CR, Croghan IT, Sullivan PM (1997) A comparison of sustained-release bupropion and placebo for smoking cessation. *N Engl J Med* 337: 1195-202
- Hutcheson DM, Tzavara ET, Smadja C, Valjent E, Roques BP, Hanoune J, Maldonado R (1998) Behavioural and biochemical evidence for signs of abstinence in mice chronically treated with delta-9-tetrahydrocannabinol. *Br J Pharmacol* 125: 1567-77
- Hyland BI, Reynolds JN, Hay J, Perk CG, Miller R (2002) Firing modes of midbrain dopamine cells in the freely moving rat. *Neuroscience* 114: 475-92



- Irvine EE, Cheeta S, Marshall M, File SE (2001) Different treatment regimens and the development of tolerance to nicotine's anxiogenic effects. *Pharmacol Biochem Behav* 68: 769-76
- Ishac EJ, Jiang L, Lake KD, Varga K, Abood ME, Kunos G (1996) Inhibition of exocytotic noradrenaline release by presynaptic cannabinoid CB1 receptors on peripheral sympathetic nerves. *Br J Pharmacol* 118: 2023-8
- Ishikawa H, Ohtsuki T, Ishiguro H, Yamakawa-Kobayashi K, Endo K, Lin YL, Yanagi H, Tsuchiya S, Kawata K, Hamaguchi H, Arinami T (1999) Association between serotonin transporter gene polymorphism and smoking among Japanese males. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 8: 831-3
- Isola R, Vogelsberg V, Wemlinger TA, Neff NH, Hadjiconstantinou M (1999) Nicotine abstinence in the mouse. *Brain Res* 850: 189-96

Ito R, Dalley JW, Howes SR, Robbins TW, Everitt BJ (2000) Dissociation in conditioned dopamine release in the nucleus accumbens core and shell in response to cocaine cues and during cocaine-seeking behavior in rats. *J Neurosci* 20: 7489-95

Itzhak Y, Martin JL (2002) Cocaine-induced conditioned place preference in mice: induction, extinction and reinstatement by related psychostimulants. *Neuropsychopharmacology* 26: 130-4

-J-

Jacobs LF, Schenk F (2003) Unpacking the cognitive map: the parallel map theory of hippocampal function. *Psychol Rev* 110: 285-315

Janhunen S, Ahtee L (2004) Comparison of the effects of nicotine and epibatidine on the striatal extracellular dopamine. *Eur J Pharmacol* 494: 167-77

Janson AM, Fuxe K, Agnati LF, Kitayama I, Harfstrand A, Andersson K, Goldstein M (1988) Chronic nicotine treatment counteracts the disappearance of tyrosine-hydroxylase-immunoreactive nerve cell bodies, dendrites and terminals in the mesostriatal dopamine system of the male rat after partial hemitransection. *Brain Res* 455: 332-45

Janson AM, Hedlund PB, Hillefors M, von Euler G (1992) Chronic nicotine treatment decreases dopamine D2 agonist binding in the rat basal ganglia. *Neuroreport* 3: 1117-20

Jarai Z, Wagner JA, Varga K, Lake KD, Compton DR, Martin BR, Zimmer AM, Bonner TI, Buckley NE, Mezey E, Razdan RK, Zimmer A, Kunos G (1999) Cannabinoid-induced mesenteric vasodilation through an endothelial site distinct from CB1 or CB2 receptors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 14136-41

Jarbe TU, Ohlin GC (1977) Stimulus effects of delta(9)-THC and its interaction with naltrexone and catecholamine blockers in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 54: 193-5

Jarbe TU, McMillan DE (1979) Discriminative stimulus properties of tetrahydrocannabinols and related drugs in rats and pigeons. *Neuropharmacology* 18: 1023-4

Jarbe TU, Hiltunen AJ, Mechoulam R (1989) Stereospecificity of the discriminative stimulus functions of the dimethylheptyl homologs of 11-hydroxy-delta 8-tetrahydrocannabinol in rats and pigeons. *J Pharmacol Exp Ther* 250: 1000-5

Jarbe TU, Mathis DA (1991) Discriminative stimulus functions of cannabinoids/cannabimimetics. *NIDA Res Monogr*: 75-99

Jasmin L, Tien D, Weinshenker D, Palmiter RD, Green PG, Janni G, Ohara PT (2002) The NK1 receptor mediates both the hyperalgesia and the resistance to morphine in mice lacking noradrenaline. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99: 1029-34

Jasmin L, Narasaiah M, Tien D (2006) Noradrenaline is necessary for the hedonic properties of addictive drugs. *Vascul Pharmacol* 45: 243-50

Jiang LH, Ashby CR, Jr., Kasser RJ, Wang RY (1990) The effect of intraventricular administration of the 5-HT3 receptor agonist 2-methylserotonin on the release of dopamine in the nucleus accumbens: an in vivo chronocoulometric study. *Brain Res* 513: 156-60

Jimenez-Rivera CA, Feliu-Mojer M, Vazquez-Torres R (2006) Alpha-noradrenergic receptors modulate the development and expression of cocaine sensitization. *Ann N Y Acad Sci* 1074: 390-402

Johnson EM, Jr., Chang JY, Koike T, Martin DP (1989) Why do neurons die when deprived of trophic factor? *Neurobiol Aging* 10: 549-52; discussion 552-3

- Jones CR, Palacios JM (1991) Autoradiography of adrenoceptors in rat and human brain: alpha-adrenoceptor and idazoxan binding sites. *Prog Brain Res* 88: 271-91
- Jones GM, Sahakian BJ, Levy R, Warburton DM, Gray JA (1992) Effects of acute subcutaneous nicotine on attention, information processing and short-term memory in Alzheimer's disease. *Psychopharmacology (Berl)* 108: 485-94
- Jones IW, Wonnacott S (2004) Precise localization of alpha7 nicotinic acetylcholine receptors on glutamatergic axon terminals in the rat ventral tegmental area. *J Neurosci* 24: 11244-52
- Jones SB, Smith JM, Jones AW, Bylund DB (1987) Alpha-1 adrenergic receptor binding in aortas from rat and dog: comparison of [3H]prazosin and beta-iodo-[125I]-4-hydroxyphenyl-ethyl-aminomethyl-tetralone. *J Pharmacol Exp Ther* 241: 875-81
- Jorenby DE, Steinpreis RE, Sherman JE, Baker TB (1990) Aversion instead of preference learning indicated by nicotine place conditioning in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 101: 533-8
- Jose Lanca A, Sanelli TR, Corrigan WA (2000) Nicotine-induced fos expression in the pedunculopontine mesencephalic tegmentum in the rat. *Neuropharmacology* 39: 2808-17
- Joseph JD, Wang YM, Miles PR, Budygin EA, Picetti R, Gainetdinov RR, Caron MG, Wightman RM (2002) Dopamine autoreceptor regulation of release and uptake in mouse brain slices in the absence of D(3) receptors. *Neuroscience* 112: 39-49
- Justinova Z, Tanda G, Munzar P, Goldberg SR (2004) The opioid antagonist naltrexone reduces the reinforcing effects of Delta 9 tetrahydrocannabinol (THC) in squirrel monkeys. *Psychopharmacology (Berl)* 173: 186-94

-K-

- Kalivas PW, Nakamura M (1999) Neural systems for behavioral activation and reward. *Curr Opin Neurobiol* 9: 223-7
- Kaneko S, Maeda T, Kume T, Kochiyama H, Akaike A, Shimohama S, Kimura J (1997) Nicotine protects cultured cortical neurons against glutamate-induced cytotoxicity via alpha7-neuronal receptors and neuronal CNS receptors. *Brain Res* 765: 135-40
- Kaprio J, Hammar N, Koskenvuo M, Floderus-Myrhed B, Langinvainio H, Sarna S (1982) Cigarette smoking and alcohol use in Finland and Sweden: a cross-national twin study. *Int J Epidemiol* 11: 378-86
- Karlin A, Akabas MH (1995) Toward a structural basis for the function of nicotinic acetylcholine receptors and their cousins. *Neuron* 15: 1231-44
- Kassel JD, Stroud LR, Paronis CA (2003) Smoking, stress, and negative affect: correlation, causation, and context across stages of smoking. *Psychol Bull* 129: 270-304
- Katona I, Sperlagh B, Sik A, Kafalvi A, Vizi ES, Mackie K, Freund TF (1999) Presynaptically located CB1 cannabinoid receptors regulate GABA release from axon terminals of specific hippocampal interneurons. *J Neurosci* 19: 4544-58
- Katona I, Sperlagh B, Magloczky Z, Santha E, Kofalvi A, Czirjak S, Mackie K, Vizi ES, Freund TF (2000) GABAergic interneurons are the targets of cannabinoid actions in the human hippocampus. *Neuroscience* 100: 797-804
- Katona I, Rancz EA, Acsady L, Ledent C, Mackie K, Hajos N, Freund TF (2001) Distribution of CB1 cannabinoid receptors in the amygdala and their role in the control of GABAergic transmission. *J Neurosci* 21: 9506-18

- Katz JL, Goldberg SR (1988) Preclinical assessment of abuse liability of drugs. *Agents Actions* 23: 18-26
- Ke L, Eisenhour CM, Bencherif M, Lukas RJ (1998) Effects of chronic nicotine treatment on expression of diverse nicotinic acetylcholine receptor subtypes. I. Dose- and time-dependent effects of nicotine treatment. *J Pharmacol Exp Ther* 286: 825-40
- Kearn CS, Blake-Palmer K, Daniel E, Mackie K, Glass M (2005) Concurrent stimulation of cannabinoid CB1 and dopamine D2 receptors enhances heterodimer formation: a mechanism for receptor cross-talk? *Mol Pharmacol* 67: 1697-704
- Keating GM, Siddiqui MA (2006) Varenicline: a review of its use as an aid to smoking cessation therapy. *CNS Drugs* 20: 945-60
- Kebabian JW, Beaulieu M, Itoh Y (1984) Pharmacological and biochemical evidence for the existence of two categories of dopamine receptor. *Can J Neurol Sci* 11: 114-7
- Kelai S, Aissi F, Lesch KP, Cohen-Salmon C, Hamon M, Lanfumey L (2003) Alcohol intake after serotonin transporter inactivation in mice. *Alcohol Alcohol* 38: 386-9
- Kelai S, Hanoun N, Aufrere G, Beauge F, Hamon M, Lanfumey L (2006) Cannabinoid-serotonin interactions in alcohol-preferring vs. alcohol-avoiding mice. *J Neurochem* 99: 308-20
- Kelz MB, Nestler EJ (2000) deltaFosB: a molecular switch underlying long-term neural plasticity. *Curr Opin Neurol* 13: 715-20
- Kempshall FE, Pratt JA (2000) Mecamylamine but not the alpha7 receptor antagonist alpha-bungarotoxin blocks sensitization to the locomotor stimulant effects of nicotine. *Br J Pharmacol* 131: 997-1003
- Kenny PJ, Cheeta S, File SE (2000a) Anxiogenic effects of nicotine in the dorsal hippocampus are mediated by 5-HT1A and not by muscarinic M1 receptors. *Neuropharmacology* 39: 300-7
- Kenny PJ, File SE, Neal MJ (2000b) Evidence for a complex influence of nicotinic acetylcholine receptors on hippocampal serotonin release. *J Neurochem* 75: 2409-14
- Kenny PJ, File SE, Rattray M (2001) Nicotine regulates 5-HT(1A) receptor gene expression in the cerebral cortex and dorsal hippocampus. *Eur J Neurosci* 13: 1267-71
- Khan ZU, Gutierrez A, Martin R, Penafiel A, Rivera A, De La Calle A (1998) Differential regional and cellular distribution of dopamine D2-like receptors: an immunocytochemical study of subtype-specific antibodies in rat and human brain. *J Comp Neurol* 402: 353-71
- Khanolkar AD, Makriyannis A (1999) Structure-activity relationships of anandamide, an endogenous cannabinoid ligand. *Life Sci* 65: 607-16
- Kilts JD, Connery HS, Arrington EG, Lewis MM, Lawler CP, Oxford GS, O'Malley KL, Todd RD, Blake BL, Nichols DE, Mailman RB (2002) Functional selectivity of dopamine receptor agonists. II. Actions of dihydrexidine in D2L receptor-transfected MN9D cells and pituitary lactotrophs. *J Pharmacol Exp Ther* 301: 1179-89
- Kita T, Okamoto M, Nakashima T (1992) Nicotine-induced sensitization to ambulatory stimulant effect produced by daily administration into the ventral tegmental area and the nucleus accumbens in rats. *Life Sci* 50: 583-90
- Klink R, de Kerchove d'Exaerde A, Zoli M, Changeux JP (2001) Molecular and physiological diversity of nicotinic acetylcholine receptors in the midbrain dopaminergic nuclei. *J Neurosci* 21: 1452-63
- Koopmans JR, Slutske WS, Heath AC, Neale MC, Boomsma DI (1999) The genetics of smoking initiation and quantity smoked in Dutch adolescent and young adult twins. *Behav Genet* 29: 383-93

- Krause RM, Buisson B, Bertrand S, Corringier PJ, Galzi JL, Changeux JP, Bertrand D (1998) Ivermectin: a positive allosteric effector of the $\alpha 7$ neuronal nicotinic acetylcholine receptor. *Mol Pharmacol* 53: 283-94
- Kreiss DS, Bergstrom DA, Gonzalez AM, Huang KX, Sibley DR, Walters JR (1995) Dopamine receptor agonist potencies for inhibition of cell firing correlate with dopamine D3 receptor binding affinities. *Eur J Pharmacol* 277: 209-14
- Ksir C (1994) Acute and chronic nicotine effects on measures of activity in rats: a multivariate analysis. *Psychopharmacology (Berl)* 115: 105-9
- Kuczenski R, Segal DS, Cho AK, Melega W (1995) Hippocampus norepinephrine, caudate dopamine and serotonin, and behavioral responses to the stereoisomers of amphetamine and methamphetamine. *J Neurosci* 15: 1308-17
- Kudernatsch M, Sutor B (1994) Cholinergic modulation of dopamine overflow in the rat neostriatum: a fast cyclic voltammetric study in vitro. *Neurosci Lett* 181: 107-12
- Kumari V, Gray JA, ffytche DH, Mitterschiffthaler MT, Das M, Zachariah E, Vythelingum GN, Williams SC, Simmons A, Sharma T (2003) Cognitive effects of nicotine in humans: an fMRI study. *Neuroimage* 19: 1002-13
- Kuzmin A, Sandin J, Terenius L, Ogren SO (2003) Acquisition, expression, and reinstatement of ethanol-induced conditioned place preference in mice: effects of opioid receptor-like 1 receptor agonists and naloxone. *J Pharmacol Exp Ther* 304: 310-8



- Laitinen JT, Jokinen M (1998) Guanosine 5'-(gamma-[35 S]thio)triphosphate autoradiography allows selective detection of histamine H3 receptor-dependent G protein activation in rat brain tissue sections. *J Neurochem* 71: 808-16
- Lallemant F, Soubrie PH, De Witte PH (2001) Effects of CB1 cannabinoid receptor blockade on ethanol preference after chronic ethanol administration. *Alcohol Clin Exp Res* 25: 1317-23
- Lan R, Gatley J, Lu Q, Fan P, Fernando SR, Volkow ND, Pertwee R, Makriyannis A (1999) Design and synthesis of the CB1 selective cannabinoid antagonist AM281: a potential human SPECT ligand. *AAPS PharmSci* 1: E4
- Lanca AJ, Adamson KL, Coen KM, Chow BL, Corrigan WA (2000) The pedunculopontine tegmental nucleus and the role of cholinergic neurons in nicotine self-administration in the rat: a correlative neuroanatomical and behavioral study. *Neuroscience* 96: 735-42
- Laporte AM, Lima L, Gozlan H, Hamon M (1994) Selective in vivo labelling of brain 5-HT_{1A} receptor by [3 H]WAY100635 in the mouse. *Eur J Pharmacol* 271: 505-514
- Lategan AJ, Marien MR, Colpaert FC (1990) Effects of locus coeruleus lesions on the release of endogenous dopamine in the rat nucleus accumbens and caudate nucleus as determined by intracerebral microdialysis. *Brain Res* 523: 134-8
- Laviolette SR, Alexson TO, van der Kooy D (2002a) Lesions of the tegmental pedunculopontine nucleus block the rewarding effects and reveal the aversive effects of nicotine in the ventral tegmental area. *J Neurosci* 22: 8653-60
- Laviolette SR, Nader K, van der Kooy D (2002b) Motivational state determines the functional role of the mesolimbic dopamine system in the mediation of opiate reward processes. *Behav Brain Res* 129: 17-29

- Laviolette SR, van der Kooy D (2003) The motivational valence of nicotine in the rat ventral tegmental area is switched from rewarding to aversive following blockade of the alpha7-subunit-containing nicotinic acetylcholine receptor. *Psychopharmacology (Berl)* 166: 306-13
- Laviolette SR, van der Kooy D (2004) The neurobiology of nicotine addiction: bridging the gap from molecules to behaviour. *Nat Rev Neurosci* 5: 55-65
- Lawrence NS, Ross TJ, Stein EA (2002) Cognitive mechanisms of nicotine on visual attention. *Neuron* 36: 539-48
- Le Foll B, Goldberg SR (2004) Rimonabant, a CB1 antagonist, blocks nicotine-conditioned place preferences. *Neuroreport* 15: 2139-43
- Le Foll B, Goldberg SR (2005a) Control of the reinforcing effects of nicotine by associated environmental stimuli in animals and humans. *Trends Pharmacol Sci* 26: 287-93
- Le Foll B, Sokoloff P, Stark H, Goldberg SR (2005) Dopamine D3 receptor ligands block nicotine-induced conditioned place preferences through a mechanism that does not involve discriminative-stimulus or antidepressant-like effects. *Neuropsychopharmacology* 30: 720-30
- Le Foll B, Goldberg SR (2005b) Nicotine induces conditioned place preferences over a large range of doses in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 178: 481-92
- Le Moine C, Bloch B (1995) D1 and D2 dopamine receptor gene expression in the rat striatum: sensitive cRNA probes demonstrate prominent segregation of D1 and D2 mRNAs in distinct neuronal populations of the dorsal and ventral striatum. *J Comp Neurol* 355: 418-26
- Le Novere N, Zoli M, Changeux JP (1996) Neuronal nicotinic receptor alpha 6 subunit mRNA is selectively concentrated in catecholaminergic nuclei of the rat brain. *Eur J Neurosci* 8: 2428-39
- Lecca D, Cacciapaglia F, Valentini V, Gronli J, Spiga S, Di Chiara G (2006) Preferential increase of extracellular dopamine in the rat nucleus accumbens shell as compared to that in the core during acquisition and maintenance of intravenous nicotine self-administration. *Psychopharmacology (Berl)* 184: 435-46
- Leccese AP, Lyness WH (1984) The effects of putative 5-hydroxytryptamine receptor active agents on D-amphetamine self-administration in controls and rats with 5,7-dihydroxytryptamine median forebrain bundle lesions. *Brain Res* 303: 153-62
- Ledent C, Valverde O, Cossu G, Petitot F, Aubert JF, Beslot F, Bohme GA, Imperato A, Pedrazzini T, Roques BP, Vassart G, Fratta W, Parmentier M (1999) Unresponsiveness to cannabinoids and reduced addictive effects of opiates in CB1 receptor knockout mice. *Science* 283: 401-4
- Lee JL, Di Ciano P, Thomas KL, Everitt BJ (2005) Disrupting reconsolidation of drug memories reduces cocaine-seeking behavior. *Neuron* 47: 795-801
- Lee JL, Milton AL, Everitt BJ (2006) Cue-induced cocaine seeking and relapse are reduced by disruption of drug memory reconsolidation. *J Neurosci* 26: 5881-7
- Leger L, Descarries L (1978) Serotonergic nerve terminals in the locus coeruleus of adult rat. A radioautographic study. *Brain Research* 145: 1-13
- Leite JR, Carlini EA (1974) Failure to obtain "cannabis-directed behavior" and abstinence syndrome in rats chronically treated with cannabis sativa extracts. *Psychopharmacologia* 36: 133-45
- LeMarquand D, Pihl RO, Benkelfat C (1994) Serotonin and alcohol intake, abuse, and dependence: findings of animal studies. *Biol Psychiatry* 36: 395-421
- Lena C, de Kerchove D'Exaerde A, Cordero-Erausquin M, Le Novere N, del Mar Arroyo-Jimenez M, Changeux JP (1999) Diversity and distribution of nicotinic acetylcholine receptors in the locus ceruleus neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 12126-31

- Lepore M, Vorel SR, Lowinson J, Gardner EL (1995) Conditioned place preference induced by delta 9-tetrahydrocannabinol: comparison with cocaine, morphine, and food reward. *Life Sci* 56: 2073-80
- Léranth C, Palkovits M, Krieger DT (1983) Serotonin immunoreactive nerve fibres and terminals in the rat pituitary - light and electron microscopic studies. *Neuroscience* 9: 289-296
- LeSage MG, Burroughs D, Dufek M, Keyler DE, Pentel PR (2004) Reinstatement of nicotine self-administration in rats by presentation of nicotine-paired stimuli, but not nicotine priming. *Pharmacol Biochem Behav* 79: 507-13
- Lesscher HM, Hoogveld E, Burbach JP, van Ree JM, Gerrits MA (2005) Endogenous cannabinoids are not involved in cocaine reinforcement and development of cocaine-induced behavioural sensitization. *Eur Neuropsychopharmacol* 15: 31-7
- Levant B (1998) Differential distribution of D3 dopamine receptors in the brains of several mammalian species. *Brain Res* 800: 269-74
- Levin ED, Lee C, Rose JE, Reyes A, Ellison G, Jarvik M, Gritz E (1990) Chronic nicotine and withdrawal effects on radial-arm maze performance in rats. *Behav Neural Biol* 53: 269-76
- Levin ED, Christopher NC, Briggs SJ, Rose JE (1993) Chronic nicotine reverses working memory deficits caused by lesions of the fimbria or medial basolateral projection. *Brain Res Cogn Brain Res* 1: 137-43
- Levin ED, Torry D (1996) Acute and chronic nicotine effects on working memory in aged rats. *Psychopharmacology (Berl)* 123: 88-97
- Levin ED, Kaplan S, Boardman A (1997) Acute nicotine interactions with nicotinic and muscarinic antagonists: working and reference memory effects in the 16-arm radial maze. *Behav Pharmacol* 8: 236-42
- Levin ED, Connors CK, Silva D, Hinton SC, Meck WH, March J, Rose JE (1998) Transdermal nicotine effects on attention. *Psychopharmacology (Berl)* 140: 135-41
- Levin ED, Bettegowda C, Blosser J, Gordon J (1999) AR-R17779, an alpha7 nicotinic agonist, improves learning and memory in rats. *Behav Pharmacol* 10: 675-80
- Levin ED, Rezvani AH (2000) Development of nicotinic drug therapy for cognitive disorders. *Eur J Pharmacol* 393: 141-6
- Levin ED, Bradley A, Addy N, Sigurani N (2002) Hippocampal alpha 7 and alpha 4 beta 2 nicotinic receptors and working memory. *Neuroscience* 109: 757-65
- Levin ED, Rezvani AH (2002) Nicotinic treatment for cognitive dysfunction. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 1: 423-31
- Levine ES, Litto WJ, Jacobs BL (1990) Activity of cat locus coeruleus noradrenergic neurons during the defense reaction. *Brain Res* 531: 189-95
- Levitzki A (1986) Beta-adrenergic receptors and their mode of coupling to adenylate cyclase. *Physiol Rev* 66: 819-54
- Li SM, Ren YH, Zheng JW (2002) Effect of 7-nitroindazole on drug-priming reinstatement of D-methamphetamine-induced conditioned place preference. *Eur J Pharmacol* 443: 205-6
- Lindblom N, de Villiers SH, Kalayanov G, Gordon S, Johansson AM, Svensson TH (2002) Active immunization against nicotine prevents reinstatement of nicotine-seeking behavior in rats. *Respiration* 69: 254-60
- Lindstrom J (1996) Neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Ion Channels* 4: 377-450

- Lindstrom JM (2003) Nicotinic acetylcholine receptors of muscles and nerves: comparison of their structures, functional roles, and vulnerability to pathology. *Ann N Y Acad Sci* 998: 41-52
- Louis M, Clarke PB (1998) Effect of ventral tegmental 6-hydroxydopamine lesions on the locomotor stimulant action of nicotine in rats. *Neuropharmacology* 37: 1503-13
- Lu L, Zhang B, Liu Z, Zhang Z (2002a) Reactivation of cocaine conditioned place preference induced by stress is reversed by cholecystokinin-B receptors antagonist in rats. *Brain Res* 954: 132-40
- Lu L, Xu NJ, Ge X, Yue W, Su WJ, Pei G, Ma L (2002b) Reactivation of morphine conditioned place preference by drug priming: role of environmental cues and sensitization. *Psychopharmacology (Berl)* 159: 125-32
- Luetje CW, Patrick J (1991) Both alpha- and beta-subunits contribute to the agonist sensitivity of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *J Neurosci* 11: 837-45
- Lupica CR, Riegel AC, Hoffman AF (2004) Marijuana and cannabinoid regulation of brain reward circuits. *Br J Pharmacol* 143: 227-34
- Lupica CR, Riegel AC (2005) Endocannabinoid release from midbrain dopamine neurons: a potential substrate for cannabinoid receptor antagonist treatment of addiction. *Neuropharmacology* 48: 1105-16

-M-

- Ma Z, Strecker RE, McKenna JT, Thakkar MM, McCarley RW, Tao R (2005) Effects on serotonin of (-)-nicotine and dimethylphenylpiperazinium in the dorsal raphe and nucleus accumbens of freely behaving rats. *Neuroscience* 135: 949-58
- MacLennan SJ, Reynen PH, Kwan J, Bonhaus DW (1998) Evidence for inverse agonism of SR141716A at human recombinant cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Br J Pharmacol* 124: 619-22
- Maggio R, Riva M, Vaglini F, Fornai F, Molteni R, Armogida M, Racagni G, Corsini GU (1998) Nicotine prevents experimental parkinsonism in rodents and induces striatal increase of neurotrophic factors. *J Neurochem* 71: 2439-46
- Mailleux P, Vanderhaeghen JJ (1992) Distribution of neuronal cannabinoid receptor in the adult rat brain: a comparative receptor binding radioautography and in situ hybridization histochemistry. *Neuroscience* 48: 655-68
- Maldonado R, Valverde O, Berrendero F (2006) Involvement of the endocannabinoid system in drug addiction. *Trends Neurosci* 29: 225-32
- Malin DH, Lake JR, Newlin-Maultsby P, Roberts LK, Lanier JG, Carter VA, Cunningham JS, Wilson OB (1992) Rodent model of nicotine abstinence syndrome. *Pharmacol Biochem Behav* 43: 779-84
- Mallet PE, Beninger RJ (1998) Delta9-tetrahydrocannabinol, but not the endogenous cannabinoid receptor ligand anandamide, produces conditioned place avoidance. *Life Sci* 62: 2431-9
- Mameli-Engvall M, Evrard A, Pons S, Maskos U, Svensson TH, Changeux JP, Faure P (2006) Hierarchical control of dopamine neuron-firing patterns by nicotinic receptors. *Neuron* 50: 911-21
- Mancuso G, Warburton DM, Melen M, Sherwood N, Tirelli E (1999) Selective effects of nicotine on attentional processes. *Psychopharmacology (Berl)* 146: 199-204
- Mansbach RS, Nicholson KL, Martin BR, Balster RL (1994) Failure of Delta(9)-tetrahydrocannabinol and CP 55,940 to maintain intravenous self-administration under a fixed-interval schedule in rhesus monkeys. *Behav Pharmacol* 5: 219-225

- Mansvelder HD, McGehee DS (2000) Long-term potentiation of excitatory inputs to brain reward areas by nicotine. *Neuron* 27: 349-57
- Mansvelder HD, McGehee DS (2002) Cellular and synaptic mechanisms of nicotine addiction. *J Neurobiol* 53: 606-17
- Mansvelder HD, De Rover M, McGehee DS, Brussaard AB (2003) Cholinergic modulation of dopaminergic reward areas: upstream and downstream targets of nicotine addiction. *Eur J Pharmacol* 480: 117-23
- Manzardo AM, Stein L, Belluzzi JD (2002) Rats prefer cocaine over nicotine in a two-lever self-administration choice test. *Brain Res* 924: 10-9
- Marcinkiewicz M, Vergé D, Gozlan H, Pichat L, Hamon M (1984) Autoradiographic evidence for the heterogeneity of 5-HT₁ sites in the rat brain. *Brain Res* 291: 159-163
- Marco EM, Granstrem O, Moreno E, Llorente R, Adriani W, Laviola G, Viveros MP (2007) Subchronic nicotine exposure in adolescence induces long-term effects on hippocampal and striatal cannabinoid-CB1 and mu-opioid receptors in rats. *Eur J Pharmacol* 557: 37-43
- Marin P, Maus M, Desagher S, Glowinski J, Premont J (1994) Nicotine protects cultured striatal neurones against N-methyl-D-aspartate receptor-mediated neurotoxicity. *Neuroreport* 5: 1977-80
- Markou A, Paterson NE (2001) The nicotinic antagonist methyllycaconitine has differential effects on nicotine self-administration and nicotine withdrawal in the rat. *Nicotine Tob Res* 3: 361-73
- Marks MJ, Burch JB, Collins AC (1983) Effects of chronic nicotine infusion on tolerance development and nicotinic receptors. *J Pharmacol Exp Ther* 226: 817-25
- Marks MJ, Stitzel JA, Collins AC (1989) Genetic influences on nicotine responses. *Pharmacol Biochem Behav* 33: 667-78
- Marks MJ, Pauly JR, Gross SD, Deneris ES, Hermans-Borgmeyer I, Heinemann SF, Collins AC (1992) Nicotine binding and nicotinic receptor subunit RNA after chronic nicotine treatment. *J Neurosci* 12: 2765-84
- Martellotta MC, Kuzmin A, Zvartau E, Cossu G, Gessa GL, Fratta W (1995) Isradipine inhibits nicotine intravenous self-administration in drug-naïve mice. *Pharmacol Biochem Behav* 52: 271-4
- Martellotta MC, Cossu G, Fattore L, Gessa GL, Fratta W (1998) Self-administration of the cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 in drug-naïve mice. *Neuroscience* 85: 327-30
- Martin BR, Compton DR, Little PJ, Martin TJ, Beardsley PM (1987) Pharmacological evaluation of agonistic and antagonistic activity of cannabinoids. *NIDA Res Monogr* 79: 108-22
- Martin BR, Compton DR, Thomas BF, Prescott WR, Little PJ, Razdan RK, Johnson MR, Melvin LS, Mechoulam R, Ward SJ (1991) Behavioral, biochemical, and molecular modeling evaluations of cannabinoid analogs. *Pharmacol Biochem Behav* 40: 471-8
- Martin M, Ledent C, Parmentier M, Maldonado R, Valverde O (2000) Cocaine, but not morphine, induces conditioned place preference and sensitization to locomotor responses in CB1 knockout mice. *Eur J Neurosci* 12: 4038-46
- Martin SJ, Morris RG (2002) New life in an old idea: the synaptic plasticity and memory hypothesis revisited. *Hippocampus* 12: 609-36
- Marubio LM, Gardier AM, Durier S, David D, Klink R, Arroyo-Jimenez MM, McIntosh JM, Rossi F, Champiaux N, Zoli M, Changeux JP (2003) Effects of nicotine in the dopaminergic system of mice lacking the alpha4 subunit of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Eur J Neurosci* 17: 1329-37

- Maskos U, Molles BE, Pons S, Besson M, Guiard BP, Guilloux JP, Evrard A, Cazala P, Cormier A, Mameli-Engvall M, Dufour N, Cloez-Tayarani I, Bemelmans AP, Mallet J, Gardier AM, David V, Faure P, Granon S, Changeux JP (2005) Nicotine reinforcement and cognition restored by targeted expression of nicotinic receptors. *Nature* 436: 103-7
- Mas-Nieto M, Pommier B, Tzavara ET, Caneparo A, Da Nascimento S, Le Fur G, Roques BP, Noble F (2001) Reduction of opioid dependence by the CB(1) antagonist SR141716A in mice: evaluation of the interest in pharmacotherapy of opioid addiction. *Br J Pharmacol* 132: 1809-16
- Mathe JM, Nomikos GG, Hildebrand BE, Hertel P, Svensson TH (1996) Prazosin inhibits MK-801-induced hyperlocomotion and dopamine release in the nucleus accumbens. *Eur J Pharmacol* 309: 1-11
- Matsuda LA, Lolait SJ, Brownstein MJ, Young AC, Bonner TI (1990) Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* 346: 561-4
- Matsuda LA, Bonner TI, Lolait SJ (1993) Localization of cannabinoid receptor mRNA in rat brain. *J Comp Neurol* 327: 535-50
- Matsuyama S, Matsumoto A (2003) Epibatidine induces long-term potentiation (LTP) via activation of alpha4beta2 nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) in vivo in the intact mouse dentate gyrus: both alpha7 and alpha4beta2 nAChRs essential to nicotinic LTP. *J Pharmacol Sci* 93: 180-7
- McGehee DS, Role LW (1995) Physiological diversity of nicotinic acetylcholine receptors expressed by vertebrate neurons. *Annu Rev Physiol* 57: 521-46
- McGregor IS, Issakidis CN, Prior G (1996) Aversive effects of the synthetic cannabinoid CP 55,940 in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 53: 657-64
- McGue M, Elkins I, Iacono WG (2000) Genetic and environmental influences on adolescent substance use and abuse. *Am J Med Genet* 96: 671-7
- McKinney EF, Walton RT, Yudkin P, Fuller A, Haldar NA, Mant D, Murphy M, Welsh KI, Marshall SE (2000) Association between polymorphisms in dopamine metabolic enzymes and tobacco consumption in smokers. *Pharmacogenetics* 10: 483-91
- McKinney WT, Jr., Bunney WE, Jr. (1969) Animal model of depression. I. Review of evidence: implications for research. *Arch Gen Psychiatry* 21: 240-8
- McKittrick CR, Abercrombie ED (2007) Catecholamine mapping within nucleus accumbens: differences in basal and amphetamine-stimulated efflux of norepinephrine and dopamine in shell and core. *J Neurochem* 100: 1247-56
- Meador-Woodruff JH, Mansour A, Bunzow JR, Van Tol HH, Watson SJ, Jr., Civelli O (1989) Distribution of D2 dopamine receptor mRNA in rat brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 86: 7625-8
- Meador-Woodruff JH, Mansour A, Grandy DK, Damask SP, Civelli O, Watson SJ, Jr. (1992) Distribution of D5 dopamine receptor mRNA in rat brain. *Neurosci Lett* 145: 209-12
- Mechoulam R, Ben-Shabat S, Hanus L, Ligumsky M, Kaminski NE, Schatz AR, Gopher A, Almog S, Martin BR, Compton DR, et al. (1995) Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem Pharmacol* 50: 83-90
- Megens AA, Leysen JE, Awouters FH, Niemegeers CJ (1986) Further validation of in vivo and in vitro pharmacological procedures for assessing the alpha 2/alpha 1-selectivity of test compounds: (2). Alpha-adrenoceptor agonists. *Eur J Pharmacol* 129: 57-64
- Meguro K, Yamaguchi S, Arai H, Nakagawa T, Doi C, Yamada M, Ikarashi Y, Maruyama Y, Sasaki H (1994) Nicotine improves cognitive disturbance in senescence-accelerated mice. *Pharmacol Biochem Behav* 49: 769-72

- Meil WM, See RE (1996) Conditioned cued recovery of responding following prolonged withdrawal from self-administered cocaine in rats: an animal model of relapse. *Behav Pharmacol* 7: 754-763
- Melis M, Gessa GL, Diana M (2000) Different mechanisms for dopaminergic excitation induced by opiates and cannabinoids in the rat midbrain. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 24: 993-1006
- Melis M, Pistis M, Perra S, Muntoni AL, Pillolla G, Gessa GL (2004) Endocannabinoids mediate presynaptic inhibition of glutamatergic transmission in rat ventral tegmental area dopamine neurons through activation of CB1 receptors. *J Neurosci* 24: 53-62
- Meschler JP, Howlett AC (2001) Signal transduction interactions between CB1 cannabinoid and dopamine receptors in the rat and monkey striatum. *Neuropharmacology* 40: 918-26
- Messi ML, Renganathan M, Grigorenko E, Delbono O (1997) Activation of alpha7 nicotinic acetylcholine receptor promotes survival of spinal cord motoneurons. *FEBS Lett* 411: 32-8
- Messina ES, Tyndale RF, Sellers EM (1997) A major role for CYP2A6 in nicotine C-oxidation by human liver microsomes. *J Pharmacol Exp Ther* 282: 1608-14
- Mesulam MM (1989) Behavioral neuroanatomy of cholinergic innervation in the primate cerebral cortex. *Exs* 57: 1-11
- Meyers RA, Zavala AR, Neisewander JL (2003) Dorsal, but not ventral, hippocampal lesions disrupt cocaine place conditioning. *Neuroreport* 14: 2127-31
- Meyers RA, Zavala AR, Speer CM, Neisewander JL (2006) Dorsal hippocampus inhibition disrupts acquisition and expression, but not consolidation, of cocaine conditioned place preference. *Behav Neurosci* 120: 401-12
- Milekic MH, Brown SD, Castellini C, Alberini CM (2006) Persistent disruption of an established morphine conditioned place preference. *J Neurosci* 26: 3010-20
- Millan MJ, Newman-Tancredi A, Audinot V, Cussac D, Lejeune F, Nicolas JP, Coge F, Galizzi JP, Boutin JA, Rivet JM, Dekeyne A, Gobert A (2000a) Agonist and antagonist actions of yohimbine as compared to fluparoxan at alpha(2)-adrenergic receptors (AR)s, serotonin (5-HT)(1A), 5-HT(1B), 5-HT(1D) and dopamine D(2) and D(3) receptors. Significance for the modulation of frontocortical monoaminergic transmission and depressive states. *Synapse* 35: 79-95
- Millan MJ, Dekeyne A, Newman-Tancredi A, Cussac D, Audinot V, Milligan G, Duqueyroix D, Girardon S, Mullot J, Boutin JA, Nicolas JP, Renouard-Try A, Lacoste JM, Cordi A (2000b) S18616, a highly potent, spiroimidazoline agonist at alpha(2)-adrenoceptors: I. Receptor profile, antinociceptive and hypothermic actions in comparison with dexmedetomidine and clonidine. *J Pharmacol Exp Ther* 295: 1192-205
- Miller CA, Marshall JF (2005) Molecular substrates for retrieval and reconsolidation of cocaine-associated contextual memory. *Neuron* 47: 873-84
- Minana MD, Montoliu C, Llansola M, Grisolia S, Felipo V (1998) Nicotine prevents glutamate-induced proteolysis of the microtubule-associated protein MAP-2 and glutamate neurotoxicity in primary cultures of cerebellar neurons. *Neuropharmacology* 37: 847-57
- Mingote S, de Bruin JP, Feenstra MG (2004) Noradrenaline and dopamine efflux in the prefrontal cortex in relation to appetitive classical conditioning. *J Neurosci* 24: 2475-80
- Molimard R (2001) [Dependence, is nicotine solely responsible?]. *Soins Psychiatr*: 33-5
- Mombereau C, Lhuillier L, Kaupmann K, Cryan J (2007) GABAB Receptor Positive Modulation-Induced Blockade of the Rewarding Properties of Nicotine is Associated with a Reduction in Nucleus Accumbens {Delta}FosB Accumulation. *J Pharmacol Exp Ther* 321: 172-7

- Moore RY, Bloom FE (1979) Central catecholamine neuron systems: anatomy and physiology of the norepinephrine and epinephrine systems. *Annu Rev Neurosci* 2: 113-68
- Moore RY (1981) The anatomy of central serotonin neuron system in the rat brain. In: Jacobs B L, A G (eds) *Serotonin neurotransmission and behavior*. MIT Press, Cambridge, Mass, pp 35-71
- Morris RG, Garrud P, Rawlins JN, O'Keefe J (1982) Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature* 297: 681-3
- Mueller D, Stewart J (2000) Cocaine-induced conditioned place preference: reinstatement by priming injections of cocaine after extinction. *Behav Brain Res* 115: 39-47
- Mueller D, Perdikaris D, Stewart J (2002) Persistence and drug-induced reinstatement of a morphine-induced conditioned place preference. *Behav Brain Res* 136: 389-97
- Muir JL, Everitt BJ, Robbins TW (1995) Reversal of visual attentional dysfunction following lesions of the cholinergic basal forebrain by physostigmine and nicotine but not by the 5-HT₃ receptor antagonist, ondansetron. *Psychopharmacology (Berl)* 118: 82-92
- Murchison CF, Zhang XY, Zhang WP, Ouyang M, Lee A, Thomas SA (2004) A distinct role for norepinephrine in memory retrieval. *Cell* 117: 131-43

-N-

- Nader K (2003) Memory traces unbound. *Trends Neurosci* 26: 65-72
- Nakazi M, Bauer U, Nickel T, Kathmann M, Schlicker E (2000) Inhibition of serotonin release in the mouse brain via presynaptic cannabinoid CB₁ receptors. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 361: 19-24
- Nanri M, Yamamoto J, Miyake H, Watanabe H (1998) Protective effect of GTS-21, a novel nicotinic receptor agonist, on delayed neuronal death induced by ischemia in gerbils. *Jpn J Pharmacol* 76: 23-9
- Navarro M, Carrera MR, Fratta W, Valverde O, Cossu G, Fattore L, Chowen JA, Gomez R, del Arco I, Villanua MA, Maldonado R, Koob GF, Rodriguez de Fonseca F (2001) Functional interaction between opioid and cannabinoid receptors in drug self-administration. *J Neurosci* 21: 5344-50
- Nelson DL, Herbet A, Enjalbert A, Bockaert J, Hamon M (1980) Serotonin-sensitive adenylate cyclase and 3H-serotonin binding sites in the central nervous system of the rat. *Biochem Pharmacol* 29: 2445-2453
- Neve KA, Henningsen RA, Kinzie JM, De Paulis T, Schmidt DE, Kessler RM, Janowsky A (1990) Sodium-dependent isomerization of dopamine D-2 receptors characterized using [125I]epidepride, a high-affinity substituted benzamide ligand. *J Pharmacol Exp Ther* 252: 1108-16
- Newhouse P, Singh A, Potter A (2004) Nicotine and nicotinic receptor involvement in neuropsychiatric disorders. *Curr Top Med Chem* 4: 267-82
- Nguyen HN, Rasmussen BA, Perry DC (2003) Subtype-selective up-regulation by chronic nicotine of high-affinity nicotinic receptors in rat brain demonstrated by receptor autoradiography. *J Pharmacol Exp Ther* 307: 1090-7
- Nicola SM, Taha SA, Kim SW, Fields HL (2005) Nucleus accumbens dopamine release is necessary and sufficient to promote the behavioral response to reward-predictive cues. *Neuroscience* 135: 1025-33

Nisell M, Nomikos GG, Hertel P, Panagis G, Svensson TH (1996) Condition-independent sensitization of locomotor stimulation and mesocortical dopamine release following chronic nicotine treatment in the rat. *Synapse* 22: 369-81

-O-

O'Rourke MF, Blaxall HS, Iversen LJ, Bylund DB (1994) Characterization of [³H]RX821002 binding to alpha-2 adrenergic receptor subtypes. *J Pharmacol Exp Ther* 268: 1362-7

Odagaki Y, Nishi N, Koyama T (1998) Receptor-mediated and receptor-independent activation of G-proteins in rat brain membranes. *Life Sci* 62: 1537-41

Olausson P, Engel JA, Soderpalm B (1999) Behavioral sensitization to nicotine is associated with behavioral disinhibition; counteraction by citalopram. *Psychopharmacology (Berl)* 142: 111-9

Olausson P, Akesson P, Petersson A, Engel JA, Soderpalm B (2001) Behavioral and neurochemical consequences of repeated nicotine treatment in the serotonin-depleted rat. *Psychopharmacology (Berl)* 155: 348-61

Olausson P, Akesson P, Engel JA, Soderpalm B (2001) Effects of 5-HT1A and 5-HT2 receptor agonists on the behavioral and neurochemical consequences of repeated nicotine treatment. *Eur J Pharmacol* 420: 45-54

Olausson P, Engel JA, Soderpalm B (2002) Involvement of serotonin in nicotine dependence: processes relevant to positive and negative regulation of drug intake. *Pharmacol Biochem Behav* 71: 757-71

Olds ME (1994) Opposite effects of PCA and chlorimipramine on ICSS and on its facilitation by amphetamine. *Pharmacol Biochem Behav* 47: 803-17

Oorschot DE (1996) Total number of neurons in the neostriatal, pallidal, subthalamic, and substantia nigral nuclei of the rat basal ganglia: a stereological study using the cavalieri and optical disector methods. *J Comp Neurol* 366: 580-99

-P-

Pak AC, Ashby CR, Heidbreder CA, Pilla M, Gilbert J, Xi ZX, Gardner EL (2006) The selective dopamine D3 receptor antagonist SB-277011A reduces nicotine-enhanced brain reward and nicotine-paired environmental cue functions. *Int J Neuropsychopharmacol*: 1-18

Palacios JM, Hoyer D, Cortes R (1987) alpha 1-Adrenoceptors in the mammalian brain: similar pharmacology but different distribution in rodents and primates. *Brain Res* 419: 65-75

Palmatier MI, Evans-Martin FF, Hoffman A, Caggiula AR, Chaudhri N, Donny EC, Liu X, Booth S, Gharib M, Craven L, Sved AF (2006) Dissociating the primary reinforcing and reinforcement-enhancing effects of nicotine using a rat self-administration paradigm with concurrently available drug and environmental reinforcers. *Psychopharmacology (Berl)* 184: 391-400

Pan X, Ikeda SR, Lewis DL (1998) SR 141716A acts as an inverse agonist to increase neuronal voltage-dependent Ca²⁺ currents by reversal of tonic CB1 cannabinoid receptor activity. *Mol Pharmacol* 54: 1064-72

Parker LA (1992) Place conditioning in a three- or four-choice apparatus: role of stimulus novelty in drug-induced place conditioning. *Behav Neurosci* 106: 294-306

Parker LA, Gillies T (1995) THC-induced place and taste aversions in Lewis and Sprague-Dawley rats. *Behav Neurosci* 109: 71-8

- Parker LA, McDonald RV (2000) Reinstatement of both a conditioned place preference and a conditioned place aversion with drug primes. *Pharmacol Biochem Behav* 66: 559-61
- Parker SL, Fu Y, McAllen K, Luo J, McIntosh JM, Lindstrom JM, Sharp BM (2004) Up-regulation of brain nicotinic acetylcholine receptors in the rat during long-term self-administration of nicotine: disproportionate increase of the alpha6 subunit. *Mol Pharmacol* 65: 611-22
- Parsons LH, Justice JB, Jr. (1993) Serotonin and dopamine sensitization in the nucleus accumbens, ventral tegmental area, and dorsal raphe nucleus following repeated cocaine administration. *J Neurochem* 61: 1611-9
- Parsons LH, Weiss F, Koob GF (1998) Serotonin1B receptor stimulation enhances cocaine reinforcement. *J Neurosci* 18: 10078-89
- Partridge JG, Apparsundaram S, Gerhardt GA, Ronesi J, Lovinger DM (2002) Nicotinic acetylcholine receptors interact with dopamine in induction of striatal long-term depression. *J Neurosci* 22: 2541-9
- Paterson NE, Markou A (2003) Increased motivation for self-administered cocaine after escalated cocaine intake. *Neuroreport* 14: 2229-32
- Paterson NE, Semenova S, Gasparini F, Markou A (2003) The mGluR5 antagonist MPEP decreased nicotine self-administration in rats and mice. *Psychopharmacology (Berl)* 167: 257-64
- Paterson NE, Markou A (2004) Prolonged nicotine dependence associated with extended access to nicotine self-administration in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 173: 64-72
- Peeke SC, Peeke HV (1984) Attention, memory, and cigarette smoking. *Psychopharmacology (Berl)* 84: 205-16
- Peltier R, Schenk S (1993) Effects of serotonergic manipulations on cocaine self-administration in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 110: 390-4
- Peng X, Gerzanich V, Anand R, Whiting PJ, Lindstrom J (1994) Nicotine-induced increase in neuronal nicotinic receptors results from a decrease in the rate of receptor turnover. *Mol Pharmacol* 46: 523-30
- Perry DC, Davila-Garcia MI, Stockmeier CA, Kellar KJ (1999) Increased nicotinic receptors in brains from smokers: membrane binding and autoradiography studies. *J Pharmacol Exp Ther* 289: 1545-52
- Pertwee RG (1997) Pharmacology of cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Pharmacol Ther* 74: 129-80
- Peto R, Lopez AD, Boreham J, Thun M, Heath C, Jr. (1992) Mortality from tobacco in developed countries: indirect estimation from national vital statistics. *Lancet* 339: 1268-78
- Picciotto MR, Zoli M, Rimondini R, Lena C, Marubio LM, Pich EM, Fuxe K, Changeux JP (1998) Acetylcholine receptors containing the beta2 subunit are involved in the reinforcing properties of nicotine. *Nature* 391: 173-7
- Picciotto MR, Brunzell DH, Caldarone BJ (2002) Effect of nicotine and nicotinic receptors on anxiety and depression. *Neuroreport* 13: 1097-106
- Picciotto MR, Zoli M (2002) Nicotinic receptors in aging and dementia. *J Neurobiol* 53: 641-55
- Picciotto MR (2003) Nicotine as a modulator of behavior: beyond the inverted U. *Trends Pharmacol Sci* 24: 493-9
- Pickworth WB, Moolchan ET, Berlin I, Murty R (2002) Sensory and physiologic effects of menthol and non-menthol cigarettes with differing nicotine delivery. *Pharmacol Biochem Behav* 71: 55-61

- Pidoplichko VI, DeBiasi M, Williams JT, Dani JA (1997) Nicotine activates and desensitizes midbrain dopamine neurons. *Nature* 390: 401-4
- Pieribone VA, Nicholas AP, Dagerlind A, Hokfelt T (1994) Distribution of alpha 1 adrenoceptors in rat brain revealed by in situ hybridization experiments utilizing subtype-specific probes. *J Neurosci* 14: 4252-68
- Piomelli D, Giuffrida A, Calignano A, Rodriguez de Fonseca F (2000) The endocannabinoid system as a target for therapeutic drugs. *Trends Pharmacol Sci* 21: 218-24
- Poncelet M, Maruani J, Calassi R, Soubrie P (2003) Overeating, alcohol and sucrose consumption decrease in CB1 receptor deleted mice. *Neurosci Lett* 343: 216-8
- Pontieri FE, Tanda G, Orzi F, Di Chiara G (1996) Effects of nicotine on the nucleus accumbens and similarity to those of addictive drugs. *Nature* 382: 255-7
- Popik P, Kolasiewicz W (1999) Mesolimbic NMDA receptors are implicated in the expression of conditioned morphine reward. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol* 359: 288-94
- Popik P, Wrobel M (2002) Morphine conditioned reward is inhibited by MPEP, the mGluR5 antagonist. *Neuropharmacology* 43: 1210-7
- Porrino LJ, Ritz MC, Goodman NL, Sharpe LG, Kuhar MJ, Goldberg SR (1989) Differential effects of the pharmacological manipulation of serotonin systems on cocaine and amphetamine self-administration in rats. *Life Sci* 45: 1529-35
- Porter AC, Sauer JM, Knierman MD, Becker GW, Berna MJ, Bao J, Nomikos GG, Carter P, Bymaster FP, Leese AB, Felder CC (2002) Characterization of a novel endocannabinoid, virodhamine, with antagonist activity at the CB1 receptor. *J Pharmacol Exp Ther* 301: 1020-4
- Portier M, Rinaldi-Carmona M, Pecceu F, Combes T, Poinot-Chazel C, Calandra B, Barth F, le Fur G, Casellas P (1999) SR 144528, an antagonist for the peripheral cannabinoid receptor that behaves as an inverse agonist. *J Pharmacol Exp Ther* 288: 582-9
- Pothos EN, Creese I, Hoebel BG (1995) Restricted eating with weight loss selectively decreases extracellular dopamine in the nucleus accumbens and alters dopamine response to amphetamine, morphine, and food intake. *J Neurosci* 15: 6640-50
- Pritchett D, Bach A, Wozny M, Taleb O, Toso RD, Shih J, Seeburg P (1988) Structure and functional expression of cloned rat serotonin 5-HT₂ receptor. *EMBO* 7: 4135-4140
- Pryor GT, Larsen FF, Husain S, Braude MC (1978) Interactions of delta9-tetrahydrocannabinol with d-amphetamine, cocaine, and nicotine in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 8: 295-318
- Puma C, Deschaux O, Molimard R, Bizot JC (1999) Nicotine improves memory in an object recognition task in rats. *Eur Neuropsychopharmacol* 9: 323-7

-Q-

- Quarta D, Ciruela F, Patkar K, Borycz J, Solinas M, Lluís C, Franco R, Wise RA, Goldberg SR, Hope BT, Woods AS, Ferre S (2007) Heteromeric nicotinic acetylcholine-dopamine autoreceptor complexes modulate striatal dopamine release. *Neuropsychopharmacology* 32: 35-42

-R-

- Racz I, Bilkei-Gorzo A, Toth ZE, Michel K, Palkovits M, Zimmer A (2003) A critical role for the cannabinoid CB1 receptors in alcohol dependence and stress-stimulated ethanol drinking. *J Neurosci* 23: 2453-8
- Rainbow TC, Biegon A (1983) Quantitative autoradiography of [3H]prazosin binding sites in rat forebrain. *Neurosci Lett* 40: 221-6
- Rao TS, Correa LD, Adams P, Santori EM, Sacaan AI (2003) Pharmacological characterization of dopamine, norepinephrine and serotonin release in the rat prefrontal cortex by neuronal nicotinic acetylcholine receptor agonists. *Brain Res* 990: 203-8
- Rasmussen BA, Perry DC (2006) An autoradiographic analysis of [125I]alpha-bungarotoxin binding in rat brain after chronic nicotine exposure. *Neurosci Lett* 404: 9-14
- Rasmussen T, Swedberg MD (1998) Reinforcing effects of nicotinic compounds: intravenous self-administration in drug-naive mice. *Pharmacol Biochem Behav* 60: 567-73
- Rauhut AS, Mullins SN, Dwoskin LP, Bardo MT (2002) Reboxetine: attenuation of intravenous nicotine self-administration in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 303: 664-72
- Rauhut AS, Neugebauer N, Dwoskin LP, Bardo MT (2003) Effect of bupropion on nicotine self-administration in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 169: 1-9
- Ravinet Trillou C, Arnone M, Delgorge C, Gonalons N, Keane P, Maffrand JP, Soubrie P (2003) Anti-obesity effect of SR141716, a CB1 receptor antagonist, in diet-induced obese mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 284: R345-53
- Rebec GV, Sun W (2005) Neuronal substrates of relapse to cocaine-seeking behavior: role of prefrontal cortex. *J Exp Anal Behav* 84: 653-66
- Redgrave P (1978) Modulation of intracranial self-stimulation behaviour by local perfusions of dopamine, noradrenaline and serotonin within the caudate nucleus and nucleus accumbens. *Brain Res* 155: 277-95
- Redgrave P, Prescott TJ, Gurney K (1999) Is the short-latency dopamine response too short to signal reward error? *Trends Neurosci* 22: 146-51
- Reid MS, Ho LB, Berger SP (1996) Effects of environmental conditioning on the development of nicotine sensitization: behavioral and neurochemical analysis. *Psychopharmacology (Berl)* 126: 301-10
- Ressler KJ, Nemeroff CB (1999) Role of norepinephrine in the pathophysiology and treatment of mood disorders. *Biol Psychiatry* 46: 1219-33
- Reuben M, Clarke PB (2000) Nicotine-evoked [3H]5-hydroxytryptamine release from rat striatal synaptosomes. *Neuropharmacology* 39: 290-9
- Reynolds JA, Karlin A (1978) Molecular weight in detergent solution of acetylcholine receptor from *Torpedo californica*. *Biochemistry* 17: 2035-8
- Rezvani AH, Bushnell PJ, Levin ED (2002) Effects of nicotine and mecamylamine on choice accuracy in an operant visual signal detection task in female rats. *Psychopharmacology (Berl)* 164: 369-75
- Rezvani AH, Levin ED (2003a) Nicotine-alcohol interactions and attentional performance on an operant visual signal detection task in female rats. *Pharmacol Biochem Behav* 76: 75-83
- Rezvani AH, Levin ED (2003b) Nicotinic-glutamatergic interactions and attentional performance on an operant visual signal detection task in female rats. *Eur J Pharmacol* 465: 83-90

- Rezvani AH, Levin ED (2004) Nicotine-antipsychotic drug interactions and attentional performance in female rats. *Eur J Pharmacol* 486: 175-82
- Ribeiro FM, Black SA, Prado VF, Rylett RJ, Ferguson SS, Prado MA (2006) The "ins" and "outs" of the high-affinity choline transporter CHT1. *J Neurochem* 97: 1-12
- Rice ME, Cragg SJ (2004) Nicotine amplifies reward-related dopamine signals in striatum. *Nat Neurosci* 7: 583-4
- Rice OV, Gordon N, Gifford AN (2002) Conditioned place preference to morphine in cannabinoid CB1 receptor knockout mice. *Brain Res* 945: 135-8
- Richards M, Jarvis MJ, Thompson N, Wadsworth ME (2003) Cigarette smoking and cognitive decline in midlife: evidence from a prospective birth cohort study. *Am J Public Health* 93: 994-8
- Riegel AC, Lupica CR (2004) Independent presynaptic and postsynaptic mechanisms regulate endocannabinoid signaling at multiple synapses in the ventral tegmental area. *J Neurosci* 24: 11070-8
- Riekkinen M, Tolonen R, Riekkinen P, Jr. (1994a) Interaction between 5-HT1A and nicotinic cholinergic receptors in the regulation of water maze navigation behavior. *Brain Res* 649: 174-80
- Riekkinen P, Jr., Riekkinen M, Sirvio J, Riekkinen P (1992) Effects of concurrent nicotinic antagonist and PCPA treatments on spatial and passive avoidance learning. *Brain Res* 575: 247-50
- Riekkinen P, Jr., Sirvio J, Riekkinen M (1994b) Serotonin depletion decreases the therapeutic effect of nicotine, but not THA in medial septal-lesioned rats. *Brain Res* 662: 95-102
- Rinaldi-Carmona M, Barth F, Heaulme M, Shire D, Calandra B, Congy C, Martinez S, Maruani J, Neliat G, Caput D, et al. (1994) SR141716A, a potent and selective antagonist of the brain cannabinoid receptor. *FEBS Lett* 350: 240-4
- Rinaldi-Carmona M, Barth F, Millan J, Derocq JM, Casellas P, Congy C, Oustric D, Sarran M, Bouaboula M, Calandra B, Portier M, Shire D, Breliere JC, Le Fur GL (1998) SR 144528, the first potent and selective antagonist of the CB2 cannabinoid receptor. *J Pharmacol Exp Ther* 284: 644-50
- Rinaldi-Carmona M, Barth F, Congy C, Martinez S, Oustric D, Perio A, Poncelet M, Maruani J, Arnone M, Finance O, Soubrie P, Le Fur G (2004) SR147778 [5-(4-bromophenyl)-1-(2,4-dichlorophenyl)-4-ethyl-N-(1-piperidinyl)-1H-pyr azole-3-carboxamide], a new potent and selective antagonist of the CB1 cannabinoid receptor: biochemical and pharmacological characterization. *J Pharmacol Exp Ther* 310: 905-14
- Risinger FO, Oakes RA (1995) Nicotine-induced conditioned place preference and conditioned place aversion in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 51: 457-61
- Risner ME, Goldberg SR (1983) A comparison of nicotine and cocaine self-administration in the dog: fixed-ratio and progressive-ratio schedules of intravenous drug infusion. *J Pharmacol Exp Ther* 224: 319-26
- Robbe D, Alonso G, Duchamp F, Bockaert J, Manzoni OJ (2001) Localization and mechanisms of action of cannabinoid receptors at the glutamatergic synapses of the mouse nucleus accumbens. *J Neurosci* 21: 109-16
- Robbe D, Kopf M, Remaury A, Bockaert J, Manzoni OJ (2002) Endogenous cannabinoids mediate long-term synaptic depression in the nucleus accumbens. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99: 8384-8
- Robbins TW, Everitt BJ (1996) Neurobehavioural mechanisms of reward and motivation. *Curr Opin Neurobiol* 6: 228-36

- Robbins TW, Everitt BJ (2002) Limbic-striatal memory systems and drug addiction. *Neurobiol Learn Mem* 78: 625-36
- Roberts DC, Loh EA, Baker GB, Vickers G (1994) Lesions of central serotonin systems affect responding on a progressive ratio schedule reinforced either by intravenous cocaine or by food. *Pharmacol Biochem Behav* 49: 177-82
- Robinson TE, Berridge KC (1993) The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Res Brain Res Rev* 18: 247-91
- Rodriguez de Fonseca F, Roberts AJ, Bilbao A, Koob GF, Navarro M (1999) Cannabinoid receptor antagonist SR141716A decreases operant ethanol self administration in rats exposed to ethanol-vapor chambers. *Zhongguo Yao Li Xue Bao* 20: 1109-14
- Rodriguez de Fonseca F, Del Arco I, Bermudez-Silva FJ, Bilbao A, Cippitelli A, Navarro M (2005) The endocannabinoid system: physiology and pharmacology. *Alcohol Alcohol* 40: 2-14
- Rodriguez JJ, Mackie K, Pickel VM (2001) Ultrastructural localization of the CB1 cannabinoid receptor in mu-opioid receptor patches of the rat Caudate putamen nucleus. *J Neurosci* 21: 823-33
- Rogers SW, Gahring LC, Collins AC, Marks M (1998) Age-related changes in neuronal nicotinic acetylcholine receptor subunit alpha4 expression are modified by long-term nicotine administration. *J Neurosci* 18: 4825-32
- Roitman MF, Stuber GD, Phillips PE, Wightman RM, Carelli RM (2004) Dopamine operates as a subsecond modulator of food seeking. *J Neurosci* 24: 1265-71
- Role LW (1992) Diversity in primary structure and function of neuronal nicotinic acetylcholine receptor channels. *Curr Opin Neurobiol* 2: 254-62
- Rose JE, Corrigall WA (1997) Nicotine self-administration in animals and humans: similarities and differences. *Psychopharmacology (Berl)* 130: 28-40
- Ross RA, Brockie HC, Stevenson LA, Murphy VL, Templeton F, Makriyannis A, Pertwee RG (1999) Agonist-inverse agonist characterization at CB1 and CB2 cannabinoid receptors of L759633, L759656, and AM630. *Br J Pharmacol* 126: 665-72
- Ross RA, Gibson TM, Brockie HC, Leslie M, Pashmi G, Craib SJ, Di Marzo V, Pertwee RG (2001) Structure-activity relationship for the endogenous cannabinoid, anandamide, and certain of its analogues at vanilloid receptors in transfected cells and vas deferens. *Br J Pharmacol* 132: 631-40
- Ross RS, Eichenbaum H (2006) Dynamics of hippocampal and cortical activation during consolidation of a nonspatial memory. *J Neurosci* 26: 4852-9
- Rossato JI, Bevilaqua LR, Medina JH, Izquierdo I, Cammarota M (2006) Retrieval induces hippocampal-dependent reconsolidation of spatial memory. *Learn Mem* 13: 431-40
- Rossato JI, Bevilaqua LR, Myskiw JC, Medina JH, Izquierdo I, Cammarota M (2007) On the role of hippocampal protein synthesis in the consolidation and reconsolidation of object recognition memory. *Learn Mem* 14: 36-46
- Roth BL, Nakaki T, Chuang D, Costa E (1986) 5-hydroxytryptamine₂ receptors coupled to phospholipase C in rat aorta: modulation of phosphoinositide turnover by phorbol ester. *J Pharmacol Exp Ther* 238: 480-485
- Rouge-Pont F, Marinelli M, Le Moal M, Simon H, Piazza PV (1995) Stress-induced sensitization and glucocorticoids. II. Sensitization of the increase in extracellular dopamine induced by cocaine depends on stress-induced corticosterone secretion. *J Neurosci* 15: 7189-95

- Rowell PP, Wonnacott S (1990) Evidence for functional activity of up-regulated nicotine binding sites in rat striatal synaptosomes. *J Neurochem* 55: 2105-10
- Rubino T, Vigano D, Massi P, Spinello M, Zagato E, Giagnoni G, Parolaro D (2000a) Chronic delta-9-tetrahydrocannabinol treatment increases cAMP levels and cAMP-dependent protein kinase activity in some rat brain regions. *Neuropharmacology* 39: 1331-6
- Rubino T, Vigano D, Zagato E, Sala M, Parolaro D (2000b) In vivo characterization of the specific cannabinoid receptor antagonist, SR141716A: behavioral and cellular responses after acute and chronic treatments. *Synapse* 35: 8-14
- Ruffolo RR, Jr., Stadel JM, Hieble JP (1994) Alpha-adrenoceptors: recent developments. *Med Res Rev* 14: 229-70

-S-

- Saal D, Dong Y, Bonci A, Malenka RC (2003) Drugs of abuse and stress trigger a common synaptic adaptation in dopamine neurons. *Neuron* 37: 577-82
- Saavedra JM, Brownstein M, Palkovits M (1974) Serotonin distribution in the limbic system of the rat. *Brain Research* 79: 437-441
- Sabol SZ, Nelson ML, Fisher C, Gunzerath L, Brody CL, Hu S, Sirota LA, Marcus SE, Greenberg BD, Lucas FRt, Benjamin J, Murphy DL, Hamer DH (1999) A genetic association for cigarette smoking behavior. *Health Psychol* 18: 7-13
- Sacaan AI, Dunlop JL, Lloyd GK (1995) Pharmacological characterization of neuronal acetylcholine gated ion channel receptor-mediated hippocampal norepinephrine and striatal dopamine release from rat brain slices. *J Pharmacol Exp Ther* 274: 224-30
- Salamone JD, Cousins MS, Bucher S (1994) Anhedonia or anergia? Effects of haloperidol and nucleus accumbens dopamine depletion on instrumental response selection in a T-maze cost/benefit procedure. *Behav Brain Res* 65: 221-9
- Salamone JD, Correa M (2002) Motivational views of reinforcement: implications for understanding the behavioral functions of nucleus accumbens dopamine. *Behav Brain Res* 137: 3-25
- Salas R, Cook KD, Bassetto L, De Biasi M (2004) The alpha3 and beta4 nicotinic acetylcholine receptor subunits are necessary for nicotine-induced seizures and hypolocomotion in mice. *Neuropharmacology* 47: 401-7
- Salminen O, Murphy KL, McIntosh JM, Drago J, Marks MJ, Collins AC, Grady SR (2004) Subunit composition and pharmacology of two classes of striatal presynaptic nicotinic acetylcholine receptors mediating dopamine release in mice. *Mol Pharmacol* 65: 1526-35
- Samaha AN, Robinson TE (2005) Why does the rapid delivery of drugs to the brain promote addiction? *Trends Pharmacol Sci* 26: 82-7
- Sanchez CJ, Sorg BA (2001) Conditioned fear stimuli reinstate cocaine-induced conditioned place preference. *Brain Res* 908: 86-92
- Sanchez CJ, Bailie TM, Wu WR, Li N, Sorg BA (2003) Manipulation of dopamine d1-like receptor activation in the rat medial prefrontal cortex alters stress- and cocaine-induced reinstatement of conditioned place preference behavior. *Neuroscience* 119: 497-505
- Sannerud CA, Prada J, Goldberg DM, Goldberg SR (1994) The effects of sertraline on nicotine self-administration and food-maintained responding in squirrel monkeys. *Eur J Pharmacol* 271: 461-9

- Santarelli L, Saxe M, Gross C, Surget A, Battaglia F, Dulawa S, Weisstaub N, Lee J, Duman R, Arancio O, Belzung C, Hen R (2003) Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science* 301: 805-9
- Sanudo-Pena MC, Tsou K, Delay ER, Hohman AG, Force M, Walker JM (1997) Endogenous cannabinoids as an aversive or counter-rewarding system in the rat. *Neurosci Lett* 223: 125-8
- Sargent PB (1993) The diversity of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Annu Rev Neurosci* 16: 403-43
- Scerri C, Stewart CA, Breen KC, Balfour DJ (2006) The effects of chronic nicotine on spatial learning and bromodeoxyuridine incorporation into the dentate gyrus of the rat. *Psychopharmacology (Berl)* 184: 540-6
- Schenk S (2000) Effects of the serotonin 5-HT(2) antagonist, ritanserin, and the serotonin 5-HT(1A) antagonist, WAY 100635, on cocaine-seeking in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 67: 363-9
- Schultz CA, Kelley AE, Landry CF (2005) Contextual cues associated with nicotine administration increase arc mRNA expression in corticolimbic areas of the rat brain. *Eur J Neurosci* 21: 1703-11
- Schlicker E, Timm J, Gothert M (1996) Cannabinoid receptor-mediated inhibition of dopamine release in the retina. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 354: 791-5
- Schlicker E, Timm J, Zentner J, Gothert M (1997) Cannabinoid CB1 receptor-mediated inhibition of noradrenaline release in the human and guinea-pig hippocampus. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 356: 583-9
- Schoffelmeer AN, De Vries TJ, Wardeh G, van de Ven HW, Vanderschuren LJ (2002) Psychostimulant-induced behavioral sensitization depends on nicotinic receptor activation. *J Neurosci* 22: 3269-76
- Schotte A, Janssen PF, Gommeren W, Luyten WH, Van Gompel P, Lesage AS, De Loore K, Leysen JE (1996) Risperidone compared with new and reference antipsychotic drugs: in vitro and in vivo receptor binding. *Psychopharmacology (Berl)* 124: 57-73
- Schultz W (1986) Responses of midbrain dopamine neurons to behavioral trigger stimuli in the monkey. *J Neurophysiol* 56: 1439-61
- Schultz W, Tremblay L, Hollerman JR (2000) Reward processing in primate orbitofrontal cortex and basal ganglia. *Cereb Cortex* 10: 272-84
- Schwartz RD, Lehmann J, Kellar KJ (1984) Presynaptic nicotinic cholinergic receptors labeled by [³H]acetylcholine on catecholamine and serotonin axons in brain. *J Neurochem* 42: 1495-8
- Schwinn DA, Johnston GI, Page SO, Mosley MJ, Wilson KH, Worman NP, Campbell S, Fidock MD, Furness LM, Parry-Smith DJ, et al. (1995) Cloning and pharmacological characterization of human alpha-1 adrenergic receptors: sequence corrections and direct comparison with other species homologues. *J Pharmacol Exp Ther* 272: 134-42
- Seguela P, Wadiche J, Dineley-Miller K, Dani JA, Patrick JW (1993) Molecular cloning, functional properties, and distribution of rat brain alpha 7: a nicotinic cation channel highly permeable to calcium. *J Neurosci* 13: 596-604
- Self DW, Nestler EJ (1998) Relapse to drug-seeking: neural and molecular mechanisms. *Drug Alcohol Depend* 51: 49-60
- Semba J, Miyoshi R, Kito S (1996) Nicotine protects against the dexamethasone potentiation of kainic acid-induced neurotoxicity in cultured hippocampal neurons. *Brain Res* 735: 335-8

- Sershen H, Balla A, Lajtha A, Vizi ES (1997) Characterization of nicotinic receptors involved in the release of noradrenaline from the hippocampus. *Neuroscience* 77: 121-30
- Shaham Y, Shalev U, Lu L, De Wit H, Stewart J (2003) The reinstatement model of drug relapse: history, methodology and major findings. *Psychopharmacology (Berl)* 168: 3-20
- Sharp BM, Matta SG (1993) Detection by in vivo microdialysis of nicotine-induced norepinephrine secretion from the hypothalamic paraventricular nucleus of freely moving rats: dose-dependency and desensitization. *Endocrinology* 133: 11-9
- Shearman E, Rossi S, Sershen H, Hashim A, Lajtha A (2005) Locally administered low nicotine-induced neurotransmitter changes in areas of cognitive function. *Neurochem Res* 30: 1055-66
- Shelton KL, Hendrick E, Beardsley PM (2004) Interaction of noncontingent cocaine and contingent drug-paired stimuli on cocaine reinstatement. *Eur J Pharmacol* 497: 35-40
- Shi WX, Pun CL, Zhang XX, Jones MD, Bunney BS (2000) Dual effects of D-amphetamine on dopamine neurons mediated by dopamine and nondopamine receptors. *J Neurosci* 20: 3504-11
- Shiffman S, Shadel WG, Niaura R, Khayrallah MA, Jorenby DE, Ryan CF, Ferguson CL (2003) Efficacy of acute administration of nicotine gum in relief of cue-provoked cigarette craving. *Psychopharmacology (Berl)* 166: 343-50
- Shingo AS, Kito S (2005) Effects of nicotine on neurogenesis and plasticity of hippocampal neurons. *J Neural Transm* 112: 1475-8
- Shoaib M, Stolerman IP, Kumar RC (1994) Nicotine-induced place preferences following prior nicotine exposure in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 113: 445-52
- Shoaib M, Schindler CW, Goldberg SR (1997) Nicotine self-administration in rats: strain and nicotine pre-exposure effects on acquisition. *Psychopharmacology (Berl)* 129: 35-43
- Shors TJ, Miesegaes G, Beylin A, Zhao M, Rydel T, Gould E (2001) Neurogenesis in the adult is involved in the formation of trace memories. *Nature* 410: 372-6
- Sim-Selley LJ, Brunk LK, Selley DE (2001) Inhibitory effects of SR141716A on G-protein activation in rat brain. *Eur J Pharmacol* 414: 135-43
- Sim LJ, Selley DE, Childers SR (1995) In vitro autoradiography of receptor-activated G proteins in rat brain by agonist-stimulated guanylyl 5'-[gamma-[35S]thio]-triphosphate binding. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92: 7242-6
- Sim LJ, Selley DE, Xiao R, Childers SR (1996) Differences in G-protein activation by mu- and delta-opioid, and cannabinoid, receptors in rat striatum. *Eur J Pharmacol* 307: 97-105
- Simerly RB, Swanson LW, Gorski R (1984) Demonstration of sexual dimorphism in the distribution of serotonin-immunoreactive fibers in the medial preoptic nucleus of the rat. *J Comp Neurol* 225: 151-166
- Singer G, Wallace M, Hall R (1982a) Effects of dopaminergic nucleus accumbens lesions on the acquisition of schedule induced self injection of nicotine in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 17: 579-81
- Singer G, Oei TP, Wallace M (1982b) Schedule-induced self-injection of drugs. *Neurosci Biobehav Rev* 6: 77-83
- Singh ME, Verty AN, McGregor IS, Mallet PE (2004) A cannabinoid receptor antagonist attenuates conditioned place preference but not behavioural sensitization to morphine. *Brain Res* 1026: 244-53

- Smart D, Jerman JC (2000) Anandamide: an endogenous activator of the vanilloid receptor. *Trends Pharmacol Sci* 21: 134
- Smart D, Jerman JC, Gunthorpe MJ, Brough SJ, Ranson J, Cairns W, Hayes PD, Randall AD, Davis JB (2001) Characterisation using FLIPR of human vanilloid VR1 receptor pharmacology. *Eur J Pharmacol* 417: 51-8
- Snell LD, Johnson KM (1989) Effects of nicotinic agonists and antagonists on N-methyl-D-aspartate-induced 3H-norepinephrine release and 3H-(1-[1-(2-thienyl)cyclohexyl]-piperidine) binding in rat hippocampus. *Synapse* 3: 129-35
- Socci DJ, Sanberg PR, Arendash GW (1995) Nicotine enhances Morris water maze performance of young and aged rats. *Neurobiol Aging* 16: 857-60
- Sofroniew MV, Galletly NP, Isacson O, Svendsen CN (1990) Survival of adult basal forebrain cholinergic neurons after loss of target neurons. *Science* 247: 338-42
- Sokoloff P, Giros B, Martres MP, Bouthenet ML, Schwartz JC (1990) Molecular cloning and characterization of a novel dopamine receptor (D3) as a target for neuroleptics. *Nature* 347: 146-51
- Sokoloff P, Schwartz JC (1995) Novel dopamine receptors half a decade later. *Trends Pharmacol Sci* 16: 270-5
- Solinas M, Panlilio LV, Antoniou K, Pappas LA, Goldberg SR (2003) The cannabinoid CB1 antagonist N-piperidinyl-5-(4-chlorophenyl)-1-(2,4-dichlorophenyl)-4-methylpyrazole-3-carboxamide (SR-141716A) differentially alters the reinforcing effects of heroin under continuous reinforcement, fixed ratio, and progressive ratio schedules of drug self-administration in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 306: 93-102
- Solinas M, Justinova Z, Goldberg SR, Tanda G (2006) Anandamide administration alone and after inhibition of fatty acid amide hydrolase (FAAH) increases dopamine levels in the nucleus accumbens shell in rats. *J Neurochem* 98: 408-19
- Solinas M, Scherma M, Tanda G, Wertheim CE, Fratta W, Goldberg SR (2007) Nicotinic facilitation of delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) discrimination involves endogenous anandamide. *J Pharmacol Exp Ther* 321: 1127-34
- Sommermeier H, Frielingsdorf J, Knorr A (1995) Effects of prazosin on the dopaminergic neurotransmission in rat brain. *Eur J Pharmacol* 276: 267-70
- Soria G, Mendizabal V, Tourino C, Robledo P, Ledent C, Parmentier M, Maldonado R, Valverde O (2005) Lack of CB1 cannabinoid receptor impairs cocaine self-administration. *Neuropsychopharmacology* 30: 1670-80
- Spanagel R, Weiss F (1999) The dopamine hypothesis of reward: past and current status. *Trends Neurosci* 22: 521-7
- Spina L, Fenu S, Longoni R, Rivas E, Di Chiara G (2006) Nicotine-conditioned single-trial place preference: selective role of nucleus accumbens shell dopamine D1 receptors in acquisition. *Psychopharmacology (Berl)* 184: 447-55
- Spitz MR, Shi H, Yang F, Hudmon KS, Jiang H, Chamberlain RM, Amos CI, Wan Y, Cinciripini P, Hong WK, Wu X (1998) Case-control study of the D2 dopamine receptor gene and smoking status in lung cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 90: 358-63
- Steinbusch HWM (1981) Distribution of serotonin-immunoreactivity in the central nervous system of the rat cell bodies and terminals. *Neuroscience* 6: 557-618

- Steinbusch HWM, Nieuwenhuys R (1983) The raphe nuclei of the rat brainstem: A cytoarchitectonic and immunohistochemical study. In: Emson PC (ed) *Chemical Neuroanatomy*. Raven Press, New York, pp 43-78
- Stella N, Schweitzer P, Piomelli D (1997) A second endogenous cannabinoid that modulates long-term potentiation. *Nature* 388: 773-8
- Stewart J (1983) Conditioned and unconditioned drug effects in relapse to opiate and stimulant drug self-administration. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 7: 591-7
- Stolerman IP, Shoaib M (1991) The neurobiology of tobacco addiction. *Trends Pharmacol Sci* 12: 467-73
- Stolerman IP, Chandler CJ, Garcha HS, Newton JM (1997) Selective antagonism of behavioural effects of nicotine by dihydro-beta-erythroidine in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 129: 390-7
- Stolerman IP, Mirza NR, Hahn B, Shoaib M (2000) Nicotine in an animal model of attention. *Eur J Pharmacol* 393: 147-54
- Sullivan PF, Kendler KS (1999) The genetic epidemiology of smoking. *Nicotine Tob Res* 1 Suppl 2: S51-7; discussion S69-70
- Summers KL, Lippiello P, Verhulst S, Giacobini E (1995) 5-fluoronicotine, noranhydroecgonine, and pyridyl-methylpyrrolidine release acetylcholine and biogenic amines in rat cortex in vivo. *Neurochem Res* 20: 1089-94
- Summers KL, Giacobini E (1995) Effects of local and repeated systemic administration of (-)nicotine on extracellular levels of acetylcholine, norepinephrine, dopamine, and serotonin in rat cortex. *Neurochem Res* 20: 753-9
- Summers KL, Lippiello P, Giacobini E (1996) A microdialysis study of the effects of the nicotinic agonist RJR-2403 on cortical release of acetylcholine and biogenic amines. *Neurochem Res* 21: 1181-6
- Summers RJ, McMartin LR (1993) Adrenoceptors and their second messenger systems. *J Neurochem* 60: 10-23
- Suzuki T, Ise Y, Tsuda M, Maeda J, Misawa M (1996) Mecamylamine-precipitated nicotine-withdrawal aversion in rats. *Eur J Pharmacol* 314: 281-4
- Svensson TH, Engberg G (1980) Effect of nicotine on single cell activity in the noradrenergic nucleus locus coeruleus. *Acta Physiol Scand Suppl* 479: 31-4
- Swan GE, Carmelli D (1995) Characteristics associated with excessive weight gain after smoking cessation in men. *Am J Public Health* 85: 73-7
- Swanson LW, Hartman BK (1975) The central adrenergic system. An immunofluorescence study of the location of cell bodies and their efferent connections in the rat utilizing dopamine-beta-hydroxylase as a marker. *J Comp Neurol* 163: 467-505
- Sweatt JD (2001) The neuronal MAP kinase cascade: a biochemical signal integration system subserving synaptic plasticity and memory. *J Neurochem* 76: 1-10
- Szabo B, Siemes S, Wallmichrath I (2002) Inhibition of GABAergic neurotransmission in the ventral tegmental area by cannabinoids. *Eur J Neurosci* 15: 2057-61

-T-

- Tachibana K, Matsumoto M, Togashi H, Kojima T, Morimoto Y, Kemmotsu O, Yoshioka M (2004) Milnacipran, a serotonin and noradrenaline reuptake inhibitor, suppresses long-term potentiation in the rat hippocampal CA1 field via 5-HT_{1A} receptors and alpha 1-adrenoceptors. *Neurosci Lett* 357: 91-4
- Tammimaki A, Pietila K, Raattamaa H, Ahtee L (2006) Effect of quinpirole on striatal dopamine release and locomotor activity in nicotine-treated mice. *Eur J Pharmacol* 531: 118-25
- Tanda G, Munzar P, Goldberg SR (2000) Self-administration behavior is maintained by the psychoactive ingredient of marijuana in squirrel monkeys. *Nat Neurosci* 3: 1073-4
- Tapper AR, McKinney SL, Nashmi R, Schwarz J, Deshpande P, Labarca C, Whiteaker P, Marks MJ, Collins AC, Lester HA (2004) Nicotine activation of alpha4* receptors: sufficient for reward, tolerance, and sensitization. *Science* 306: 1029-32
- Tassin JP (1989) [Dopaminergic systems and their targets]. *Encephale* 15 Spec No: 63-72
- Tepper JM, Sun BC, Martin LP, Creese I (1997) Functional roles of dopamine D2 and D3 autoreceptors on nigrostriatal neurons analyzed by antisense knockdown in vivo. *J Neurosci* 17: 2519-30
- Tepper JM, Bolam JP (2004) Functional diversity and specificity of neostriatal interneurons. *Curr Opin Neurobiol* 14: 685-92
- Terry AV, Jr., Clarke MS (1994) Nicotine stimulation of nerve growth factor receptor expression. *Life Sci* 55: PL91-8
- Tersigni TJ, Rosenberg HC (1996) Local pressure application of cannabinoid agonists increases spontaneous activity of rat substantia nigra pars reticulata neurons without affecting response to iontophoretically-applied GABA. *Brain Res* 733: 184-92
- Thanos PK, Dimitrakakis ES, Rice O, Gifford A, Volkow ND (2005) Ethanol self-administration and ethanol conditioned place preference are reduced in mice lacking cannabinoid CB1 receptors. *Behav Brain Res* 164: 206-13
- Thomas MJ, Beurrier C, Bonci A, Malenka RC (2001) Long-term depression in the nucleus accumbens: a neural correlate of behavioral sensitization to cocaine. *Nat Neurosci* 4: 1217-23
- Tiberi M, Jarvie KR, Silvia C, Falardeau P, Gingrich JA, Godinot N, Bertrand L, Yang-Feng TL, Fremeau RT, Jr., Caron MG (1991) Cloning, molecular characterization, and chromosomal assignment of a gene encoding a second D1 dopamine receptor subtype: differential expression pattern in rat brain compared with the D1A receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88: 7491-5
- Tiffany ST, Drobes DJ (1991) The development and initial validation of a questionnaire on smoking urges. *Br J Addict* 86: 1467-76
- Titishov N, Mechoulam R, Zimmerman AM (1989) Stereospecific effects of (-)- and (+)-7-hydroxy-delta-6-tetrahydrocannabinol-dimethylheptyl on the immune system of mice. *Pharmacology* 39: 337-49
- Tomkins DM, Joharchi N, Tampakeras M, Martin JR, Wichmann J, Higgins GA (2002) An investigation of the role of 5-HT(2C) receptors in modifying ethanol self-administration behaviour. *Pharmacol Biochem Behav* 71: 735-44
- Tritto T, Marley RJ, Bastidas D, Stitzel JA, Collins AC (2001) Potential regulation of nicotine and ethanol actions by alpha4-containing nicotinic receptors. *Alcohol* 24: 69-78
- Tritto T, McCallum SE, Waddle SA, Hutton SR, Paylor R, Collins AC, Marks MJ (2004) Null mutant analysis of responses to nicotine: deletion of beta2 nicotinic acetylcholine receptor subunit but

not alpha7 subunit reduces sensitivity to nicotine-induced locomotor depression and hypothermia. *Nicotine Tob Res* 6: 145-58

- Tronson NC, Taylor JR (2007) Molecular mechanisms of memory reconsolidation. *Nat Rev Neurosci*
- True WR, Heath AC, Scherrer JF, Waterman B, Goldberg J, Lin N, Eisen SA, Lyons MJ, Tsuang MT (1997) Genetic and environmental contributions to smoking. *Addiction* 92: 1277-87
- Tsou K, Brown S, Sanudo-Pena MC, Mackie K, Walker JM (1998) Immunohistochemical distribution of cannabinoid CB1 receptors in the rat central nervous system. *Neuroscience* 83: 393-411
- Tucci SA, Genn RF, File SE (2003) Methyllycaconitine (MLA) blocks the nicotine evoked anxiogenic effect and 5-HT release in the dorsal hippocampus: possible role of alpha7 receptors. *Neuropharmacology* 44: 367-73
- Turner JR, Kellar KJ (2005) Nicotinic cholinergic receptors in the rat cerebellum: multiple heteromeric subtypes. *J Neurosci* 25: 9258-65
- Tyndale RF, Sellers EM (2002) Genetic variation in CYP2A6-mediated nicotine metabolism alters smoking behavior. *Ther Drug Monit* 24: 163-71

-U-

- Ueda N, Puffenbarger RA, Yamamoto S, Deutsch DG (2000) The fatty acid amide hydrolase (FAAH). *Chem Phys Lipids* 108: 107-21
- Ungerstedt U (1971) Stereotaxic mapping of the monoamine pathways in the rat brain. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 367: 1-48

-V-

- Vainio PJ, Tuominen RK (2001) Cotinine binding to nicotinic acetylcholine receptors in bovine chromaffin cell and rat brain membranes. *Nicotine Tob Res* 3: 177-82
- Valera S, Ballivet M, Bertrand D (1992) Progesterone modulates a neuronal nicotinic acetylcholine receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 89: 9949-53
- Valjent E, Maldonado R (2000) A behavioural model to reveal place preference to delta 9-tetrahydrocannabinol in mice. *Psychopharmacology (Berl)* 147: 436-8
- Valjent E, Mitchell JM, Besson MJ, Caboche J, Maldonado R (2002) Behavioural and biochemical evidence for interactions between Delta 9-tetrahydrocannabinol and nicotine. *Br J Pharmacol* 135: 564-78
- Valjent E, Corbille AG, Bertran-Gonzalez J, Herve D, Girault JA (2006) Inhibition of ERK pathway or protein synthesis during reexposure to drugs of abuse erases previously learned place preference. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 2932-7
- Van Kampen M, Selbach K, Schneider R, Schiegel E, Boess F, Schreiber R (2004) AR-R 17779 improves social recognition in rats by activation of nicotinic alpha7 receptors. *Psychopharmacology (Berl)* 172: 375-83
- Van Sickle MD, Duncan M, Kingsley PJ, Mouihate A, Urbani P, Mackie K, Stella N, Makriyannis A, Piomelli D, Davison JS, Marnett LJ, Di Marzo V, Pittman QJ, Patel KD, Sharkey KA (2005) Identification and functional characterization of brainstem cannabinoid CB2 receptors. *Science* 310: 329-32

- Vastola BJ, Douglas LA, Varlinskaya EI, Spear LP (2002) Nicotine-induced conditioned place preference in adolescent and adult rats. *Physiol Behav* 77: 107-14
- Ventura R, Cabib S, Alcaro A, Orsini C, Puglisi-Allegra S (2003) Norepinephrine in the prefrontal cortex is critical for amphetamine-induced reward and mesoaccumbens dopamine release. *J Neurosci* 23: 1879-85
- Ventura R, Alcaro A, Puglisi-Allegra S (2005) Prefrontal cortical norepinephrine release is critical for morphine-induced reward, reinstatement and dopamine release in the nucleus accumbens. *Cereb Cortex* 15: 1877-86
- Ventura R, Morrone C, Puglisi-Allegra S (2007) Prefrontal/accumbal catecholamine system determines motivational salience attribution to both reward- and aversion-related stimuli. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104: 5181-6
- Vincler MA, Eisenach JC (2003) Immunocytochemical localization of the alpha3, alpha4, alpha5, alpha7, beta2, beta3 and beta4 nicotinic acetylcholine receptor subunits in the locus coeruleus of the rat. *Brain Res* 974: 25-36
- Vinklerova J, Novakova J, Sulcova A (2002) Inhibition of methamphetamine self-administration in rats by cannabinoid receptor antagonist AM 251. *J Psychopharmacol* 16: 139-43
- Vinod KY, Hungund BL (2005) Endocannabinoid lipids and mediated system: implications for alcoholism and neuropsychiatric disorders. *Life Sci* 77: 1569-83
- Vouimba RM, Yaniv D, Richter-Levin G (2007) Glucocorticoid receptors and beta-adrenoceptors in basolateral amygdala modulate synaptic plasticity in hippocampal dentate gyrus, but not in area CA1. *Neuropharmacology* 52: 244-52

-W-

- Wada E, McKinnon D, Heinemann S, Patrick J, Swanson LW (1990) The distribution of mRNA encoded by a new member of the neuronal nicotinic acetylcholine receptor gene family (alpha 5) in the rat central nervous system. *Brain Res* 526: 45-53
- Wakasa Y, Takada K, Yanagita T (1995) Reinforcing effect as a function of infusion speed in intravenous self-administration of nicotine in rhesus monkeys. *Nihon Shinkei Seishin Yakurigaku Zasshi* 15: 53-9
- Waksman Y, Olson JM, Carlisle SJ, Cabral GA (1999) The central cannabinoid receptor (CB1) mediates inhibition of nitric oxide production by rat microglial cells. *J Pharmacol Exp Ther* 288: 1357-66
- Walsh SL, Cunningham KA (1997) Serotonergic mechanisms involved in the discriminative stimulus, reinforcing and subjective effects of cocaine. *Psychopharmacology (Berl)* 130: 41-58
- Walters CL, Brown S, Changeux JP, Martin B, Damaj MI (2006) The beta2 but not alpha7 subunit of the nicotinic acetylcholine receptor is required for nicotine-conditioned place preference in mice. *Psychopharmacology (Berl)* 184: 339-44
- Wang B, Luo F, Zhang WT, Han JS (2000) Stress or drug priming induces reinstatement of extinguished conditioned place preference. *Neuroreport* 11: 2781-4
- Wang F, Nelson ME, Kuryatov A, Olale F, Cooper J, Keyser K, Lindstrom J (1998) Chronic nicotine treatment up-regulates human alpha3 beta2 but not alpha3 beta4 acetylcholine receptors stably transfected in human embryonic kidney cells. *J Biol Chem* 273: 28721-32
- Wang L, Liu J, Harvey-White J, Zimmer A, Kunos G (2003) Endocannabinoid signaling via cannabinoid receptor 1 is involved in ethanol preference and its age-dependent decline in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100: 1393-8

- Warburton DM, Wesnes K, Shergold K, James M (1986) Facilitation of learning and state dependency with nicotine. *Psychopharmacology (Berl)* 89: 55-9
- Warburton DM, Rusted JM (1993) Cholinergic control of cognitive resources. *Neuropsychobiology* 28: 43-6
- Watkins SS, Epping-Jordan MP, Koob GF, Markou A (1999) Blockade of nicotine self-administration with nicotinic antagonists in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 62: 743-51
- Watkins SS, Stinus L, Koob GF, Markou A (2000) Reward and somatic changes during precipitated nicotine withdrawal in rats: centrally and peripherally mediated effects. *J Pharmacol Exp Ther* 292: 1053-64
- Weill CL, McNamee MG, Karlin A (1974) Affinity-labeling of purified acetylcholine receptor from *Torpedo californica*. *Biochem Biophys Res Commun* 61: 997-1003
- Weiner DM, Levey AI, Sunahara RK, Niznik HB, O'Dowd BF, Seeman P, Brann MR (1991) D1 and D2 dopamine receptor mRNA in rat brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 88: 1859-63
- Weinshenker D, Schroeder JP (2006) There and Back Again: A Tale of Norepinephrine and Drug Addiction. *Neuropsychopharmacology* doi: 10.1038/sj.npp.1301263
- Weiss F, Maldonado-Vlaar CS, Parsons LH, Kerr TM, Smith DL, Ben-Shahar O (2000) Control of cocaine-seeking behavior by drug-associated stimuli in rats: effects on recovery of extinguished operant-responding and extracellular dopamine levels in amygdala and nucleus accumbens. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97: 4321-6
- Weiss S, Sebben M, Kemp DE, Bockaert J (1986) Serotonin 5-HT₁ receptors mediate inhibition of cyclic AMP production in neurons. *European Journal of Pharmacology* 120: 227-230
- Wenger T, Toth BE, Juaneda C, Leonardelli J, Tramu G (1999) The effects of cannabinoids on the regulation of reproduction. *Life Sci* 65: 695-701
- Wiklund L, Leger L, Persson M (1981) Monoamine cell distribution in the cat brain stem. A fluorescence histochemical study with quantification of indoleaminergic and locus coeruleus cell groups. *J Comp Neurol* 203: 613-647
- Wiley JL, Razdan RK, Martin BR (2006) Evaluation of the role of the arachidonic acid cascade in anandamide's in vivo effects in mice. *Life Sci* 80: 24-35
- Wilson C, Nomikos GG, Collu M, Fibiger HC (1995) Dopaminergic correlates of motivated behavior: importance of drive. *J Neurosci* 15: 5169-78
- Wise RA, Bozarth MA (1985) Brain mechanisms of drug reward and euphoria. *Psychiatr Med* 3: 445-60
- Wise RA (2002) Brain reward circuitry: insights from unsensed incentives. *Neuron* 36: 229-40
- Woolf NJ, Butcher LL (1986) Cholinergic systems in the rat brain: III. Projections from the pontomesencephalic tegmentum to the thalamus, tectum, basal ganglia, and basal forebrain. *Brain Res Bull* 16: 603-37
- Woolf NJ (1991) Cholinergic systems in mammalian brain and spinal cord. *Prog Neurobiol* 37: 475-524
- Woolf NJ (1997) A possible role for cholinergic neurons of the basal forebrain and pontomesencephalon in consciousness. *Conscious Cogn* 6: 574-96
- Wooltorton JR, Pidoplichko VI, Broide RS, Dani JA (2003) Differential desensitization and distribution of nicotinic acetylcholine receptor subtypes in midbrain dopamine areas. *J Neurosci* 23: 3176-85

-X-

Xiao Y, Kellar KJ (2004) The comparative pharmacology and up-regulation of rat neuronal nicotinic receptor subtype binding sites stably expressed in transfected mammalian cells. *J Pharmacol Exp Ther* 310: 98-107

-Y-

Yamashita H, Nakamura S (1996) Nicotine rescues PC12 cells from death induced by nerve growth factor deprivation. *Neurosci Lett* 213: 145-7

Yonghui L, Xigeng Z, Yunjing B, Xiaoyan Y, Nan S (2006) Opposite effects of MK-801 on the expression of food and morphine-induced conditioned place preference in rats. *J Psychopharmacol* 20: 40-6

Yoshida K, Kato Y, Imura H (1980) Nicotine-induced release of noradrenaline from hypothalamic synaptosomes. *Brain Res* 182: 361-8

Yoshimoto K, McBride WJ, Lumeng L, Li TK (1992) Alcohol stimulates the release of dopamine and serotonin in the nucleus accumbens. *Alcohol* 9: 17-22

Young JW, Finlayson K, Spratt C, Marston HM, Crawford N, Kelly JS, Sharkey J (2004) Nicotine improves sustained attention in mice: evidence for involvement of the alpha7 nicotinic acetylcholine receptor. *Neuropsychopharmacology* 29: 891-900

Yu ZJ, Wecker L (1994) Chronic nicotine administration differentially affects neurotransmitter release from rat striatal slices. *J Neurochem* 63: 186-94

Yun IA, Nicola SM, Fields HL (2004a) Contrasting effects of dopamine and glutamate receptor antagonist injection in the nucleus accumbens suggest a neural mechanism underlying cue-evoked goal-directed behavior. *Eur J Neurosci* 20: 249-63

Yun IA, Wakabayashi KT, Fields HL, Nicola SM (2004b) The ventral tegmental area is required for the behavioral and nucleus accumbens neuronal firing responses to incentive cues. *J Neurosci* 24: 2923-33

-Z-

Zacny JP, Apfelbaum JL, Lichtor JL, Zaragoza JG (1993) Effects of 5-hydroxytryptamine₃ antagonist, ondansetron, on cigarette smoking, smoke exposure, and mood in humans. *Pharmacol Biochem Behav* 44: 387-91

Zangen A, Solinas M, Ikemoto S, Goldberg SR, Wise RA (2006) Two brain sites for cannabinoid reward. *J Neurosci* 26: 4901-7

Zaniewska M, McCreary AC, Przegalinski E, Filip M (2006) Evaluation of the role of nicotinic acetylcholine receptor subtypes and cannabinoid system in the discriminative stimulus effects of nicotine in rats. *Eur J Pharmacol* 540: 96-106

Zapata A, Shippenberg TS (2002) D(3) receptor ligands modulate extracellular dopamine clearance in the nucleus accumbens. *J Neurochem* 81: 1035-42

Zarrindast MR, Bahreini T, Adl M (2002) Effect of imipramine on the expression and acquisition of morphine-induced conditioned place preference in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 73: 941-9

- Zhang H, Sulzer D (2004) Frequency-dependent modulation of dopamine release by nicotine. *Nat Neurosci* 7: 581-2
- Zhang XY, Kosten TA (2005) Prazosin, an alpha-1 adrenergic antagonist, reduces cocaine-induced reinstatement of drug-seeking. *Biol Psychiatry* 57: 1202-4
- Zhang XY, Kosten TA (2007) Previous exposure to cocaine enhances cocaine self-administration in an alpha 1-adrenergic receptor dependent manner. *Neuropsychopharmacology* 32: 638-45
- Zhou FM, Liang Y, Dani JA (2001) Endogenous nicotinic cholinergic activity regulates dopamine release in the striatum. *Nat Neurosci* 4: 1224-9
- Zimmer A, Zimmer AM, Hohmann AG, Herkenham M, Bonner TI (1999) Increased mortality, hypoactivity, and hypoalgesia in cannabinoid CB1 receptor knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96: 5780-5
- Zoli M, Lena C, Picciotto MR, Changeux JP (1998) Identification of four classes of brain nicotinic receptors using beta2 mutant mice. *J Neurosci* 18: 4461-72
- Zoli M, Moretti M, Zanardi A, McIntosh JM, Clementi F, Gotti C (2002) Identification of the nicotinic receptor subtypes expressed on dopaminergic terminals in the rat striatum. *J Neurosci* 22: 8785-9
- Zygmunt PM, Petersson J, Andersson DA, Chuang H, Sorgard M, Di Marzo V, Julius D, Hogestatt ED (1999) Vanilloid receptors on sensory nerves mediate the vasodilator action of anandamide. *Nature* 400: 452-7

ARTICLES 1 et 2

Benoît Forget · Michel Hamon · Marie-Hélène Thiébot

Cannabinoid CB₁ receptors are involved in motivational effects of nicotine in rats

Received: 16 December 2004 / Accepted: 21 March 2005 / Published online: 29 June 2005
© Springer-Verlag 2005

Abstract *Rationale:* The endocannabinoid system plays a role in mediating the appetitive value of a variety of reinforcing compounds, either natural rewards or drugs of abuse, but little is known about its involvement in the incentive properties of nicotine. *Objectives:* The objective of the study is to evaluate whether activation of CB₁ cannabinoid receptors is necessary for the establishment and the short- and long-term expression of nicotine-induced conditioned place preference (CPP). This was studied in rats subjected to an unbiased, one-compartment place conditioning procedure, using the selective CB₁ receptor antagonist, rimonabant, as a pharmacological tool. *Methods:* Wistar rats, given previous experience with nicotine in their home cage, were subjected to eight alternating nicotine (0.006–0.6 mg/kg s.c.) and saline pairings with distinct floor textures in an open field and given a test session, with no nicotine injection, in the open field whose floor was covered by two quadrants of the saline-paired texture and two quadrants of the nicotine-paired texture. Rimonabant (0.3–3 mg/kg i.p.) was administered 30 min before each nicotine (0.06 mg/kg) pairing to assess its effect on the establishment of nicotine-CPP. To study the effects of CB₁ receptor blockade on short- and long-term expression of nicotine-CPP, rimonabant was administered as a single injection 30 min before the test session, conducted either 24 h, 3 weeks or 12 weeks after the last conditioning session. *Results:* Rats developed reliable and robust CPP to the 0.06- and 0.125-mg/kg doses of nicotine. Once established, CPP persisted for at least 12 weeks without additional exposure to nicotine and the test apparatus. Pre-pairing injections of rimonabant (3 mg/kg, but not lower doses) prevented the acquisition of nicotine-CPP, and a single pretest administration of rimonabant (3 mg/kg) abolished

the expression of nicotine-CPP when the test session took place 24 h after the last conditioning session. However, rimonabant (3 mg/kg) did not antagonize the expression of nicotine-CPP when the test session was conducted 3 or 12 weeks after the acquisition phase. *Conclusions:* The endocannabinoids are a necessary component in both the perception by rats of the motivational value of nicotine and the short-term capacity of nicotine-paired conditioned stimuli to elicit approach behaviour. In contrast, the acute blockade of CB₁ receptors no longer impairs the long-term control of behaviour by nicotine-associated environmental cues. These data provide support to the notion that the blockade of CB₁ receptors can oppose tobacco dependence, withdrawal and even relapse, though the time window of efficacy and/or the schedule of administration remain to be established.

Keywords Nicotine · Cannabinoid receptor · Rimonabant · Conditioned place preference · Incentive learning · Rat

Introduction

Tobacco and marijuana (*Cannabis sativa*) smoking represent worldwide public health problems. Nicotine is the principal component in tobacco smoke that leads to addiction, and Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) is the major psychoactive component of cannabis. They exert their initial effect at different receptors, highly expressed in the central nervous system (CNS). Nicotine activates neuronal nicotinic acetylcholine (nACh) ion channel receptors, whereas Δ^9 -THC, as well as synthetic compounds (WIN 55,212-2, CP 55,940, HU 210), are agonists at CB₁ and CB₂ cannabinoid G-protein-coupled receptors (Pertwee 1999). Central effects of cannabinoids, including their reinforcing properties, are thought to be mediated by the CB₁ receptor since most of them are counteracted by the potent and selective CB₁ receptor antagonist, rimonabant (Rinaldi-Carmona et al. 1995), or are not observed in CB₁ receptor knockout (KO) mice (Ledent et al. 1999; Zimmer et al. 1999).

B. Forget · M. Hamon · M.-H. Thiébot (✉)
INSERM U.677 (ex. U.288),
Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière,
91 Boulevard de l'Hôpital,
75634 Paris Cedex 13, France
e-mail: thiebot@ext.jussieu.fr
Tel.: +33-1-40779701
Fax: +33-1-40779704

Nicotine and Δ^9 -THC exhibit the main features of addictive drugs. In particular, in animals, they produce discriminative effects and support self-administration behaviour (for reviews, see Chaperon and Thiébot 1999; Stolerman 1999; Di Chiara 2000; Tanda and Goldberg 2003). Nicotine and Δ^9 -THC facilitate intracranial self-stimulation (Schaefer and Michael 1986; Herberg et al. 1993; Lepore et al. 1996), though synthetic CB receptor agonists seem inactive in this respect (Arnold et al. 2001; Vlachou et al. 2003). In addition, an extensive literature indicates that nicotine and CB receptor agonists share with other drugs of abuse the property of activating the mesolimbic dopaminergic (DA) system (for reviews, see Balfour et al. 2000; Di Chiara 2000; Tanda and Goldberg 2003), and this is considered as central to their rewarding motivational properties. Interestingly, nicotine as well as Δ^9 -THC and WIN 55,212-2 increased extracellular levels of DA preferentially in the shell of the nucleus accumbens (NAcc), while having little or no effect in the core (Pontieri et al. 1996; Tanda et al. 1997; Iyaniwura et al. 2001), an effect that is claimed to correlate with the abuse liability of drugs (Di Chiara et al. 1999).

On the other hand, accumulating evidence indicates that an endocannabinoid system exists in the CNS, which is involved in brain reward processes, and behavioural studies suggest that this system plays a pivotal role not only in the motivational effects of cannabinoids, but also in the action of non-cannabinoid reinforcers. In particular, genetic deletion and pharmacological blockade of CB₁ receptors attenuate the motivational properties of various classes of drugs of abuse, in addition to cannabis. Thus, impairment in CB₁ receptor-mediated transmission reduces reinforcing effects of opiates, as evaluated by (1) self-administration procedures (Fratta et al. 1998; Ledent et al. 1999; Cossu et al. 2001; Navarro et al. 2001; Caillé and Parsons 2003; Solinas et al. 2003), (2) reinstatement of seeking behaviour after long-term extinction of self-administration (Fattore et al. 2003), and (3) conditioned place preference (CPP) (Chaperon et al. 1998; Martin et al. 2000; Mas-Nieto et al. 2001; Navarro et al. 2001). The motivational effects of alcohol also appear controlled by endogenous cannabinoid processes (Arnone et al. 1997; Gallate and McGregor 1999; Freedland et al. 2001; Serra et al. 2001; Hungund et al. 2003; Poncelet et al. 2003; Wang et al. 2003; Colombo et al. 2004), and rimonabant blocks the rebound of alcohol intake after transient deprivation (Serra et al. 2002). However, investigations on the role of endocannabinoids in the appetitive effects of psychostimulants have yielded contradictory results. Indeed, rimonabant has been reported to prevent the establishment of cocaine-CPP (Chaperon et al. 1998), to reduce self-administration of methamphetamine (Vinklerová et al. 2002) and to attenuate cocaine seeking induced by cocaine or cocaine-associated cues (De Vries et al. 2001). By contrast, the blockade of CB₁ receptors did not impair cocaine self-administration in rats and monkeys (Fattore et al. 1999; Tanda et al. 2000), and the ability of cocaine or D-amphetamine to sustain self-administration behaviour, as well as cocaine-CPP, was not abolished in CB₁ KO mice (Martin et al. 2000; Cossu et al. 2001). Fi-

nally, several studies indicated that the endocannabinoid system plays a role in the processes which control the motivation to obtain natural reinforcers such as food or palatable solutions (Arnone et al. 1997; Gallate et al. 1999; Kirkham and Williams 2001; Higgs et al. 2003; Sanchis-Segura et al. 2004). Collectively, these studies suggest that the endocannabinoid system could be differentially involved in the motivation for a variety of natural or drug reinforcers.

Surprisingly, there is only scarce information about the possible role of the endocannabinoid system in the motivational effects of nicotine, and behavioural studies on this issue led to contradictory results. CPP supported by nicotine (Castañé et al. 2002), but not nicotine self-administration (Cossu et al. 2001), appeared to be abolished in CB₁ KO mice, although in rats, once established, both behaviours were reduced by rimonabant (Cohen et al. 2002; Le Foll and Goldberg 2004). To the best of our knowledge, there are no other studies investigating the involvement of CB₁ receptors in nicotine incentive properties. This might be due to the actual difficulties to demonstrate reliable motivational effects of nicotine by place conditioning procedures. Indeed, in rats and mice, some studies indicated that nicotine does not support place conditioning (Clarke and Fibiger 1987; Parker 1992; Rogers et al. 2004), whereas others reported either modest place preference (Fudala et al. 1985; Fudala and Iwamoto 1986; Shoaib et al. 1994; Horan et al. 1997; Dewey et al. 1999; Castañé et al. 2002; Vastola et al. 2002; Zarrindast et al. 2003; Belluzzi et al. 2004), place aversion (Jorenby et al. 1990; Horan et al. 1997) or biphasic effects (Risinger and Oakes 1995; Philibin et al. 2005), depending on the experimental design (biased or unbiased), the doses, the strain and even the age of the animals.

The main objective of the present study was to investigate the involvement of CB₁ receptor-mediated endocannabinoid processes in the reinforcing properties of nicotine, as assessed by place conditioning. The first experiment was designed to determine experimental conditions suitable for nicotine to support reproducible CPP. This was conducted in rats subjected to a one-compartment procedure, according to an unbiased design in current use in the laboratory (Guyon et al. 1993; Chaperon et al. 1998; Duarte et al. 2003). Since either positive or aversive effects of nicotine have been reported in mice, depending on the dose (Risinger and Oakes 1995), a large range of doses (6 μ g/kg–0.6 mg/kg) was studied. Furthermore, in order to prevent association of the test apparatus with aversive reactions to the first injections of nicotine (Shoaib et al. 1994, 2002; Laviolette and van der Kooy 2004), rats were given prior experience with nicotine in the home cage. In a second set of experiments, the influence of CB₁ receptor blockade by rimonabant (0.3–3 mg/kg, i.p.) was investigated on (1) the establishment of CPP supported by nicotine, i.e. on the perception by rats of the intrinsic incentive value of nicotine, and (2) the short- and long-term expression of nicotine-CPP, i.e. on the perception by animals of the appetitive value acquired by initially neutral environmental stimuli that have been paired with nicotine

during the conditioning phase. The doses of rimonabant were chosen in the range of those found active to reverse completely the *in vivo* effects, including place conditioning, induced by the CB receptor agonist WIN 55,212-2 (Rinaldi-Carmona et al. 1995; Chaperon et al. 1998).

Materials and methods

Animals

The experiments were carried out on drug- and test-naive male Wistar AF rats (CERJ, Le Genest, France). They were 5 weeks old (150–160 g) upon their arrival in the laboratory. They weighed 225–245 g at the beginning of the experiments, 2 weeks later. Rats were housed eight per cage (40×40×18 cm) under standard conditions (12-h light–dark cycle with lights on at 0730 h; room temperature 21±1°C) with free access to water in their home cage. One week prior to the beginning of the experiments, rats were brought daily from the animal housing facility to the laboratory; they were handled, weighed and given on Monday, Wednesday and Friday a subcutaneous (s.c.) injection of nicotine (at the dose to be tested) or its vehicle; on alternate days, they received an intraperitoneal (i.p.) injection of saline to be also habituated to this route of administration. From this first week onwards, they were placed on a daily schedule of mild food restriction (150 g of standard chow per day for eight rats, given as a single meal in the evening), which was maintained until the end of the experiments; indeed, food restriction has been reported to enhance the rewarding effects of drugs of abuse (Bell et al. 1997; Carr 2002). Experiments were performed in agreement with the institutional guidelines for use of animals and their care, in compliance with national and international laws and policies (Council directives no. 87-848, October 19, 1987, Ministère de l'Agriculture et de la Forêt, Service Vétérinaire de la Santé et de la Protection Animale, permission nos. 75-116 to M.H. and 75-118 to M.H.T.).

Place conditioning paradigm

Apparatus

Experiments were conducted in a one-compartment apparatus, using an unbiased experimental design, as previously described (Guyon et al. 1993; Chaperon et al. 1998). Briefly, the rats were trained and tested in four black wooden open fields (76×76×50 cm) located in a room dimly lit with four 15-W red light bulbs, positioned 150 cm above each open field (1 lx at floor level), supplied with continuous masking noise (60 dB). The floor of each open field was covered with removable quadrants made from one of two textures, wire mesh or rough Plexiglas. These textures were chosen on the basis of previous studies indicating that naive rats exhibited no unconditioned preference for one of them. Video cameras, mounted above each open field,

were connected with controlling equipment located in the adjacent room.

Experimental procedure

The general procedure consisted of two phases: conditioning and testing. Each rat was subjected to eight 30-min conditioning sessions (one session per day) in one open field (always the same for one rat) whose four floor quadrants were of the same texture. Nicotine was administered immediately before the “odd”-numbered sessions (i.e. 1, 3, 5 and 7) paired with one floor texture. Saline was injected (same administration schedule) before the “even”-numbered sessions (i.e. 2, 4, 6 and 8) paired with the other floor texture. Nicotine–texture pairings were counterbalanced so that, within each treatment group, nicotine was associated with the wire mesh floor for half of the rats and with the Plexiglas floor for the other half. Depending on the experiment (see below), one or three 20-min test sessions were conducted in the same open field whose floor was covered by two quadrants of the saline-paired texture and two quadrants of the nicotine-paired texture. Quadrants of the same texture were positioned diagonally opposite to each other.

The time (in s) spent on each texture and the distance travelled (in cm) were automatically recorded by means of the video system and analyzed by appropriate software (SuperG Software, Hans C. Neijt; Novartis Pharma, Basel, Switzerland). Briefly, the cameras were connected to a frame grabber (type DT3155; Data Translation Inc., Marlboro, MA). Every second, the digitized frame was compared with the previously stored frame, whereby the pixels with altered intensity were identified and used to compute the position of the rat and the distance travelled. Half of the time spent on the dividing lines was added to the total time spent on the nicotine- and the saline-paired textures.

Experiment 1: ability of nicotine to support place conditioning Naive rats were given nicotine (0.006, 0.06, 0.125 and 0.6 mg/kg s.c.), or its vehicle for the control group, immediately before the “odd” conditioning sessions. All of the rats received saline before the “even” sessions. A single test session took place the day following the last conditioning session, i.e. 48 h after the last injection of nicotine. Rats were given no injection before this session.

Additional experiments:

- (1) To examine the influence of the number of conditioning trials on the ability of nicotine to establish CPP, on two occasions, independent groups of naive rats were subjected to only four 30-min conditioning sessions. They were given nicotine (0.06 mg/kg s.c.) and saline, immediately before the two “odd” and the two “even” conditioning sessions, respectively. The test session was conducted 1 day later, as described above.
- (2) The influence of food restriction on the ability of nicotine (0.06 mg/kg, s.c.) to support CPP was in-

investigated using two independent groups of rats, either subjected to the standard food regimen (150 g/day for eight rats) or fed ad libitum. Conditioning and test sessions were conducted as described above.

- (3) In order to assess whether CPP induced by nicotine could be accounted for by some delayed rebound dysphoric effect of nicotine, naive rats were subjected to eight 30-min conditioning sessions. Nicotine (0.06 mg/kg s.c.) was administered either immediately *before* (conditioned group) or immediately *after* (pseudo-conditioned group), the “odd” conditioning sessions, and saline was injected according to the same time schedule, on “even” sessions. The test session was conducted 24 h later, as described above.

Experiment 2: effect of rimonabant on the establishment of nicotine-induced conditioned place preference During the conditioning phase, rats of all groups were given nicotine (0.06 mg/kg s.c.) immediately before the “odd” conditioning sessions. Rimonabant (0.3, 1 and 3 mg/kg i.p.), or its vehicle for the paired control group, was injected 30 min before nicotine. All rats were given vehicle and saline according to the same injection schedule, before each “even” conditioning session. A single test session was conducted the day following the last conditioning session, i.e. 48 h after the last injection of nicotine. Rats received no injection before the test session.

Experiment 3: effect of rimonabant on short-term expression of nicotine-induced conditioned place preference During the conditioning phase, rats of all groups were given nicotine (0.06 mg/kg s.c.) and saline immediately before the four “odd” and the four “even” conditioning sessions, respectively. Rimonabant (0.3, 1 and 3 mg/kg i.p.), or its vehicle for the associated control group, was administered only once, 30 min before a single test session, which was conducted the day following the last conditioning session, i.e. 48 h after the last nicotine injection.

Experiment 4: effect of rimonabant on long-term expression of nicotine-induced conditioned place preference During the conditioning phase, all rats received nicotine (0.06 mg/kg s.c.) and saline immediately before the four “odd” and the four “even” conditioning sessions, respectively. One day after the last conditioning session, they were subjected to a first 20-min test session, without treatment, to assess the establishment of nicotine-induced conditioned place preference (probe session). During the next 12 weeks, the animals were regularly handled but subjected neither to nicotine administration nor to placement in the open fields. At the end of this period, they were given two additional 20-min test sessions, conducted 24 h apart. Rats received no injection before the second test session, which was conducted to evaluate whether they still expressed preference for the floor texture previously paired with nicotine. Then, the rats, divided into two groups matched according to the time spent on the nicotine-paired texture during the second test session, were given rimonabant (3 mg/kg i.p.) or its vehicle 30 min before the third test session.

Drugs

Rimonabant [SR 141716, *N*-piperidino-5-(4-chlorophenyl)-4-methylpyrazole-3-carboxamide, base] (Sanofi-Aventis, Montpellier, France) was suspended with one drop of Tween 80 in saline (0.9% NaCl). (–)Nicotine bitartrate (Sigma Chemicals, St. Louis, MO, USA) was dissolved in saline, and the pH was adjusted between 7.3 and 7.5 with a few drops of 0.1 M NaOH. Doses are expressed as the free base. Drugs or their respective vehicle were injected in a volume of 5 ml/kg body weight. The number of animals in each treatment group is indicated in [Results](#).

Statistical analyses

The results are expressed as mean (\pm SEM) time (s) spent on the nicotine-paired floor texture during the test session. Place preference was assessed by testing whether the time spent on the nicotine-paired texture was longer than the time spent on the unpaired texture, using one-tailed, paired Student's *t*-test. Drug effects on paired minus unpaired time differences were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA), followed, where appropriate, by planned pairwise comparisons with controls by two-tailed Dunnett's *t*-test, using the error variance term from the ANOVA. Motor activity expressed as mean (\pm SEM) distance (cm) travelled during the two experimental phases was analyzed by two-way ANOVA (treatment and sessions as repeated measures) for the conditioning sessions and one-way ANOVA (treatment) for the test sessions. Planned pairwise comparisons with controls were made by two-tailed Dunnett's *t*-test. The entire dose range of nicotine (experiment 1) has been studied in the course of two independent experiments. A vehicle control group of rats was associated with each individual experiment, and the 0.06- and 0.125-mg/kg doses were also tested twice. There were no statistically significant differences between the two experiments with regard to performance of control rats, and corresponding data were pooled for global analysis.

Results

Experiment 1: ability of nicotine to support place conditioning

Control rats (given saline and vehicle before the “even” and “odd” conditioning sessions, respectively) spent 611 ± 35 s on the vehicle-paired floor texture. This time, not statistically different from the time spent on the saline-paired texture ($t_{24}=0.31$; NS), gives evidence that there was no unconditioned preference for either floor texture (Fig. 1).

Rats given nicotine at the 0.06- and 0.125-mg/kg doses during the conditioning phase spent significantly more time on the paired than on the unpaired texture during the test session (one-tailed, paired $t_{15}=5.20$, $p<0.0001$ and $t_{15}=3.13$, $p<0.005$, respectively), indicating that these doses of nicotine supported conditioned place preference.

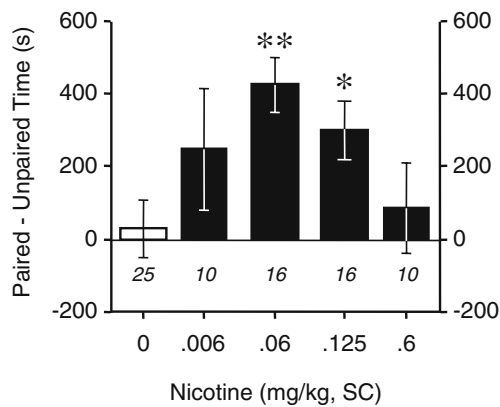


Fig. 1 Place conditioning supported by nicotine (experiment 1). Histograms represent the mean (\pm SEM) difference between the time (s) spent on the floor texture previously paired with nicotine and the time spent on the unpaired texture, during the 20-min test session. Positive values indicate preference for the paired texture. Rats with prior experience with nicotine in the home cage (see [Materials and methods](#)) were given nicotine (or its vehicle, 0) and saline (s.c.) immediately before each of the four “odd” and “even” conditioning sessions, respectively. Animals were drug-free during the test session, conducted 24 h after the last conditioning session. The number of rats per group is indicated under each histogram. * $p < 0.005$, ** $p < 0.0001$, time spent on the nicotine-paired vs unpaired texture (paired Student's t -test)

Additional experiments

- Two groups of rats ($n=14$ /group) were independently subjected to only two nicotine-paired and two saline-paired conditioning sessions. During the test session, they spent 710 ± 67 and 683 ± 55 s, respectively, on the floor texture previously associated with nicotine (0.06 mg/kg). These times were not significantly longer than those spent on the unpaired texture (one-tailed, paired $t_{13}=1.64$, $p=0.063$ and $t_{13}=1.51$, $p=0.078$). Therefore, two nicotine pairings were insufficient to induce CPP.
- Food-restricted rats (mean body weight at the time of the test session = 275 ± 5 g, $n=16$) and rats fed ad libitum (311 ± 4 g, $n=16$) spent 744 ± 43 and 687 ± 51 s, respectively, on the texture paired with nicotine (0.06 mg/kg). Though these two values did not significantly differ (two-tailed, unpaired $t_{30}=0.69$, NS), food-restricted rats spent more time on the paired than on the unpaired texture, as in experiment 1 (one-tailed, paired $t_{15}=3.89$, $p < 0.002$), whereas in rats fed ad libitum, this comparison fell short of statistical significance ($t_{15}=1.70$; $p=0.055$). Thus, moderately food-restricted rats developed a preference for nicotine-associated texture which was more pronounced than that of unrestricted animals.
- As in experiment 1, rats given nicotine (0.06 mg/kg) immediately *before* the four “odd” conditioning sessions exhibited a preference for the floor texture previously paired with nicotine (times spent on the paired and unpaired textures 756 ± 32 and 444 ± 32 s, respectively; $t_{11}=5.66$, $p < 0.0001$, $n=12$). Rats of the pseudo-conditioned group, which received nicotine (0.06 mg/kg) immediately *after* the “odd” conditioning sessions,

spent 620 ± 73 s on the floor texture present during these sessions. This duration was not significantly longer than the corresponding time on the texture present during the “even” sessions ($t_{11}=0.38$, NS, $n=12$), indicating that nicotine did not induce 24-h delayed aversive effects.

All subsequent experiments were conducted using the paradigm with eight conditioning sessions and 0.06 mg/kg as the standard conditioning dose of nicotine.

Experiment 2: effect of rimonabant on the establishment of nicotine-induced conditioned place preference

Control rats (vehicle i.p., 30 min before nicotine) spent 796 ± 37 s on the texture previously paired with nicotine (0.06 mg/kg). This time was significantly longer than that spent on the unpaired texture (one-tailed paired $t_{17}=5.33$, $p < 0.0001$). The ANOVA showed a main effect of rimonabant on the time differences (paired vs unpaired textures) ($F_{3,67}=4.51$, $p < 0.006$), and pairwise comparisons with the control group indicated that pre-pairing injections of the 3-mg/kg dose of rimonabant antagonized the establishment of nicotine-CPP ($t_{4,67}=3.10$, $p < 0.01$). Accordingly, rats of this 3-mg/kg group no longer developed preference for the texture previously associated with nicotine ($t_{17}=0.26$, NS), whereas rats given the lower doses of rimonabant exhibited nicotine-CPP, as shown by significant differences

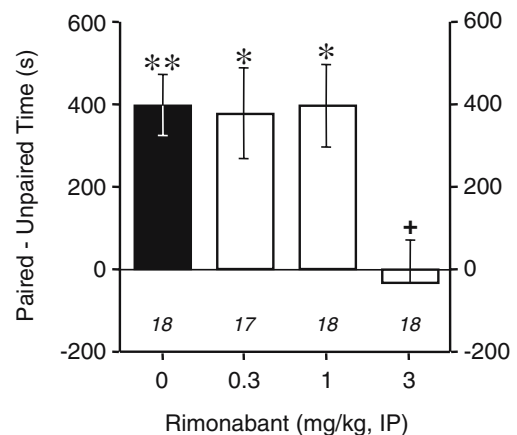


Fig. 2 Effect of rimonabant on the establishment of conditioned place preference induced by nicotine (experiment 2). Histograms represent the mean (\pm SEM) difference between the time (s) spent on the floor texture previously paired with nicotine (0.06 mg/kg s.c.) and the time spent on the unpaired texture, during the 20-min test session. Positive and negative values indicate preference and aversion for the paired texture, respectively. Rimonabant, or its vehicle (0), was administered i.p., 30 min before each of the four nicotine-paired conditioning sessions. Animals were drug-free during the test session, conducted 24 h after the last conditioning session. The number of rats per group is indicated under each histogram. * $p < 0.005$, ** $p < 0.0001$, time spent on the nicotine-paired vs unpaired texture (paired Student's t -test); + $p < 0.01$, vs control group given nicotine alone (0) (Dunnett's t -test after ANOVA)

between the times spent on paired vs unpaired textures (0.3 mg/kg, $t_{16}=3.37$, $p<0.005$; 1 mg/kg, $t_{17}=3.88$, $p<0.001$) (Fig. 2).

Rats' locomotor activity during the test session was not modified by the administration of rimonabant during the conditioning phase ($F_{3,67}=0.74$, NS) (not shown). The distance travelled during the four nicotine-paired conditioning sessions is reported in Table 1. Vehicle-injected control rats exhibited no change in locomotor activity in response to repeated nicotine administrations (regression, $F_{1,70}=1.90$, $p=0.17$). The ANOVA for repeated measures revealed significant effects for rimonabant ($F_{3,67}=12.10$, $p<0.0001$) and rank of injection ($F_{3,201}=3.00$, $p=0.034$), but no treatment \times rank interaction ($F_{9,201}=1.20$, NS). The results of independent statistical analyses for each nicotine conditioning session are indicated in Table 1. Globally, rimonabant dose-dependently reduced the distance travelled by rats given nicotine, whatever the nicotine conditioning session considered.

Experiment 3: effect of rimonabant on short-term expression of nicotine-induced conditioned place preference

During the test session conducted 24 h after the last conditioning session, i.e. 48 h after the last injection of nicotine (0.06 mg/kg), the time spent by control rats (vehicle i.p., 30 min before testing) on the nicotine-paired floor texture was significantly longer than for the unpaired texture (819 \pm 68 vs 381 \pm 68 s; $t_{11}=3.21$, $p<0.005$), indicating the expected development of nicotine-CPP. The ANOVA revealed that rimonabant administered as a single injection before the test session exerted an overall effect on the time differences ($F_{3,43}=3.59$, $p=0.02$), and subsequent comparisons with the control group indicated that this was due to the 3-mg/kg dose which blocked the expression of nicotine-CPP measured 24 h after the last conditioning session ($t_{4,43}=2.29$, $p<0.05$). Accordingly, the 3-mg/kg-injected rats no longer exhibited preference for the nicotine-paired

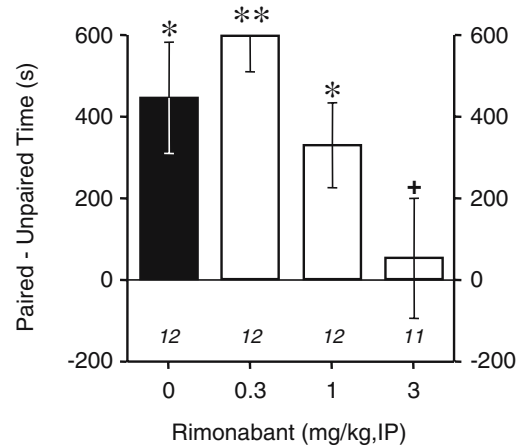


Fig. 3 Effect of rimonabant on short-term (24 h) expression of conditioned place preference induced by nicotine (experiment 3). *Histograms* represent the mean (\pm SEM) difference between the time (s) spent on the floor texture previously paired with nicotine (0.06 mg/kg s.c.) and the time spent on the unpaired texture, during the 20-min test session. Positive values indicate preference for the paired texture. Rimonabant, or its vehicle (0), was administered i.p., only once, 30 min before the test session conducted 24 h after the last conditioning session. Animals were drug-free during the test session. The number of rats per group is indicated under each *histogram*. * $p<0.005$, ** $p<0.0001$, time spent on the nicotine-paired vs unpaired texture (paired Student's *t*-test); † $p<0.05$, vs control group given nicotine alone (0) (Dunnett's *t*-test after ANOVA)

texture ($t_{10}=0.32$, NS), whereas animals given rimonabant at 0.3 or 1 mg/kg spent more time on the paired than the unpaired texture ($t_{11}=6.51$, $p<0.0001$ and $t_{11}=3.13$, $p<0.005$, respectively) (Fig. 3).

The administration of rimonabant before the test session had no significant effect on the distance travelled by rats during this session ($F_{3,43}=1.89$, NS) (not shown). Table 2 reports the locomotor activity of the whole group of rats, recorded during the four conditioning sessions "with nicotine" and the four conditioning sessions "with saline." Whatever the rank of injection, nicotine induced small (+15 to +40%), but significant, increases of the distance travelled, as compared with saline (lowest paired $t_{46}=3.86$,

Table 1 Effects of rimonabant on rats' locomotor activity during the four nicotine-paired conditioning sessions (experiment 2)

Rimonabant (mg/kg, i.p.)	N	Mean (\pm SEM) distance travelled (cm/30 min) after successive administrations of nicotine			
		First injection (conditioning session no. 1)	Second injection (conditioning session no. 3)	Third injection (conditioning session no. 5)	Fourth injection (conditioning session no. 7)
Vehicle	18	6,372 \pm 424	6,622 \pm 498	6,169 \pm 378	7,489 \pm 558
0.3	17	6,108 \pm 427	4,958 \pm 530**	4,987 \pm 530	5,111 \pm 491**
1	18	5,092 \pm 430	4,247 \pm 472**	4,544 \pm 413*	4,603 \pm 613**
3	18	4,367 \pm 385*	3,570 \pm 303**	3,898 \pm 402**	4,203 \pm 409**
-	$F_{3,67}=$	5.20; $p<0.003$	8.45; $p<0.0001$	4.63; $p<0.006$	8.00; $p<0.0001$

Rimonabant (0.3, 1, 3 mg/kg i.p.), or its vehicle, was injected 30 min before nicotine (0.06 mg/kg s.c.). Rats were placed in the open field immediately after nicotine administration for a 30-min conditioning session. The results of independent one-way ANOVAs calculated on the distance travelled during each session are indicated in the table

n Number of rats per group

* $p<0.05$, vs corresponding score of the vehicle-injected rats (Dunnett's *t*-test)

** $p<0.01$, vs corresponding score of the vehicle-injected rats (Dunnett's *t*-test)

Table 2 Locomotor activity during alternating conditioning sessions with and without nicotine (experiment 3)

Subcutaneous injection	Mean (\pm SEM) distance travelled (cm/30 min) during successive conditioning sessions			
	Rank of injection			
	First	Second	Third	Fourth
Saline	5,629 \pm 267	5,217 \pm 241	5,362 \pm 203	5,167 \pm 234
Nicotine	6,442 \pm 215* (114%)	7,295 \pm 287** (140%)	6,243 \pm 264** (116%)	7,189 \pm 318** (139%)

Nicotine (0.06 mg/kg s.c.) was administered immediately before conditioning session nos. 1, 3, 5 and 7 and saline immediately before conditioning session nos. 2, 4, 6 and 8. $n=47$ rats

* $p<0.001$, vs corresponding saline injection (paired Student's t -test)

** $p<0.0001$, vs corresponding saline injection (paired Student's t -test)

$p<0.001$), but, as in the previous experiment, rats exhibited no change in locomotor activity in response to repeated nicotine administrations (regression, $F_{1,186}<1$, NS).

Experiment 4: effect of rimonabant on the long-term expression of nicotine-induced conditioned place preference

The results are reported in Table 3. During the first test session (probe session) conducted 24 h after the last conditioning session, i.e. 48 h after the last injection of nicotine (0.06 mg/kg), the 46 tested rats spent 762 \pm 22 s on the floor texture previously paired with nicotine (paired vs unpaired time: $t_{45}=5.75$, $p<0.0001$). Thus, as expected, rats developed a preference for the nicotine-associated texture. Seven of these animals exhibiting a bias for the unpaired texture (time spent on the paired texture, 424 \pm 28 s, range 343–518 s) were discarded. The remaining 39 rats, which showed individual positive difference in time spent on the paired vs unpaired textures, were subjected to a second test session, 12 weeks later, without additional nicotine injection or placement in the open fields. During this second test session, the mean time spent on the nicotine-paired texture (735 \pm 41 s) was still significantly longer than the corresponding time on the unpaired texture ($t_{38}=3.33$, $p<0.001$), showing that preference for the nicotine-paired floor texture was still present 12 weeks after the last nicotine injection. Twenty-eight of these rats, i.e. showing positive time differences (paired vs unpaired textures), were divided into two matched groups and subjected to a third test session, 24 h later, 30 min after acute administration of rimonabant (3 mg/kg) or vehicle. During the third test session, vehicle- and rimonabant-injected rats spent 782 \pm 76 and 758 \pm 53 s, respectively, on the texture previously paired with nicotine. These two values were not statistically different ($t_{26}=0.21$, NS) and were significantly above that for the unpaired texture (one-tailed, paired $t_{13}=2.40$, $p<0.02$ and $t_{13}=1.79$, $p<0.05$, respectively), indicating that a preference for the nicotine-paired texture was still present. Rimonabant mar-

ginally reduced the distance travelled during the third test session (Table 3).

In an independent experiment, the effect of rimonabant (3 mg/kg) on the delayed expression of nicotine (0.06 mg/kg)-induced CPP was assessed 3 weeks after the end of the conditioning phase. As in the previous 12-week experiment, rats were subjected to eight conditioning sessions and two non-drug test sessions (conducted 48 h after the last injection of nicotine and 24 h before the rimonabant test session). During the third test session, the time spent on the texture previously paired with nicotine was 737 \pm 51 s in vehicle controls and 781 \pm 68 s in rimonabant-injected rats ($n=10$ /group). These values were significantly higher than the respective times spent on the unpaired texture (one-tailed, paired $t_9=2.70$ and $t_9=2.57$, respectively, $p<0.02$) and did not significantly differ from each other ($t_{18}=0.53$, NS).

Table 3 Lack of effect of rimonabant on long-term (12 weeks) expression of conditioned place preference induced by nicotine (experiment 4)

Test sessions (delay after the last conditioning session)	Number	Injection before test session	Paired–unpaired time (s)	Distance traveled (cm/20 min)
First test session (24 h)	46	–	324 \pm 44**	3,560 \pm 207
→paired > unpaired time	39	–	(458 \pm 40) ^a	(3,709 \pm 228)
Second test session (12 weeks)	39	–	270 \pm 82**	3,757 \pm 149
→paired > unpaired time	28	–	(548 \pm 56) ^a	(3,810 \pm 193)
Third test session (12 weeks + 24 h)	14 14	Vehicle SR 3 mg/kg	364 \pm 152* 316 \pm 106*	3,735 \pm 397 2,691 \pm 536***

Rats were subjected to three successive test sessions conducted 24 h, 12 weeks and 12 weeks + 24 h after the last conditioning session. They were drug free during test sessions 1 and 2. Rimonabant (SR 3 mg/kg i.p.), or its vehicle, was administered only once, 30 min before the third test session. The results are the mean (\pm SEM) difference between the time (s) spent on the floor texture previously paired with nicotine (0.06 mg/kg s.c.) and the time spent on the unpaired texture, during three successive 20-min test sessions, for all of the tested rats. Positive values indicate preference for the nicotine-paired texture. Locomotor activity is reported as the mean (\pm SEM) distance (cm) travelled during the test sessions

^aMean performance of rats that individually exhibited a preference for the nicotine-paired texture and were subjected to the next test session. These values were not subjected to statistical analyses since they were selected a posteriori

* $p<0.05$, time spent on the nicotine-paired vs unpaired texture (paired Student's t -test)

** $p<0.001$, time spent on the nicotine-paired vs unpaired texture (paired Student's t -test)

*** $p<0.10$, distance travelled: rimonabant vs vehicle (unpaired Student's t -test)

Thus, rimonabant did not abolish the expression of nicotine-CPP 3 or 12 weeks after the conditioning phase.

Discussion

This study demonstrates that nicotine supports reliable and robust CPP in rats given previous experience with nicotine in their home cage. Once developed, place preference persisted for at least 12 weeks in rats given no additional exposure to the drug and the test apparatus. The CB₁ receptor antagonist, rimonabant, impaired both the establishment and the short-term expression of CPP induced by nicotine, indicating that the motivational effects of this drug are controlled by endogenous cannabinoids. However, the long-term expression of such incentive learning was not affected by acute CB₁ receptor blockade, suggesting underlying mechanisms independent of endocannabinoid processes.

The dose-response curve of nicotine to support CPP was bell-shaped, as usually observed with drugs of abuse. The largest response occurred at doses (0.06 and 0.125 mg/kg) lower than those tested in most place conditioning studies (see references in [Introduction](#)) and was of similar magnitude as that induced by cocaine (2 mg/kg s.c.), morphine (4 mg/kg s.c.) or amphetamine (1 mg/kg i.p.), using the same experimental procedure (Chaperon [1997](#); Chaperon et al. [1998](#); Duarte et al. [2003](#)). However, the effect of the 0.06-mg/kg dose shortly failed to achieve statistical significance in animals subjected to only two nicotine and two saline conditioning sessions and in rats fed ad libitum. Therefore, more than two pairings were necessary for nicotine to establish CPP, and chronic mild food restriction was found to increase the incentive value of nicotine, as already reported for cocaine-induced CPP (Bell et al. [1997](#)).

A drug discrimination study suggested that a negative rebound cue occurred within 16–24 h after a single injection of nicotine (Barrett et al. [2001](#)). Though this phenomenon was described with rather high doses (0.25 and 0.5 mg/kg), it might constitute a confounding factor to the present results. However, rats conditioned with 0.6 mg/kg of nicotine, and rats given the 0.06-mg/kg dose immediately *after* conditioning sessions, did not develop place conditioning. Hence, the motivational effects of nicotine observed in the present study cannot be accounted for by a delayed aversion for the saline-paired texture, and clearly, nicotine induced subjective effects that were very probably perceived as pleasant by rats.

Once established, nicotine-CPP endured at least 12 weeks, providing evidence that the passage of time alone is insufficient to disrupt the incentive value acquired by the environmental stimuli previously paired with nicotine, as already reported for morphine and cocaine (Mueller and Stewart [2000](#); Mueller et al. [2002](#)). Accordingly, it has been shown recently that the contingent presentation of stimuli previously paired with nicotine self-administration maintained non-reinforced responding for at least 3 months after nicotine withdrawal (Cohen et al. [2005](#)), though rapid extinction of nicotine self-administration

behaviour has been also reported under similar conditions (Shaham et al. [1997](#)). These results emphasize the notion that nicotine-associated cues (either contextual or contingent) may exert a persistent control over animals' behaviour, even a long time after drug discontinuation.

The present study also provides clear-cut evidence that rimonabant prevents acquisition and abolishes short-term expression of nicotine-CPP. These findings suggest that the blockade of CB₁ receptors impairs the perception by rats of both the incentive value of nicotine during the conditioning phase and the attractiveness acquired by the floor texture previously paired with nicotine. However, a single injection of rimonabant no longer antagonized the expression of nicotine-CPP when rats were tested 12 or even 3 weeks after conditioning. Although the possibility cannot be discounted that, in these experiments, the two prior test sessions might have changed the nature of nicotine-CPP, these results indicate that an acute blockade of endocannabinoid-related processes does not impair the long-term ability of conditioned stimuli to elicit approach behaviour.

These results deserve several points of discussion. First, in line with the relevant literature (Ksir [1994](#); Domino [2001](#)), nicotine stimulated locomotor activity during the conditioning sessions. This effect was modest and did not increase with the repetition of nicotine administrations, suggesting that no sensitization occurred. On the other hand, since stimulation of motor activity might contribute to incentive learning (Carr et al. [1989](#)), the reduction of nicotine-CPP by rimonabant could be secondary to the dose-dependent reversal by the CB₁ receptor antagonist of such a motor activation. However, the lowest tested doses of rimonabant (0.3 and 1 mg/kg) reduced nicotine-induced motor stimulation while they were inactive on CPP supported by nicotine. Thus, the prevention of the establishment of nicotine-CPP by the 3-mg/kg dose of rimonabant was unlikely the consequence of a primary action on motor activity. Second, the suppression of nicotine-CPP cannot be related to a counterbalancing aversive action of rimonabant since previous studies have shown that, on its own, this CB₁ receptor antagonist does not support conditioned place avoidance (Chaperon et al. [1998](#); Braida et al. [2001, 2004](#); and see also Sañudo-Peña et al. [1997](#); Cheer et al. [2000](#)). Third, it is also unlikely that the blockade of CB₁ receptors prevented the CPP response to nicotine by impairing associative processes necessary for such Pavlovian approach behaviour. Indeed, although as yet, a role for CB₁ receptors in contextual memory formation has not been established, rimonabant has never been reported to induce amnesic-like effects, but rather seems to enhance memory in rodents (Terranova et al. [1996](#); Lichtman [2000](#)). Finally, as underlined above, nicotine-induced CPP was facilitated by mild food restriction. This observation is reminiscent of the enhanced ability of drugs of abuse to lower intracranial self-stimulation threshold and to maintain self-administration behaviour in food deprived rats, two augmenting effects that have been linked to changes in DA neurotransmission within the NAcc (see Carr [2002](#)). In this context, since rimonabant reduces food intake (Arnone et al. [1997](#); Verty et al. [2004](#)), it cannot be excluded that an

attenuation of restriction-induced motivational state might account for the blockade of nicotine-CPP. However, such a possibility seems unlikely since rimonabant failed to counteract the long-term expression of nicotine-CPP, at a time when rats were still food restricted.

On the other hand, a potential confound in the present study is that rats were given three nicotine injections prior to the conditioning phase and could have experienced some kind of rimonabant-precipitated nicotine withdrawal during the conditioning or the test sessions. Such a possibility seems very unlikely for several reasons. First, an acute administration of rimonabant (1–10 mg/kg) did not induce somatic manifestations of withdrawal in mice given a 6-day continuous infusion of nicotine (25 mg kg⁻¹ day⁻¹) (Balerio et al. 2004). Second, the small dose of nicotine and the paced schedule of injections used in the present study cannot be compared with the more than 150-fold larger doses, infused for several days or weeks, that are necessary for conditioned place avoidance to be induced by nicotine withdrawal precipitated by the nicotine antagonist, mecamylamine, or the opioid antagonist, naloxone (see, e.g. Suzuki et al. 1996; Balerio et al. 2004). Third, rimonabant did not abolish the acquired ability of rats to discriminate nicotine from saline (Cohen et al. 2002; Le Foll and Goldberg 2004). Thus, rats which have been given the CB₁ receptor antagonist still perceived at least some of the subjective effects of nicotine, arguing against the hypothesis that a rimonabant-precipitated nicotine withdrawal might otherwise account for the impairment of the establishment or the expression of nicotine-CPP. In addition, drug discrimination studies (Cohen et al. 2002; Le Foll and Goldberg 2004) also indicate that the failure of nicotine to support CPP in rats given rimonabant during the conditioning phase could hardly be accounted for by the disappearance of its discriminative stimulus effects or some pharmacokinetic interactions during the conditioning sessions.

Interestingly, previous studies conducted by our group using the same experimental paradigm showed that rimonabant also prevented the establishment of CPP induced by cocaine, morphine and food (Chaperon et al. 1998). On the contrary, rimonabant did not prevent conditioned place avoidance induced by a variety of aversive drugs (Chaperon and Thiébot 1999). Thus, the blockade of CB₁ receptors can reduce the incentive value of positive reinforcers such as drugs of abuse and natural rewards while having no effect on negative incentives.

Although there is strong evidence linking NAcc DA neurotransmission and reward, several studies suggest that DA signals novelty or reward expectation, rather than reward itself (see references in Mansvelder and McGehee 2002). In this regard, the NAcc shell may be more critically involved in strengthening the learning processes underlying context–drug associations than in mediating the direct rewarding effects of drugs (Di Chiara 1999). In keeping with a nicotine-induced DA overflow in the NAcc shell, and its reduction by rimonabant (Cohen et al. 2002), such a mechanism is likely to play a role in the development of place preference to nicotine and account for the ability of

the CB₁ receptor antagonist to prevent the establishment of nicotine-CPP. On the other hand, it has been shown that *Pavlovian* responding to cues repetitively paired with drugs increased DA selectively within the NAcc core, whereas this effect was apparently unnecessary for *operant* responding maintained by the contingent presentation of a conditioned stimulus (Ito et al. 2000; Balfour 2002). Therefore, this mechanism can hypothetically account for a role of DA in the incentive value acquired by contextual cues explicitly paired with drugs during the conditioning phase. Indeed, a single injection of rimonabant suppressed the expression of nicotine-CPP when the test took place 48 h after the last injection of nicotine. However, it remains to study directly in such conditions the release of DA within the NAcc shell and/or core and the effects of rimonabant thereon.

The blockade of expression of nicotine-CPP no longer occurred when 3 months—and even 3 weeks—elapsed between the conditioning phase and the test session. This finding stands in apparent contrast with a recent study showing that, in nicotine self-administering rats, 1 month after drug discontinuation, rimonabant decreased operant responding maintained by stimuli previously paired with nicotine infusion (Cohen et al. 2005). In both studies, rats were subjected to chronic mild food restriction until the end of the experiments; thus, putative differences in baseline DA levels due to the feeding status (Pothos et al. 1995) cannot explain this discrepancy. However, several other factors, non-mutually exclusive, might account for this different sensibility to CB₁ receptor blockade. The number of contacts with nicotine and the daily dose received during the conditioning phase were clearly different: seven injections of 0.06 mg/kg, 2–3 days apart in the present study; 0.6 mg/kg for a preconditioning evaluation of rats' response to nicotine and then ca. 1 mg kg⁻¹ day⁻¹, 5 days a week, during ten daily self-administration sessions in Cohen et al.'s (2005) study. Such schedules of administration might result in differences in the highly complex regulatory processes undergone by the diverse neuronal nACh receptor subtypes (for a review, see Mansvelder and McGehee 2002) and, consequently, on the net effect of nicotine on DA neurotransmission. This might be of crucial importance since nicotine switches the firing pattern of DA neurones from tonic activity to burst firing (Rice and Cragg 2004; Zhang and Sulzer 2004), the latter mode being claimed to convey reward-related signalling for both primary and conditioned reinforcers (Hyland et al. 2002; Schultz 2002; Phillips et al. 2003). The observed differences may also relate to the type of conditioning used in the two studies (operant vs *Pavlovian*), the response requirement (active and predetermined vs no explicitly learned responses) and/or the characteristics of the stimuli subserving rats' behaviour (discrete, response-contingent stimuli vs passive exposure to contextual cues), all factors exerting pivotal influence on reward-related neurochemical and behavioural processes. In addition, the fact that self-administering rats were regularly re-exposed to discrete response-contingent stimuli after nicotine withdrawal (Cohen et al. 2005), whereas in the present study, animals were exposed to the

contextual cues only twice between the last nicotine injection and the rimonabant test session, might account for such differences in the effect of the CB₁ receptor antagonist on long-term nicotine-seeking behaviour. Together, these results indicate that the mechanisms allowing the perception by animals of the motivational strength of explicit stimuli previously paired with nicotine differed depending on the dose, the number and the rhythm of nicotine administration and/or the time elapsed from the last drug exposure and/or the behavioural procedure used to assess nicotine seeking. Clearly, the complete treatment of this specific question is beyond the scope of this paper, but several possibilities can be considered. Long-term changes in synaptic influences might have developed, as synapses may appear or disappear in response to changing patterns of use (see Alger 2002). For instance, sensitization of rats' locomotor activity, claimed to play a role in the acquisition and maintenance of addictive behaviour, almost completely disappeared 2 weeks after the last of six injections of nicotine (0.3 mg/kg, each other day) (Villégier et al. 2003). The age of rats at the time of the test sessions (9 vs 12 or 21 weeks) may also contribute to these differences, as cannabinoids seem to readily suppress excitatory postsynaptic currents (EPSCs) in tissues from young animals, whereas they seem to have no effect in adults (see Alger 2002). On the other hand, novelty appears also as an important determinant of the activation of DA neurons (Spanagel and Weiss 1999). Since the effect of rimonabant on long-term expression of nicotine-CPP has been investigated in rats already subjected to two test sessions in a non-drugged state (24 h after the end of the conditioning phase and 24 h before the rimonabant test session), it cannot be excluded that familiarization with the test conditions (two textures present in the open field) might have reduced the endocannabinoid signalling that participates in the feedback control of synaptic efficacy in the reward circuit.

To conclude, the present study clearly shows that nicotine has strong incentive properties. The environmental stimuli previously paired with its neurobiological (rewarding) effects come to elicit approach response on test sessions, and there is no spontaneous extinction within 3 months after the conditioning phase. These results are consonant with recent data showing that nicotine enhances the control over behaviour by reward-associated cues, and that such inability to inhibit reward-elicited behaviour may extend over long periods after drug discontinuation (see Olausson et al. 2003). The blockade by rimonabant of nicotine-induced CPP suggests that endocannabinoids are necessary to the perception by rats of the motivational value of nicotine during conditioning and participate in the neurobiological processes underlying the capacity of nicotine-paired stimuli to elicit approach behaviour during the short-term expression phase. On the contrary, the long-term "trace" (or "memory") of incentive learning was not impaired by a single pretest injection of rimonabant. It cannot be excluded, however, that rimonabant could be effective earlier after drug discontinuation and/or on repeated administrations. As a matter of fact, a 10-week

rimonabant treatment, beginning while subjects were still smoking, has been found active in Phase III clinical trials for smoking cessation (Dale et al. 2004). Therefore, the present results suggest that the mechanisms which ensure short-term motivational valence to nicotine-paired stimuli are likely different, at least in part, from those taking place later, and that an acute activation of CB₁ receptors is no longer essential for the control of behaviour by environmental incentives after a given time interval (to be determined, but of less than 3 weeks) after exposure to nicotine.

Acknowledgements This study has been supported by grants from INSERM, MILDT (AO MILDT-Inserm 2001), LSHM-CT-2003-503474 CEE contract "New Mood" and Sanofi-Aventis. Benoît Forget was the recipient of a grant from the "Société de Tabacologie." We are grateful to Sanofi-Aventis for the gift of rimonabant. The authors would like to thank warmly Dr. Hans C. Neijt (Novartis Pharma, Basel, Switzerland) for the generous gift of the SuperG Software for image analysis. We gratefully acknowledge Dr. Philippe Soubrié for helpful comments on the manuscript.

References

- Alger BE (2002) Retrograde signaling in the regulation of synaptic transmission: focus on endocannabinoids. *Prog Neurobiol* 68: 247–286
- Arnold JC, Hunt GE, McGregor IS (2001) Effects of the cannabinoid receptor agonist CP 55,940 and the cannabinoid receptor antagonist SR 141716 on intracranial self-stimulation in Lewis rats. *Life Sci* 70:97–108
- Arnone M, Maruani J, Chaperon F, Thiébot MH, Poncelet M, Soubrié P, Le Fur G (1997) Selective inhibition of sucrose and ethanol intake by SR 141716, an antagonist of central cannabinoid (CB₁) receptors. *Psychopharmacology (Berl)* 132:104–106
- Balerio GN, Aso E, Berrendero F, Murtra P, Maldonado R (2004) Δ^9 -tetrahydrocannabinol decreases somatic and motivational manifestations of nicotine withdrawal in mice. *Eur J Neurosci* 20: 2737–2748
- Balfour DJ (2002) Neuroplasticity within the mesoaccumbens dopamine system and its role in tobacco dependence. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 1:413–421
- Balfour DJ, Wright AE, Benwell ME, Birrell CE (2000) The putative role of extra-synaptic mesolimbic dopamine in the neurobiology of nicotine dependence. *Behav Brain Res* 113:73–83
- Barrett RJ, Caul WF, Stadler JR, Smith RL (2001) Long-lasting rebound cue effects following single doses of nicotine and amphetamine: implications for understanding tolerance. *Psychopharmacology (Berl)* 157:349–357
- Bell SM, Stewart RB, Thompson SC, Meisch RA (1997) Food-deprivation increases cocaine-induced conditioned place preference and locomotor activity in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 131:1–8
- Belluzzi JD, Lee AG, Oliff HS, Leslie FM (2004) Age-dependent effects of nicotine on locomotor activity and conditioned place preference in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 174:389–395
- Braida D, Pozzi M, Parolaro D, Sala M (2001) Intracerebral self-administration of the cannabinoid receptor agonist CP 55,940 in the rat: interaction with the opioid system. *Eur J Pharmacol* 413:227–234
- Braida D, Iosué S, Pegorini S, Sala M (2004) Δ^9 -Tetrahydrocannabinol-induced conditioned place preference and intracerebroventricular self-administration in rats. *Eur J Pharmacol* 506:63–69
- Caillé S, Parsons LH (2003) SR141716A reduces the reinforcing properties of heroin but not heroin-induced increases in nucleus accumbens dopamine in rats. *Eur J Neurosci* 18:3145–3149

- Carr KD (2002) Augmentation of drug reward by chronic food restriction: behavioral evidence and underlying mechanisms. *Physiol Behav* 76:353–364
- Carr GD, Fibiger HC, Phillips AG (1989) Conditioned place preference as a measure of drug reward. In: Lieberman JM, Cooper SJ (eds) *The neuropharmacological basis of reward*. Clarendon Press, Oxford, pp 264–319
- Castañé A, Valjent E, Ledent C, Parmentier M, Maldonado R, Valverde O (2002) Lack of CB₁ cannabinoid receptors modifies nicotine behavioural responses, but not nicotine abstinence. *Neuropharmacology* 43:857–867
- Chaperon F (1997) Etude du rôle des récepteurs dopaminergiques D₃, neurotensinergiques NT1 et cannabinoïdes CB₁ dans le contrôle des processus motivationnels chez le rat. Thèse de l'Université Pierre et Marie Curie (Paris VI): spécialité Neurosciences
- Chaperon F, Thiébot MH (1999) Behavioral effects of cannabinoid agents in animals. *Crit Rev Neurobiol* 13:243–281
- Chaperon F, Soubrié P, Puech AJ, Thiébot MH (1998) Involvement of central cannabinoid (CB₁) receptors in the establishment of place conditioning in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 135:324–332
- Cheer JF, Kendall DA, Marsden CA (2000) Cannabinoid receptor and reward in the rat: a conditioned place preference study. *Psychopharmacology (Berl)* 151:25–30
- Clarke PB, Fibiger HC (1987) Apparent absence of nicotine-induced conditioned place preference in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 92:84–88
- Cohen C, Perrault G, Voltz C, Steinberg R, Soubrié P (2002) SR141716, a central cannabinoid (CB₁) receptor antagonist, blocks the motivational and dopamine-releasing effects of nicotine in rats. *Behav Pharmacol* 13:451–463
- Cohen C, Perrault G, Griebel G, Soubrié P (2005) Nicotine-associated cues maintain nicotine-seeking behavior in rats several weeks after nicotine withdrawal: reversal by the cannabinoid (CB₁) receptor antagonist, rimonabant (SR141716). *Neuropsychopharmacology* 30:145–155
- Colombo G, Vacca G, Serra S, Carai M, Gessa G (2004) Suppressing effects of the CB₁ receptor antagonist, SR 141716, on alcohol's motivational properties in alcohol-preferring rats. *Eur J Pharmacol* 498:119–123
- Cossu G, Ledent C, Fattore L, Imperato A, Böhme GA, Parmentier M, Fratta W (2001) Cannabinoid CB₁ receptor knockout mice fail to self-administer morphine but not other drugs of abuse. *Behav Brain Res* 118:61–65
- Dale L, Anthenelli R, Despres JP, Golay A, Sjöström L (2004) Effects of rimonabant in the reduction of major cardiovascular risk factors: results from the STRATUS-US trial (smoking cessation in smokers motivated to quit) and the RIO-LIPIDS trial (weight reducing and metabolic effects in overweight/obese patients with dyslipidemia) American College of Cardiology, New Orleans; Presentation 409-1 <http://www.en.sanofi-synthelabo.com/press/ppc_23312.asp?ComponentID=23312&SourcePageID=23126>
- Dewey SL, Brodie JD, Gerasimov M, Horan B, Gardner EL, Ashby CR Jr (1999) A pharmacologic strategy for the treatment of nicotine addiction. *Synapse* 31:76–86
- De Vries TJ, Shaham Y, Homberg JR, Crombag H, Schuurman K, Dieben J, Vanderschuren LJ, Schoffelmeer AN (2001) A cannabinoid mechanism in relapse to cocaine seeking. *Nat Med* 7:1151–1154
- Di Chiara G (1999) Drug addiction as dopamine-dependent associative learning disorder. *Eur J Pharmacol* 375:13–30
- Di Chiara G (2000) Role of dopamine in the behavioural actions of nicotine related to addiction. *Eur J Pharmacol* 393:295–314
- Di Chiara G, Tanda G, Bassareo V, Pontieri F, Acquas E, Fenu S, Cadoni C, Carboni E (1999) Drug addiction as a disorder of associative learning. Role of nucleus accumbens shell/extended amygdala dopamine. *Ann N Y Acad Sci* 877:461–485
- Domino EF (2001) Nicotine induced behavioral locomotor sensitization. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 25:59–71
- Duarte C, Lefebvre C, Chaperon F, Hamon M, Thiébot MH (2003) Effects of a dopamine D₃ receptor ligand, BP 897, on acquisition and expression of food-, morphine-, and cocaine-induced conditioned place preference, and food-seeking behavior in rats. *Neuropsychopharmacology* 28:1903–1915
- Fattore L, Martellotta MC, Cossu G, Mascia MS, Fratta W (1999) CB₁ cannabinoid receptor agonist WIN 55,212-2 decreases intravenous cocaine self-administration in rats. *Behav Brain Res* 104:141–146
- Fattore L, Spano MS, Cossu G, Deiana S, Fratta W (2003) Cannabinoid mechanism in reinstatement of heroin-seeking after a long period of abstinence in rats. *Eur J Neurosci* 17:1723–1726
- Fratta W, Martellotta MC, Cossu G, Fattore L (1998) Self-administration of the cannabinoid agonist WIN 55212-2 and morphine in mice: evidence for a common neurobiological mechanism. *Eur Neuropsychopharmacol* 8(Suppl 1):S41–S42
- Freedland CS, Sharpe AL, Samson HH, Porrino LJ (2001) Effects of SR141716A on ethanol and sucrose self-administration. *Alcohol Clin Exp Res* 25:277–282
- Fudala PJ, Iwamoto ET (1986) Further studies on nicotine-induced conditioned place preference in the rat. *Pharmacol Biochem Behav* 25:1041–1049
- Fudala PJ, Teoh KW, Iwamoto ET (1985) Pharmacologic characterization of nicotine-induced conditioned place preference. *Pharmacol Biochem Behav* 22:237–241
- Gallate JE, McGregor IS (1999) The motivation for beer in rats: effects of ritanserin, naloxone and SR 141716. *Psychopharmacology (Berl)* 142:302–308
- Gallate JE, Saharov T, Mallet PE, McGregor IS (1999) Increased motivation for beer in rats following administration of a cannabinoid CB₁ receptor agonist. *Eur J Pharmacol* 370:233–240
- Guyon A, Assouly-Besse F, Biala G, Puech AJ, Thiébot MH (1993) Potentiation by low doses of selected neuroleptics of food-induced conditioned place preference in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 110:460–466
- Herberg LJ, Montgomery AM, Rose IC (1993) Tolerance and sensitization to stimulant and depressant effects of nicotine in intracranial self-stimulation in the rat. *Behav Pharmacol* 4:419–427
- Higgs S, Williams CM, Kirkham TC (2003) Cannabinoid influences on palatability: microstructural analysis of sucrose drinking after delta⁹-tetrahydrocannabinol, anandamide, 2-arachidonoyl glycerol and SR141716. *Psychopharmacology (Berl)* 165:370–377
- Horan B, Smith M, Gardner EL, Lepore M, Ashby CR Jr (1997) (-)-Nicotine produces conditioned place preference in Lewis, but not Fischer 344 rats. *Synapse* 26:93–94
- Hungund BL, Szakall I, Adam A, Basavarajappa BS, Vadasz C (2003) Cannabinoid CB₁ receptor knockout mice exhibit markedly reduced voluntary alcohol consumption and lack alcohol-induced dopamine release in the nucleus accumbens. *J Neurochem* 84:698–704
- Hyland BI, Reynolds JN, Hay J, Perk CG, Miller R (2002) Firing modes of midbrain dopamine cells in the freely moving rat. *Neuroscience* 114:475–492
- Ito R, Dalley JW, Howes SR, Robbins TW, Everitt BJ (2000) Dissociation in conditioned dopamine release in the nucleus accumbens core and shell in response to cocaine cues and during cocaine-seeking behavior in rats. *J Neurosci* 20:7489–7495
- Iyaniwura TT, Wright AE, Balfour DJ (2001) Evidence that mesoaccumbens dopamine and locomotor responses to nicotine in the rat are influenced by pretreatment dose and strain. *Psychopharmacology (Berl)* 158:73–79
- Jorenby DE, Steinpreis RE, Sherman JE, Baker TB (1990) Aversion instead of preference learning indicated by nicotine place conditioning in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 101:533–538
- Kirkham TC, Williams CM (2001) Endogenous cannabinoids and appetite. *Nutr Res Rev* 14:65–86
- Ksir C (1994) Acute and chronic nicotine effects on measures of activity in rats: a multivariate analysis. *Psychopharmacology (Berl)* 115:105–109

- Laviolette SR, van der Kooy D (2004) The neurobiology of nicotine addiction: bridging the gap from molecules to behaviour. *Nat Rev Neurosci* 5:55–65
- Ledent C, Valverde O, Cossu G, Petitet F, Aubert JF, Beslot F, Böhme GA, Imperato A, Fratta W, Parmentier M (1999) Unresponsiveness to cannabinoids and reduced addictive effects of opiates in CB₁ receptor knockout mice. *Science* 283:401–404
- Lepore M, Liu X, Savage V, Matalon D, Gardner EL (1996) Genetic differences in delta 9-tetrahydrocannabinol-induced facilitation of brain stimulation reward as measured by a rate-frequency curve-shift electrical brain stimulation paradigm in three different rat strains. *Life Sci* 58:PL365–PL372
- Le Foll B, Goldberg S (2004) Rimonabant, a CB₁ antagonist, blocks nicotine-conditioned place preferences. *NeuroReport* 15:2139–2143
- Lichtman AH (2000) SR141716A enhances spatial memory as assessed in a radial-maze task in rats. *Eur J Pharmacol* 404:175–179
- Mansvelder HD, McGehee DS (2002) Cellular and synaptic mechanisms of nicotine addiction. *J Neurobiol* 53:606–617
- Martin M, Ledent C, Parmentier M, Maldonado R, Valverde O (2000) Cocaine, but not morphine, induces conditioned place preference and sensitization to locomotor responses in CB₁ knockout mice. *Eur J Neurosci* 12:4038–4046
- Mas-Nieto M, Pommier B, Tzavara ET, Caneparo A, Da Nascimento S, Le Fur G, Roques BP, Noble F (2001) Reduction of opioid dependence by the CB₁ antagonist SR141716A in mice: evaluation of the interest in pharmacotherapy of opioid addiction. *Br J Pharmacol* 132:1809–1816
- Mueller D, Stewart J (2000) Cocaine-induced conditioned place preference: reinstatement by priming injections of cocaine after extinction. *Behav Brain Res* 115:39–47
- Mueller D, Perdikaris D, Stewart J (2002) Persistence and drug-induced reinstatement of a morphine-induced conditioned place preference. *Behav Brain Res* 136:389–397
- Navarro M, Carrera MR, Fratta W, Valverde O, Cossu G, Fattore L, Chowen JA, Gomez R, del Arco I, Villanua MA, Maldonado R, Koob GF, Rodríguez de Fonseca F (2001) Functional interaction between opioid and cannabinoid receptors in drug self-administration. *J Neurosci* 21:5344–5350
- Olausson P, Jentsch JD, Taylor JR (2003) Repeated nicotine exposure enhances reward-related learning in the rat. *Neuropsychopharmacology* 28:1264–1271
- Parker LA (1992) Place conditioning in a three- or four-choice apparatus: role of stimulus novelty in drug-induced place conditioning. *Behav Neurosci* 106:294–306
- Pertwee RG (1999) Pharmacology of cannabinoid receptor ligands. *Curr Med Chem* 6:635–664
- Philibin SD, Vann RE, Varvel SA, Covington HE 3rd, Rosecrans JA, James JR, Robinson SE (2005) Differential behavioral responses to nicotine in Lewis and Fischer-344 rats. *Pharmacol Biochem Behav* 80:87–92
- Phillips PE, Stuber GD, Heien ML, Wightman RM, Carelli RM (2003) Subsecond dopamine release promotes cocaine seeking. *Nature* 422:614–618
- Poncelet M, Maruani J, Calassi R, Soubrié P (2003) Overeating, alcohol and sucrose consumption decrease in CB₁ receptor deleted mice. *Neurosci Lett* 343:216–218
- Pontieri FE, Tanda G, Orzi F, Di Chiara G (1996) Effects of nicotine on the nucleus accumbens and similarity to those of addictive drugs. *Nature* 382:255–257
- Pothos EN, Creese I, Hoebel BG (1995) Restricted eating with weight loss selectively decreases extracellular dopamine in the nucleus accumbens and alters dopamine response to amphetamine, morphine, and food intake. *J Neurosci* 15:6640–6650
- Rice ME, Cragg SJ (2004) Nicotine amplifies reward-related dopamine signals in striatum. *Nat Neurosci* 7:583–584
- Rinaldi-Carmona M, Barth F, Héaulme M, Alonso R, Shire D, Congy C, Soubrié P, Brelière JC, Le Fur G (1995) Biochemical and pharmacological characterization of SR 141716A, the first potent and selective brain cannabinoid receptor antagonist. *Life Sci* 56:1941–1947
- Risinger FO, Oakes RA (1995) Nicotine-induced conditioned place preference and conditioned place aversion in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 51:457–461
- Rogers DT, Barron S, Littleton JM (2004) Neonatal ethanol exposure produces a hyperalgesia that extends into adolescence, and is associated with increased analgesic and rewarding properties of nicotine in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 171:204–211
- Sanchis-Segura C, Cline BH, Marsicano G, Lutz B, Spanagel R (2004) Reduced sensitivity to reward in CB₁ knockout mice. *Psychopharmacology (Berl)* 176:223–232
- Sañudo-Peña MC, Tsou K, Delay ER, Hohman AG, Force M, Walker JM (1997) Endogenous cannabinoids as an aversive or counter-rewarding system in the rat. *Neurosci Lett* 223:125–128
- Schaefer GJ, Michael RP (1986) Task-specific effects of nicotine in rats. Intracranial self-stimulation and locomotor activity. *Neuropharmacology* 25:125–131
- Schultz W (2002) Getting formal with dopamine and reward. *Neuron* 36:241–263
- Serra S, Carai MA, Brunetti G, Gomez R, Melis S, Vacca G, Colombo G, Gessa GL (2001) The cannabinoid receptor antagonist SR 141716 prevents acquisition of drinking behavior in alcohol-preferring rats. *Eur J Pharmacol* 430:369–371
- Serra S, Brunetti G, Pani M, Vacca G, Carai MA, Gessa GL, Colombo G (2002) Blockade by the cannabinoid CB₁ receptor antagonist, SR 141716, of alcohol deprivation effect in alcohol-preferring rats. *Eur J Pharmacol* 443:95–97
- Shaham Y, Adamson LK, Grocki S, Corrigan WA (1997) Reinstatement and spontaneous recovery of nicotine seeking in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 130:396–403
- Shoib M, Stolerman IP, Kumar RC (1994) Nicotine-induced place preferences following prior nicotine exposure in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 113:445–452
- Shoib M, Gommans J, Morley A, Stolerman IP, Grailhe R, Changeux JP (2002) The role of nicotinic receptor beta-2 subunits in nicotine discrimination and conditioned taste aversion. *Neuropharmacology* 42:530–539
- Solinas M, Panlilio LV, Antoniou K, Pappas LA, Goldberg SR (2003) The cannabinoid CB₁ antagonist *N*-piperidinyl-5-(4-chlorophenyl)-1-(2,4-dichlorophenyl)-4-methylpyrazole-3-carboxamide (SR-141716A) differentially alters the reinforcing effects of heroin under continuous reinforcement, fixed ratio, and progressive ratio schedules of drug self-administration in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 306:93–102
- Spanagel R, Weiss F (1999) The dopamine hypothesis of reward: past and current status. *Trends Neurosci* 22:521–527
- Stolerman IP (1999) Inter-species consistency in the behavioural pharmacology of nicotine dependence. *Behav Pharmacol* 10:559–580
- Suzuki T, Ise Y, Tsuda M, Maeda J, Misawa M (1996) Mecamylamine-precipitated nicotine-withdrawal aversion in rats. *Eur J Pharmacol* 314:281–284
- Tanda G, Goldberg SR (2003) Cannabinoids: reward, dependence, and underlying neurochemical mechanisms—a review of recent preclinical data. *Psychopharmacology (Berl)* 169:115–134
- Tanda G, Pontieri FE, Di Chiara G (1997) Cannabinoid and heroin activation of mesolimbic dopamine transmission by a common μ 1 opioid receptor mechanism. *Science* 276:2048–2050
- Tanda G, Munzar P, Goldberg SR (2000) Self-administration behavior is maintained by the psychoactive ingredient of marijuana in squirrel monkeys. *Nat Neurosci* 3:1073–1074
- Terranova J-P, Storme J-J, Lafon N, Péro A, Rinaldi-Carmona M, Le Fur G, Soubrié P (1996) Improvement of memory in rodents by the selective CB₁ cannabinoid receptor antagonist, SR 141716. *Psychopharmacology (Berl)* 126:165–172
- Vastola BJ, Douglas LA, Varlinskaya EI, Spear LP (2002) Nicotine-induced conditioned place preference in adolescent and adult rats. *Physiol Behav* 77:107–114
- Verty AN, McGregor IS, Mallet PE (2004) Consumption of high carbohydrate, high fat, and normal chow is equally suppressed by a cannabinoid receptor antagonist in non-deprived rats. *Neurosci Lett* 354:217–220

- Villégier AS, Blanc G, Glowinski J, Tassin JP (2003) Transient behavioral sensitization to nicotine becomes long-lasting with monoamine oxidases inhibitors. *Pharmacol Biochem Behav* 76:267–274
- Vinklerová J, Nováková J, Sulcová A (2002) Inhibition of methamphetamine self-administration in rats by cannabinoid receptor antagonist AM 251. *J Psychopharmacol* 16:139–143
- Vlachou S, Nomikos GG, Panagis G (2003) WIN 55,212-2 decreases the reinforcing actions of cocaine through CB₁ cannabinoid receptor stimulation. *Behav Brain Res* 141:215–222
- Wang L, Liu J, Harvey-White J, Zimmer A, Kunos G (2003) Endocannabinoid signaling via cannabinoid receptor 1 is involved in ethanol preference and its age-dependent decline in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 100:1393–1398
- Zarrindast MR, Faraji N, Rostami P, Sahraei H, Ghoshouni H (2003) Cross-tolerance between morphine- and nicotine-induced conditioned place preference in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 74:363–369
- Zhang H, Sulzer D (2004) Frequency-dependent modulation of dopamine release by nicotine. *Nat Neurosci* 7:581–582
- Zimmer A, Zimmer AM, Hohmann AG, Herkenham M, Bonner TI (1999) Increased mortality, hypoactivity, and hypoalgesia in cannabinoid CB₁ receptor knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:5780–5785

Differential involvement of the endocannabinoid system in short- and long-term expression of incentive learning supported by nicotine in rats

Benoît Forget · Sandrine Barthélémy ·
Françoise Saurini · Michel Hamon ·
Marie-Hélène Thiébot

Received: 15 March 2006 / Accepted: 19 July 2006 / Published online: 13 September 2006
© Springer-Verlag 2006

Abstract

Rationale We previously reported that the CB1 cannabinoid receptor antagonist, rimonabant, impaired the acquisition and the short-term (24 h), but not long-term (3 weeks), expression of conditioned place preference (CPP) induced by nicotine in rats.

Objective To assess the time interval of efficacy of a single pretest injection of rimonabant to abolish nicotine–CPP, and the effects of chronic CB1 receptor blockade on long-term expression of nicotine–CPP.

Materials and methods Wistar rats were conditioned to nicotine (0.06 mg/kg, subcutaneous) using an unbiased one-compartment procedure. Two test sessions were conducted 24 h (without injection) and 1, 2, or 3 weeks later. Rimonabant (3 mg/kg, intraperitoneal) or vehicle was administered daily between the two test sessions. In addition, the CB1-stimulated [³⁵S]GTP- γ -S binding was assessed in rats from the 3-week experiment.

Results The capacity of a single injection of rimonabant (3 mg/kg, 30 min pretest) to block the expression of

nicotine–CPP disappeared within 1 week after conditioning. Daily administrations of rimonabant for 6, 13, or 20 days postacquisition did not impair nicotine–CPP but allowed an additional pretest injection of rimonabant to retain its capacity to abolish long-term expression of nicotine–CPP. The CB1 receptor-mediated G-protein signaling was not altered in various brain areas of rats given rimonabant for 3 weeks.

Conclusions The endocannabinoid system is essential to the expression of nicotine–CPP during less than 1 week after conditioning but not later. However, endocannabinoid-dependent mechanisms are critically involved in the development of the neuroadaptive changes responsible for the shift from CB1-dependent to CB1-independent expression of nicotine incentive learning.

Keywords Nicotine · CB1 cannabinoid receptor · Rimonabant · Conditioned place preference · Neural plasticity · Rat

Introduction

Tobacco and cannabis are among the most widely consumed drugs of abuse in humans. Nicotine is the principal component of tobacco smoke that leads to addiction, and Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) is the major psychoactive component of cannabis. They exert their primary effect at specific receptors, which are especially abundant in the central nervous system. Nicotine activates several subtypes of neuronal nicotinic acetylcholine (nACh)-gated ion channel receptors, formed by the combination of five α and β subunits. Heterooligomeric nACh receptors containing the $\beta 2$ and $\alpha 4$ subunits have been convincingly involved in the reinforcing effects of nicotine whereas this

B. Forget · S. Barthélémy · F. Saurini · M. Hamon · M.-H. Thiébot
INSERM, U677,
Paris F-75013, France

B. Forget · S. Barthélémy · F. Saurini · M. Hamon · M.-H. Thiébot
University Pierre et Marie Curie,
IFR 70 Neurosciences,
Paris F-75013, France

B. Forget · S. Barthélémy · F. Saurini · M. Hamon ·
M.-H. Thiébot (✉)
UMR 677 INSERM/UPMC,
Faculty of Medicine Pierre et Marie Curie, Site Pitié-Salpêtrière,
91 Boulevard de l'Hôpital,
75634 Paris Cedex 13, France
e-mail: thiebot@ext.jussieu.fr

role is still debated for $\alpha 7$ homooligomeric receptors (Pidoplichko et al. 2004; Tapper et al. 2004). On the other hand, Δ^9 -THC activates CB1 and CB2 cannabinoid Gi/o-protein-coupled receptors (Pertwee 1999), at which anandamide and 2-arachidonoyl glycerol (2-AG) act as endogenous agonists (van der Stelt and Di Marzo 2003). Central effects of cannabinoids are thought to be mediated by the CB1 receptor because most of them are abolished by the potent and selective CB1 receptor antagonist, rimonabant (Rinaldi-Carmona et al. 1995), and are not observed in CB1 receptor knockout (KO) mice (Ledent et al. 1999; Zimmer et al. 1999).

A large body of congruent data support the idea that the endogenous cannabinoid system plays a key role in brain mechanisms underlying the motivational effects of drugs of abuse and drug-related stimuli. Thus, CB1 receptor blockade decreased nicotine, ethanol, methamphetamine, morphine, and heroin self-administration in rodents (Arnone et al. 1997; Navarro et al. 2001; Cohen et al. 2002; Vinklerová et al. 2002; De Vries et al. 2003), though it is generally ineffective in reducing cocaine self-administration (Tanda et al. 2000; De Vries et al. 2001). Rimonabant was also shown to prevent the establishment of conditioned place preference (CPP) supported by morphine, cocaine, and nicotine (Chaperon et al. 1998; Forget et al. 2005) and to block cue-induced reinstatement of cocaine, heroin, ethanol, and nicotine-seeking behavior (see, e.g., De Vries and Schoffelmeer 2005 and Le Foll and Goldberg 2005 for reviews). Furthermore, no rewarding effects of morphine and nicotine could be detected in CB1 receptor KO mice (Martin et al. 2000; Castañé et al. 2002).

When administered acutely, rimonabant could also impair the expression of nicotine-induced CPP (Le Foll and Goldberg 2004; Forget et al. 2005). However, inhibition of this behavior was effective when rimonabant was administered 24 h after the last conditioning session but not when the CB1 receptor antagonist was given 3 or 12 weeks after conditioning (Forget et al. 2005). These results suggest a differential involvement of the endocannabinoid system in the short- and long-term expression of incentive learning supported by nicotine. The present studies were designed to (1) determine the time interval after the conditioning phase during which a single pretest injection of rimonabant remains efficient to abolish the expression of CPP to nicotine, (2) examine the effects of a chronic blockade of CB1 receptors during the period between the conditioning phase and the test session (1, 2, or 3 weeks) on long-term expression of nicotine-induced CPP, and (3) investigate the consequences of nicotine conditioning followed by a 3-week chronic treatment with rimonabant on the functional G-protein coupling of CB1 receptors in brain areas potentially involved in incentive learning.

Materials and methods

Animals

The experiments were carried out on drug- and test-naïve male Wistar AF rats (CERJ, Le Genest, France). They were 5-week-old (150–160 g) upon their arrival in the laboratory and weighed 225–245 g at the beginning of the experiments 2 weeks later. The rats were housed eight per cage (40×40×18 cm) under standard conditions (12 h light–dark cycle with light on at 0730 hours; room temperature 21±1°C) with free access to water in their home cage. One week before the beginning of the experiments, the rats were brought daily from the animal housing facility to the laboratory; they were handled, weighed, and given a subcutaneous (s.c.) injection of nicotine (0.06 mg/kg) on Monday, Wednesday, and Friday, or saline on alternate days, immediately before being returned to their home cage. From this first week onward, they were placed on a daily schedule of mild food restriction (150 g of standard chow per day for eight rats, given as a single meal in the evening), which was maintained until the end of the experiment, as food restriction has been reported to enhance the rewarding effects of drugs of abuse (Bell et al. 1997; Carr 2002). Experiments were performed in agreement with the institutional guidelines for use of animals and their care, in compliance with national and international laws and policies (Council directive no. 87-848, October 19, 1987, Ministère de l'Agriculture et de la Forêt, Service Vétérinaire; rinaire de la Santé et de la Protection Animale, permissions no. 75-116 to MH and 75-118 to MHT).

Place conditioning paradigm

Apparatus

The experiments were conducted in a one-compartment apparatus, using an unbiased experimental design, as previously described (Forget et al. 2005). Briefly, the rats were trained and tested in four black wooden open-fields (76×76×50 cm) located in a room dimly lit with four 15 W red light bulbs, positioned 150 cm above each open-field (1 lx at floor level), and supplied with continuous masking noise (60 dB). The floor of each open-field was covered with removable quadrants made of one of two textures, wire mesh, or rough Plexiglas. These textures were chosen on the basis of previous studies indicating that naïve rats exhibited no unconditioned preference for one of them. Video cameras, mounted above each open-field, were connected with controlling equipment located in the adjacent room.

Experimental procedure

The general procedure consisted of two phases: conditioning and testing. Each rat was subjected to eight 30-min conditioning sessions (one session per day) in an open-field (always the same for each rat) whose four floor quadrants were of the same texture. Nicotine (0.06 mg/kg, s.c.), or its vehicle for the control group, was administered immediately before sessions 1, 3, 5, and 7, paired with one floor texture. Saline was injected (same administration schedule) before sessions 2, 4, 6, and 8, paired with the other floor texture. Nicotine–texture pairings were counterbalanced so that within each treatment group, nicotine would be associated with the wire mesh floor for half of the rats and with the Plexiglas floor for the other half. For each experiment, two 20-min test sessions were conducted in the same open-field whose floor was covered with two quadrants of the saline-paired texture and two quadrants of the nicotine-paired texture. Quadrants of the same texture were positioned diagonally opposite to each other. The first test session, conducted on day 9, i.e., 24 h after the last conditioning session, aimed at assessing the establishment of CPP to nicotine. Rats received no injection before this “probe test”. The second test session, preceded by repeated administrations of rimonabant (see below), was conducted either 7, 14, or 21 days later. The time (in seconds) spent on each texture and the distance traveled (in centimeters) were automatically recorded by means of the video system and analyzed by appropriate software (SuperG Software, Hans C. Neijt; Novartis Pharma, Basel, Switzerland). Briefly, the cameras were connected to a frame grabber (type DT3155; Data Translation, Marlboro, MA, USA). Every second, the digitized frame was compared with the previously stored frame, whereby the pixels with altered intensity were identified and used to compute the position of the rat and the distance traveled. Half of the time spent on the dividing lines was added to the total time spent on the nicotine- and the saline-paired textures.

Treatment schedules

Three independent experiments were performed to assess the effects of postacquisition repeated intraperitoneal (i.p.) administrations of rimonabant [3 mg/kg per day, a dose chosen on the basis of previous study (Forget et al. 2005)] on the long-term expression of nicotine-induced CPP. These experiments were conducted according to the same treatment schedule and differed by only the number of days elapsing between the “probe test” and the second test session, i.e., 7, 14, or 21 days.

The rats were subjected to the acquisition phase of place conditioning to nicotine (0.06 mg/kg, s.c.) and to the probe

test (without injection) as described above. In each experiment, the rats were divided into four treatment groups matched according to the time spent on the nicotine-paired texture during the probe test. Chronic treatments were then administered intraperitoneally daily between 1600 and 1700 hours, from day 10 (i.e., the day after the probe test) until the day before the second test session, and animals were given an additional injection 30 min before the test session. The rats of group 1 received vehicle daily and 30 min before the second test session (“Veh/Veh” group). The rats of group 2 were given vehicle daily and rimonabant (3 mg/kg) 30 min before the test session (“Veh/R3” group). The rats of group 3 received rimonabant (3 mg/kg) daily and vehicle 30 min pretest (“R3/Veh” group). The rats of group 4 received rimonabant (3 mg/kg) daily and an additional dose 30 min before the test session (“R3/R3” group).

In “[Experiment 1](#)”, the rats were given six chronic plus one acute injections, and the second test session was performed 7 days after the probe test. In “[Experiment 2](#)”, there were 13 chronic plus one acute injections, and the two test sessions were conducted 14 days apart. In “[Experiment 3](#)”, the rats received 20 daily plus one acute injections, and 21 days elapsed between the two test sessions. “[Experiments 1 and 3](#)” included an additional “Saline control” group of animals which never received nicotine (i.e., given saline only during the conditioning phase) and which were subjected to the schedule of chronic plus acute intraperitoneal injections of the vehicle of rimonabant.

Quantitative autoradiography of CB1 receptor-mediated [³⁵S]GTP- γ -S binding

This study was conducted in rats used for “[Experiment 3](#)” (chronic rimonabant for 3 weeks). Twenty-four hours after the second test session, five randomly selected rats from each of the “Saline control”, the “Veh/Veh”, and the “R3/R3” nicotine groups were decapitated; their brains were rapidly removed and frozen in isopentane chilled at -30°C with dry ice. Coronal sections (20 μm thick) were cut in a cryostat at -20°C , thaw-mounted onto superfrost slides, and then stored at -80°C until use.

Autoradiography of agonist-stimulated [³⁵S]GTP- γ -S binding was performed according to published procedures with slight modifications (Breivogel et al. 1999; Fabre et al. 2000). Briefly, brain sections were (1) preincubated at 25°C for 10 min in 50 mM of Trizma base (Tris), pH 7.4, supplemented with NaCl (100 mM), MgCl₂ (3 mM), EGTA (0.2 mM) and bovine serum albumin (0.5% w/v), then (2) incubated for 15 min in the same buffer with 2 mM guanosine-5'-diphosphate sodium salt and 10 μM 8-cyclopentyl-1,3-dipropylxanthine (DPCPX, an A1 adenosine

receptor antagonist) to decrease background labeling (Laitinen and Jokinen 1998). Thereafter, sections were incubated for 2 h at 25°C in the same (but fresh) buffer into which 0.05 nM [³⁵S]GTP- γ -S (1,000 Ci/mmol) had been added without (basal conditions) or with (stimulated conditions) the CB receptor agonist, WIN 55212-2 (1, 10, and 100 μ M). Nonspecific binding was determined with WIN 55212-2 (1, 10, and 100 μ M) plus rimonabant (10 μ M) to block CB1 receptors. Sections were then washed twice for 2 min each in ice-cold Tris buffer and briefly immersed in ice-cold distilled water. The slides were dried in a stream of cool air and apposed to a Kodak BioMax MR film for 48 h. Optical density (in arbitrary units) on autoradiograms was measured using a Biocom image analyzer (Les Ulis, France). [³⁵S]GTP- γ -S binding was quantified from six to eight sections for each assay condition [basal, stimulated (three agonist concentrations), and nonspecific (vs three agonist concentrations)] tested in each rat.

Drugs and chemicals

Rimonabant (SR 141716 base, micronized, Sanofi-Aventis, Montpellier, France) was suspended with one drop of Tween 80 in saline (0.9% NaCl, *w/v*) for *in vivo* studies or dissolved in DMSO (final concentration $\leq 0.2\%$, *v/v*) for *in vitro* studies. (–)Nicotine bitartrate (Sigma Chemicals, St. Louis, MO, USA) was dissolved in saline, and the pH was adjusted to between 7.3 and 7.5 with a few drops of 0.1 M NaOH. The doses were expressed as the free base. The drugs or their respective vehicle were injected in a volume of 5 ml/kg body weight. Other compounds were [³⁵S]GTP- γ -S (Amersham Pharmacia Biotech, Bucks, UK), WIN 55212-2, DPCPX, and GTP sodium salt (Sigma Chemicals).

Statistical analyses

Place conditioning results were expressed as mean (\pm SEM) time (in seconds) spent on the nicotine-paired floor texture during the test session. Place preference was assessed by testing whether the time spent on the nicotine-paired texture was longer than the time spent on the unpaired texture, using one-tailed, paired Student's *t* test. Treatment effects on preference time (i.e., paired minus unpaired time differences) were analyzed by one-way analysis of variance (ANOVA) followed, where appropriate, by Fisher's protected least significant difference (PLSD) test for multiple comparisons. "Experiments 1 and 3" were performed in duplicate; there were no statistically significant differences between the corresponding groups within each experiment, and data were pooled. Preference for the nicotine-paired texture, expressed as percent of the respective nicotine "Veh/Veh" group (percent of preference time), was plotted

against the time elapsed between the probe test and the test session (i.e., the chronic treatment duration), and simple linear regression fitting was calculated. Motor activity during the test session, expressed as mean (\pm SEM) distance (in centimeters) traveled, was analyzed by one-way ANOVA followed by pairwise comparisons using Fisher's PLSD test. Behavioral data were analyzed using StatView 5.0 software (SAS Institute, Cary, NC, USA).

The WIN 55212-2-stimulated [³⁵S]GTP- γ -S binding was plotted as percent augmentation above nonspecific binding (mean \pm SEM) and analyzed by two-way (WIN 55212-2 concentrations and treatment groups) ANOVAs. Nonlinear regression fitting was carried out using Prism 4.02 (Graph-Pad software, San Diego, CA, USA) software for the calculation of EC₅₀ values and maximal effects (B_{\max} value) of WIN 55212-2.

Results

Effects of postacquisition chronic administration of rimonabant on long-term expression of nicotine-induced conditioned place preference

Experiment 1

The rats of the "Saline control" group ($n=11$), never given nicotine during the conditioning phase, spent 614 \pm 55 s on the vehicle-paired floor texture during the first test session (probe test) and 589 \pm 60 s during the second test session conducted 1 week later. These values, not significantly different from those for the unpaired texture ($t_{10}=0.87$ and 0.19, respectively), indicated that there was no unconditioned preference for either floor texture.

Eighty rats were given nicotine (0.06 mg/kg, *s.c.*) during the conditioning phase. During the probe test conducted 24 h after the last conditioning session, they spent 787 \pm 23 s on the floor texture previously paired with nicotine (vs time spent on the unpaired texture: $t_{79}=8.22$; $p<0.0001$). Thus, the rats developed the expected preference for the nicotine-associated texture.

The results of the test session conducted 7 days after the probe test are reported in Fig. 1a. The rats given seven injections of vehicle ("Veh/Veh" group) spent 796 \pm 37 s on the texture previously paired with nicotine; this time was significantly above that spent on the unpaired texture ($t_{19}=5.28$, $p<0.0001$), indicating that preference for the nicotine-paired texture was still present 1 week after conditioning. As indicated by the ANOVA, a main treatment effect fell short of significance ($F_{(4,86)}=2.367$, $p=0.059$). This effect was only due to differences between the "Saline control" group and the "Veh/Veh" and "R3/Veh" groups ($p<0.05$). The time spent on the paired texture

was significantly longer than that spent on the unpaired texture in the four nicotine-conditioned groups, i.e., rats given chronic vehicle plus a single 3 mg/kg dose of rimonabant 30 min before the test (“Veh/R3” group: 711 ± 51 s; $t_{19}=2.17$, $p<0.05$), rats given chronic rimonabant plus vehicle pretest (“R3/Veh” group: 779 ± 50 s; $t_{19}=3.57$, $p<0.002$), and those given seven injections of rimonabant (“R3/R3” group: 701 ± 39 s; $t_{19}=2.62$, $p<0.02$). Thus, six daily injections of rimonabant without acute pretest dose (“R3/Veh” group) did not antagonize the expression of nicotine-induced CPP. Moreover, the rats given rimonabant before the test (“Veh/R3” and “R3/R3” groups) exhibited similar intermediate preference scores (significant paired vs unpaired time differences) that were not statistically different from either the nicotine “Veh/Veh” or the “Saline control” groups.

Experiment 2

All of the 48 rats included in this experiment were given nicotine (0.06 mg/kg, s.c.) during the conditioning phase. During the probe test, they spent 747 ± 24 s on the floor texture previously associated with nicotine (vs unpaired texture: $t_{47}=6.15$, $p<0.0001$), indicating a marked conditioned preference for the nicotine-paired texture.

Figure 1b depicts the results of the test session conducted 14 days after the probe test. Although the ANOVA failed to yield a significant main treatment effect ($F_{(3,44)}=1.11$, NS), the time spent on the texture previously paired with nicotine was significantly longer than on the unpaired texture in rats of the “Veh/Veh” group (746 ± 46 s; $t_{11}=3.20$, $p<0.01$), the “Veh/R3” group (715 ± 51 s; $t_{11}=2.28$, $p<0.05$), and the “R3/Veh” group (781 ± 46 s; $t_{11}=3.95$, $p<0.005$), indicating that CPP was still present in these animals. In contrast, the rats of the “R3/R3” group only spent 658 ± 58 s on the nicotine-paired texture, a value which did not significantly differ from that spent on the unpaired texture ($t_{11}=1.04$). Thus, despite the absence of significant between-group differences, 14 days after conditioning, the expression of nicotine–CPP was reduced by daily injections of rimonabant (3 mg/kg) provided that an additional dose was administered 30 min before the test session.

Experiment 3

The 16 “Saline control” rats spent 586 ± 49 s on the vehicle-paired floor texture during the probe test and 561 ± 49 s during the test session conducted 3 weeks later. These values, not significantly different from those for the

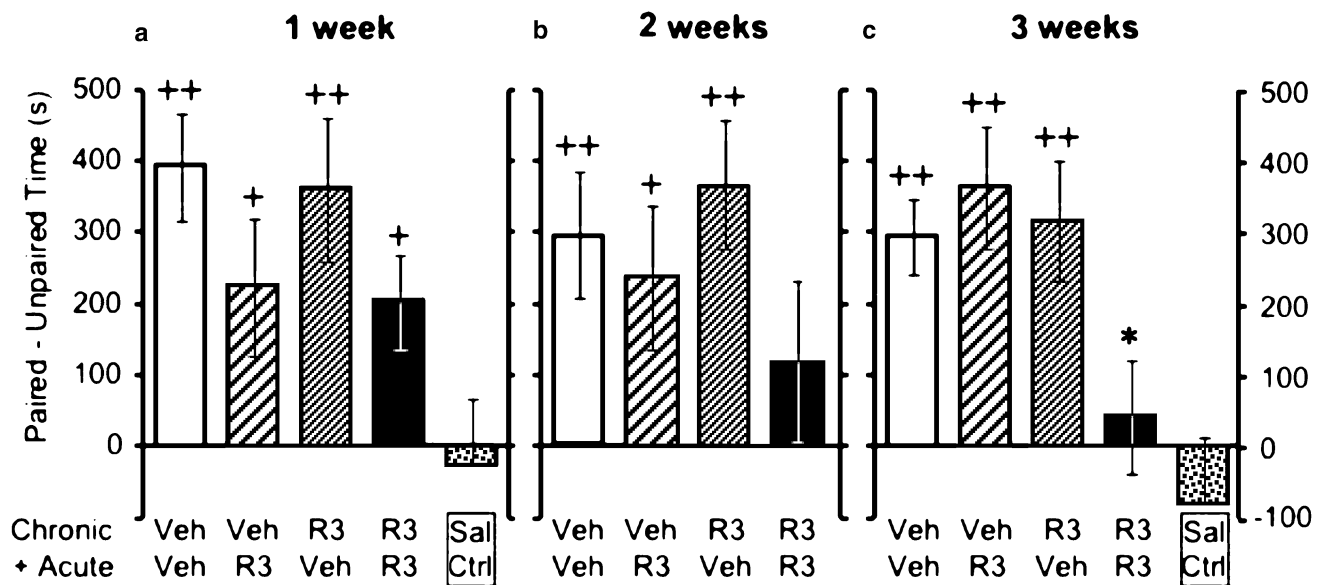


Fig. 1 Effects of chronic administration of rimonabant on long-term expression of nicotine-induced conditioned place preference. In three independent experiments, rats were given alternately nicotine (0.06 mg/kg, s.c.) and saline during the conditioning phase and were subjected to a probe test 24 h later. Then, they received 6 (a), 13 (b), or 20 (c) daily injections of rimonabant [3 mg/kg/day, i.p. (R3)], or vehicle (Veh), plus an additional administration of the same dose of rimonabant (R3), or vehicle (Veh), 30 min before a 20-min test session that was conducted 1, 2, or 3 weeks after the probe test, respectively. Saline control rats (Sal Ctrl) received saline (s.c.) before each

conditioning session and chronic vehicle (i.p.) between the probe test and the test session. Histograms represent the mean (\pm SEM) difference between the time (in seconds) spent on the floor texture previously paired with nicotine and the time spent on the unpaired texture (preference time) during the test session. The number of rats per group is indicated in Table 1. $+p<0.05$; $++p<0.01$; time spent on the nicotine-paired vs unpaired texture (paired Student's t test). $*p<0.05$; “R3/R3” group vs “Veh/Veh”, “Veh/R3” and “R3/Veh” groups (Fisher's PLSD test after ANOVA)

unpaired texture ($t_{15}=0.29$ and 0.83 , respectively), confirmed that there was no spontaneous preference for either floor texture.

The 102 rats administered with nicotine (0.06 mg/kg, s.c.) during the conditioning phase spent 745 ± 18 s on the nicotine-paired texture during the probe test (vs unpaired time: $t_{101}=7.88$; $p<0.0001$), indicating that they did develop preference for the nicotine-associated texture.

Figure 1c illustrates the results obtained during the test session conducted 21 days after the probe test. The time spent on the nicotine-paired texture was significantly above that for unpaired texture in rats of the “Veh/Veh” group (746 ± 26 s; $t_{25}=5.65$, $p<0.0001$), the “Veh/R3” group (780 ± 43 s; $t_{25}=4.16$, $p<0.0003$), and the “R3/Veh” group (757 ± 42 s; $t_{23}=3.75$, $p<0.001$). In contrast, the rats of the “R3/R3” group only spent 623 ± 46 s on the texture previously paired with nicotine, a time not significantly different from that spent on the unpaired texture ($t_{25}=0.41$). The ANOVA indicated a main treatment effect on the time differences ($F_{(4,113)}=4.24$; $p=0.0031$). Post hoc comparisons revealed that performance of the nicotine-conditioned “Veh/Veh”, “Veh/R3”, and “R3/Veh” groups were significantly different from the “Saline control” group ($p_s<0.01$) and that the “R3/R3” group differed significantly from the other three nicotine-conditioned groups (vs Veh/Veh: $p<0.05$; vs “Veh/R3”: $p<0.01$; vs “R3/Veh”: $p<0.05$) but not from the “Saline control” group. Overall, these results indicate that the incentive value of the nicotine-paired texture was still present 3 weeks after the conditioning phase and was prevented by neither a single pretest 3 mg/kg dose of rimonabant (“Veh/R3” group), as previously shown (Forget et al. 2005), nor by 20 daily injections of the CB1 receptor antagonist without additional pretest dosing (“R3/Veh” group). In contrast, the 3-week chronic administration of rimonabant followed by an acute dose before the test session (“R3/R3” group) abolished the long-term expression of nicotine-induced CPP.

As illustrated in Fig. 2, simple linear regressions calculated on percent of the preference time plotted against the delay between the probe test and the test session (1, 7, 14, or 21 days) indicated that the time spent on the nicotine-paired texture was significantly related to the retention interval in rats given a single pretest injection of rimonabant (24 h—R3 group in the study by Forget et al. (2005), and “Veh/R3” group in the present study) ($F_{(1,67)}=9.04$; $r=+0.35$; $p<0.004$). There were no such significant time–effect relationships in the other rimonabant-injected groups (“R3/Veh”: $F_{(1,54)}=0.11$, $r=+0.05$; “R3/R3”: $F_{(1,56)}=0.99$, $r=-0.13$; NS). Thus, the ability of a single acute dose of rimonabant (3 mg/kg) to counteract the expression of nicotine-induced CPP progressively vanished within 3 weeks.

Table 1 reports the distance traveled by rats during the test session. Depending on the experiment, the “Veh/Veh”

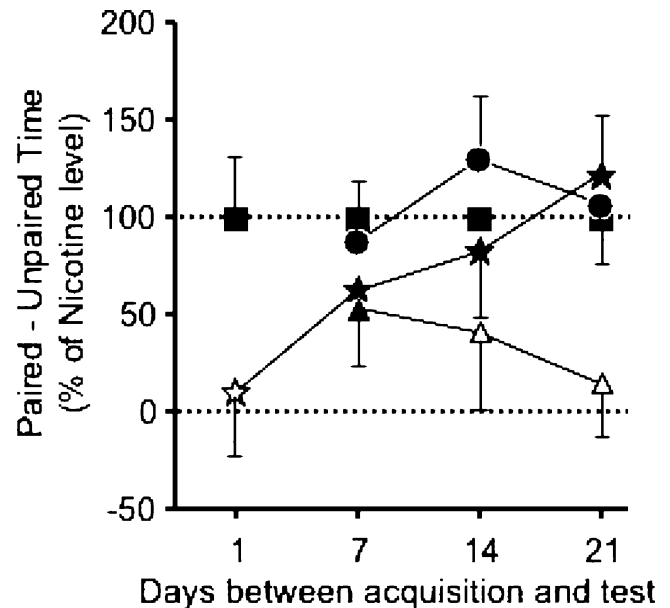


Fig. 2 Evolution of the expression of nicotine-induced conditioned place preference according to both the time interval between the acquisition phase and the test session and the number of injections of rimonabant. Results are those of nicotine-conditioned rats presented in Fig. 1. They are expressed as percent (\pm SEM) of the preference time of the respective nicotine-conditioned “Veh/Veh” control rats. Results of day 1 (a single 3 mg/kg dose of rimonabant, 30 min before the test session conducted 24 h after the last conditioning session) are from Forget et al. (2005). The horizontal dashed lines indicate the no preference (0%) and the CPP induced by nicotine alone (100%). For the sake of clarity, some error bars are omitted. Squares “Veh/Veh” (chronic + acute vehicle), stars “Veh/R3” (chronic vehicle + acute rimonabant, 3 mg/kg), circles “R3/Veh” (chronic R3 + acute vehicle), triangles “R3/R3” (chronic + acute R3) groups. Black symbols Groups exhibiting a conditioned preference as indicated by the time spent on the nicotine-paired texture significantly longer than that on the unpaired texture ($p<0.05$)

rats traveled 35–45 m in 20 min, a distance that did not differ from that of the “Saline control” animals. In nicotine-conditioned rats, an overall treatment effect was observed in “Experiment 1” ($F_{(3,76)}=4.73$, $p<0.005$) and “Experiment 3” ($F_{(3,98)}=10.53$, $p<0.0001$). Subsequent pairwise comparisons indicated that this was due to a significant reduction of the distance traveled by rats of the “Veh/R3” and “R3/R3” groups compared to the “Veh/Veh” group in “Experiments 1 and 3”, and also by rats of the “Veh/R3” compared to the “R3/Veh” group in “Experiment 3”. Thus, in these two experiments, a significant reduction of motor activity that ranged from -30 to -40% of control levels was observed in rats given rimonabant 30 min before the test session whatever the previous chronic treatment. In “Experiment 2”, though there was a trend for a reduction in motor activity in the corresponding groups (-20 and -25%), this effect did not reach the level of statistical significance ($F_{(3,44)}=1.49$, NS).

Table 1 Distance traveled during the test session conducted either 7 days (“Experiment 1”), 14 days (“Experiment 2”), or 21 days (“Experiment 3”) after the probe test for nicotine-induced conditioned place preference

Treatment groups (chronic/acute)	Distance (cm) traveled during the 20-min test session (mean±SEM)		
	Experiment 1 (7 days)	Experiment 2 (14 days)	Experiment 3 (21 days)
(1) Veh/Veh	(n=20) 3664±300	(n=12) 4104±369	(n=26) 4538±287
(2) Veh/R3	(n=20) 2326±382*	(n=12) 3297±419	(n=26) 2917±243***
(3) R3/Veh	(n=20) 2979±243	(n=12) 3886±350	(n=24) 4381±274
(4) R3/R3	(n=20) 2409±166*	(n=12) 3140±379	(n=26) 3114±231*
(5) Saline control	(n=11) 3921±371	–	(n=16) 4038±395

Rats of groups (1) to (4) were given alternately nicotine (0.06 mg/kg, s.c.) and saline during the conditioning phase, and subsequently, they received 6, 13, or 20 daily injections of rimonabant (3 mg/kg/day, i.p.; R3), or vehicle (Veh), plus an additional administration of the same dose of rimonabant (R3), or vehicle (Veh), 30 min before the second test session. The rats of the “Saline control” group (5) were nicotine-naïve and received daily i.p. injections of vehicle (see “Materials and methods” section). The number of rats per group is indicated in parentheses.

* $p < 0.01$ vs respective “Veh/Veh” group

** $p < 0.05$ vs respective “R3/Veh” group (Fisher’s PLSD test after ANOVA)

Quantitative autoradiography of [35 S]GTP- γ -S binding evoked by CB1 receptor stimulation

As illustrated in Fig. 3a, the CB receptor agonist, WIN 55212-2 (1, 10, and 100 μ M), induced a concentration-dependent increase of [35 S]GTP- γ -S binding in the hippocampal CA3 area, the lateral caudate-putamen (CPu), and the shell of the nucleus accumbens (NAcc), and similar

results were obtained in all other brain structures examined (not shown). Regional differences were noted in the maximal increase produced by 100 μ M WIN 55212-2, with the hippocampal CA3 area showing the largest increase, followed, in decreasing order, by the CA1 area, dentate gyrus (DG), lateral CPu, cingulate cortex (Cg Cx), medial CPu, NAcc core, and NAcc shell (Fig. 3b). In contrast, the calculated EC_{50} value of WIN 55212-2 did

CB1 receptor-stimulated [35 S]GTP- γ -S binding

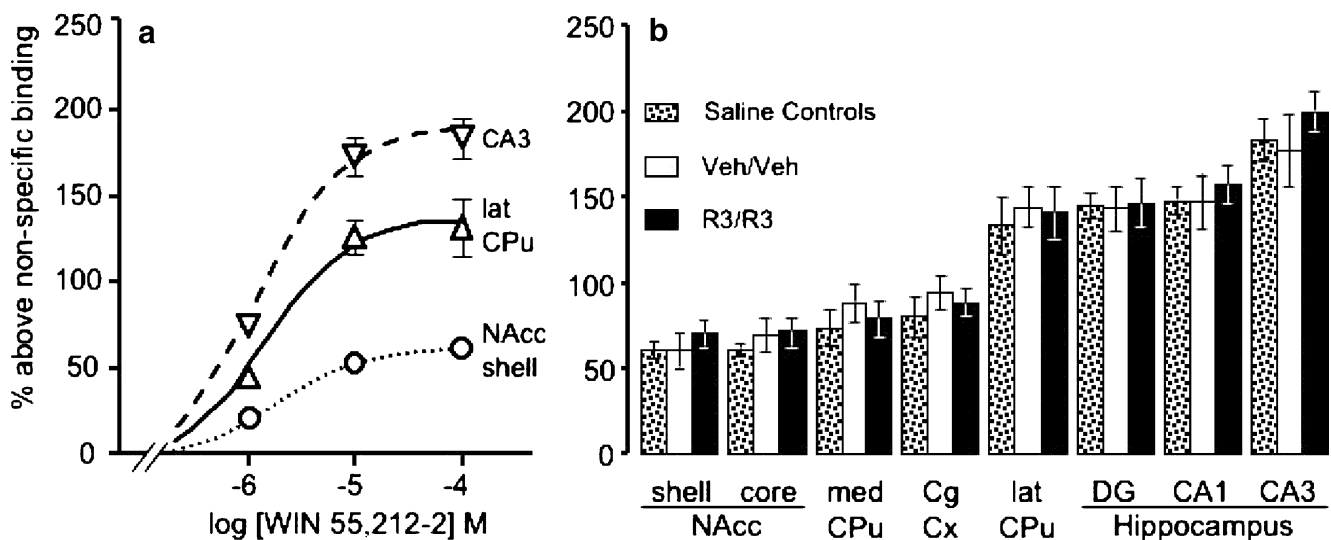


Fig. 3 **a** Concentration-dependent increase by WIN 55212-2 of [35 S]GTP- γ -S autoradiographic labeling of three selected areas in brain sections from “Saline control” rats. **b** Maximal increase (B_{max}) in [35 S]GTP- γ -S autoradiographic labeling produced by 100 μ M of WIN 55212-2 in eight different brain areas of rats from “Experiment 3”. “Saline control” group: nicotine-naïve rats given 21 daily injections of vehicle between the first and the second test sessions; “Veh/Veh” group: rats conditioned to nicotine (0.06 mg/kg, s.c.) and given 21 daily i.p. injections of vehicle between the first and the second test sessions; “R3/R3” group: rats conditioned to nicotine and given 21

daily injections of rimonabant (3 mg/kg, i.p.) between the first and the second test sessions. Each point or bar is the mean (\pm SEM) WIN 55212-2-induced increase of [35 S]GTP- γ -S binding expressed as percentage above nonspecific binding. Some error bars are smaller than symbols ($n=5$ rats per group). NAcc Nucleus accumbens, CPu caudate-putamen, median or lateral, Cg Cx cingulate cortex, DG dentate gyrus. Two-way ANOVAs indicated a statistically significant effect of WIN 55212-2 concentration in each structure considered (all $p < 0.0001$), but there were no group effects and no WIN \times group interactions

not significantly differ from one brain area to another [EC_{50} in micromolars (mean \pm SEM): CA3=1.35 \pm 0.29, CA1=1.57 \pm 0.53, DG=1.54 \pm 0.31, lateral Cpu=1.54 \pm 0.16, Cg Cx=2.47 \pm 0.36, medial Cpu=1.79 \pm 0.22, NAcc core=1.63 \pm 0.22, NAcc shell=1.19 \pm 0.21, $F_{(7,32)}$ =1.56, NS]. In all these regions, the effect of WIN 55212-2 could be ascribed to the activation of CB1 receptors since it was completely prevented by rimonabant (10 μ M), which, on its own, did not change [35 S]GTP- γ -S binding compared to baseline (data not shown). In each brain area, the ANOVAs indicated an overall significant effect of WIN 55212-2 (all p <0.0001) but no treatment effect and no interaction. Thus, previous administration of nicotine alone (“Veh/Veh” group) or nicotine plus rimonabant (“R3/R3” group) had no significant influence on the activation of G-proteins by CB1 receptor stimulation whatever the brain structure considered (Fig. 3b).

Discussions

The present study supports and extends our previous findings (Forget et al. 2005) giving evidence that, in rats subjected to an unbiased procedure, (1) the 0.06 mg/kg dose of nicotine reliably induced robust CPP, (2) the expression of such incentive learning endured for several weeks without additional exposure to the drug and the test apparatus, and (3) a single pretest blockade of CB1 receptors by rimonabant, at the 3 mg/kg dose active to abolish the short-term (24 h) expression of nicotine-induced CPP, was totally ineffective when the test session took place 3 weeks after the conditioning phase. As illustrated in Fig. 2, the results of test sessions conducted at shorter time intervals indicate that the ability of acute rimonabant to inhibit approach behavior elicited by nicotine-associated floor texture was reduced within 7 days and was totally abolished 2 weeks after the conditioning phase (“Veh/R3” group). Thus, whereas the activation of CB1 receptors is likely to be necessary for the short-term expression of nicotine incentive learning, at longer time intervals, the same function seems to be subserved by neurobiological processes, independent of the endocannabinoid system, which developed progressively. It is most interesting that the acute pretest blockade of CB1 receptors retained its capacity to abolish long-term expression of nicotine–CPP in rats that had been given daily injections of rimonabant during the 2- or 3-week postacquisition period (“R3/R3” group). Therefore, the endocannabinoid activation of CB1 receptors seems essential to the development of neuroadaptive changes responsible for the progressive shift from CB1-dependent to CB1-independent expression of nicotine incentive learning.

The rats given acute rimonabant exhibited a decrease in locomotor activity as previously reported (Chaperon et al. 1998; Singh et al. 2004). This effect was observed in both the “Veh/R3” and “R3/R3” groups in “Experiments 1 and 3”, and the possibility that hypoactivity contributed to the observed effects of the blockade of CB1 receptors cannot be discounted. In contrast, in “Experiment 2”, the distance traveled by rats was not significantly modified by rimonabant administered either as a single pretest dose (“Veh/R3” group), as already observed (Le Foll and Goldberg 2004; Forget et al. 2005), or as daily injections (“R3/Veh” and “R3/R3” groups). Collectively, these data indicate that rimonabant had rather variable consequences on locomotor activity. It is of interest that it must be emphasized that, whatever the experiment, motor effects were not observed in the “R3/Veh” group, indicating that no long lasting effect occurred even after 20 daily injections. Thus, 3 weeks after conditioning, despite a similar reduction of locomotor activity (Table 1), the rats of the “Veh/R3” group exhibited an unaltered preference for the nicotine-paired texture, whereas rats of the “R3/R3” group no longer expressed preference for that texture. On the other hand, although the present study was not designed to investigate the consequences of chronic rimonabant on food intake, it is of note that body weight gain was significantly attenuated (for instance in “Experiment 3”, the 20-day weight gains were: Veh=+55.00 \pm 2.48 g; R3=+43.33 \pm 2.60 g; p <0.005; Saline control=+55.63 \pm 4.86 g). This effect is in keeping with the known consequences of CB1 receptor blockade on food consumption and body weight (see, e.g., Ravinet Trillou et al. 2003 for a review). Nevertheless, the expression of nicotine–CPP was clearly different in the “R3/Veh” and “R3/R3” groups in spite of a similar attenuation of body weight gain as compared with the other two groups (“Veh/Veh” and “Veh/R3”). Collectively, these data indicate that the differential effects of acute and chronic rimonabant on long-term expression of nicotine–CPP are unlikely secondary to nonspecific motor or feeding effects.

Other alternative factors which could be responsible for the effects of rimonabant on conditioned incentive stimuli associated with nicotine (e.g., rimonabant-induced motivational or mnemonic effects, nicotine-like discriminative effects or alteration of nicotine discrimination) were considered in previous publications (Cohen et al. 2002; Le Foll and Goldberg 2004; Forget et al. 2005). It seems unlikely for any of these factors to be a potential confounder under the conditions used in our studies.

To assess whether possible changes in the functional properties of CB1 receptors would account for the shift from CB1-dependent to CB1-independent expression of nicotine incentive learning, we investigated whether the capacity of CB1 receptor stimulation to increase [35 S]GTP- γ -S binding exhibited adaptive changes under the long-term

treatment conditions used in our protocols. As expected from its mediation by CB1 receptors, the rimonabant-sensitive WIN 55212-2-induced increase in [35 S]GTP- γ -S binding exhibited the same EC_{50} value, whatever the brain area considered, but marked regional differences in B_{max} values that matched the known regional variations in CB1 receptor density (Herkenham et al. 1991). However, CB1 receptor-mediated G-protein activation did not differ between “Veh/Veh” and “Saline control” rats, indicating that, under our conditions, nicotine conditioning that was achieved in “Veh/Veh” rats had no influence on CB1 receptor coupling with G-proteins. Similarly, Balerio et al. (2004) already reported that a 6-day infusion of nicotine (circa 9 mg free base kg^{-1} day $^{-1}$) affected neither the number and distribution of CB1 receptor binding sites nor the activation of G-proteins by WIN 55212-2 in mice.

Previous studies clearly established that chronic treatments with cannabinoid agonists downregulate and desensitize CB1 receptors in various brain regions in rats (Breivogel et al. 1999). However, opposite changes (supersensitivity and/or upregulation) did not occur after chronic (3 weeks) CB1 receptor blockade by rimonabant under our own conditions. Indeed, B_{max} (and EC_{50}) values of WIN 55212-2-induced [35 S]GTP- γ -S binding did not differ in rimonabant-treated rats (“R3/R3” group) compared to the other two groups of animals which did not receive the CB1 antagonist (“Saline control” and “Veh/Veh”). In line with these results, Rubino et al. (2000) showed that, in rats given rimonabant (5 mg/kg, i.p.) once a day for 4 days, cyclic adenosine monophosphate levels and protein kinase A activity did not change in several brain areas, suggesting that repeated blockade of CB1 receptors did not alter their intracellular signaling mechanisms. Therefore, although in the present study rimonabant was administered for longer periods of time, in rats previously given nicotine, the observed long-term behavioral responses were unlikely accounted for by compensatory alterations in CB1 receptor functional activity. They could possibly result from complex adaptive changes in the neuronal reward pathways.

Nicotine shares with other addictive drugs the property of activating the mesolimbic dopaminergic (DA) reward pathway (see, e.g., Balfour 2002 and Pierce and Kumaresan 2006 for reviews). Indeed, at low concentrations comparable to those obtained by smoking, nicotine induces a prolonged increase in firing and burst rates of DA neurons in the ventral tegmental area (VTA) by interacting with different nACh receptors located on these neurons and on GABAergic and glutamatergic afferents. This effect, along with a direct action of nicotine on DAergic terminals, promotes a sustained DA overflow in the NAcc, a brain area that plays a key role in the rewarding effects of drugs (Salamone et al. 2005). It is interesting to note that these responses sensitize upon repeated administrations, suggest-

ing that nicotine induces synaptic plasticity (see, e.g., Pidoplichko et al. 2004, Wonnacott et al. 2005, and Pierce and Kumaresan 2006 for reviews). However, it must be noted that a role for such process in reward-related behavior is still a matter of debate because enhancement of DA release as a mechanism underlying behavioral sensitization to nicotine (Fung and Lau 1989; Benwell and Balfour 1992) has not been consistently demonstrated in sensitized rats (Nisell et al. 1996; Birrell and Balfour 1998). On the other hand, several lines of evidence indicate that the endocannabinoid system is involved in the motivation for a variety of drugs of abuse including nicotine (see “Introduction”) through an interaction with the mesolimbic DA pathway (see, e.g., Tanda and Goldberg 2003 for a review). Convergent studies showed that, within the VTA, the local release of DA may induce a transient release of endocannabinoids that act as retrograde messengers on presynaptic CB1 receptors located on afferent terminals to reduce the local release of both GABA (Szabo et al. 2002) and glutamate (Melis et al. 2004). To the best of our knowledge, the respective intensities of these opposing effects have not been assessed in the VTA. However, studies on hippocampal slices showed that the inhibitory transmission is markedly more sensitive than the excitatory transmission to CB receptor agonists (Ohno-Shosaku et al. 2002; Chen et al. 2003). Therefore, it can be hypothesized that CB1-mediated suppression of GABAergic inhibitory control has greater functional consequence on the net excitability of postsynaptic DA neurons than the concomitant relatively mild reduction of glutamatergic excitatory input. Thus, it is striking that both nicotine and endocannabinoids interfere with GABAergic and glutamatergic control over VTA DA neurons, through receptors located on afferent terminals, to enhance (nACh) and suppress (CB1) local neurotransmitter release, respectively.

Endocannabinoids and nicotine might also exert control over VTA DA neuron activity through multisynaptic circuits, in particular from the NAcc. In this brain structure, the activation of nACh receptors located on GABAergic interneurons and neurons projecting into the VTA, and on glutamatergic afferent terminals, enhances neurotransmitter release (Wonnacott et al. 2005). Likewise, endocannabinoids can be released from GABAergic medium spiny neurons in the NAcc and, through retrograde activation of CB1 receptors on glutamatergic afferents, they can induce long-term depression of the excitatory input to the NAcc (Robbe et al. 2002). One consequence of this action is a reduction of the firing rate of GABAergic neurons projecting into the VTA, which, in turn, results in the disinhibition of DA neuron activity (Pistis et al. 2002). In fact, an *ex vivo* study in rats indicated that chronic nicotine (1 mg kg^{-1} day $^{-1}$ \times 7 days) enhanced anandamide levels in limbic forebrain (González et al. 2002). If this effect

generalizes to the dose and the rhythm of injections used in the present study, then it can be speculated that the activity of DA neurons can be modulated by CB1 receptor-mediated trans- and multisynaptic processes. This could represent as many possible mechanisms whereby rimonabant interferes with both the motivational properties of nicotine and the development of long-term synaptic plasticity responsible for the progressive shift from CB1-dependent to CB1-independent expression of CPP supported by nicotine.

To conclude, the present study shows that the capacity of a single pretest injection of rimonabant to abolish approach behavior and the lengthened time contact elicited by the floor texture previously paired with nicotine progressively vanished within 1 to 2 weeks. This indicates that the endocannabinoid system, which plays a pivotal role in the initial neurobiological processes underlying the attribution of incentive salience to cues related to nicotine effects (Forget et al. 2005), is progressively replaced by other system(s) and no longer constitutes a necessary step for the long-term expression of nicotine–CPP. Daily administrations of rimonabant during the postacquisition period allowed an acute pretest injection of this CB1 receptor antagonist to retain its blocking effect on the long-term expression of nicotine-induced CPP without altering the functional G-protein coupling of CB1 receptors in all the brain regions considered. Thus, a sustained (or repeated) activation of CB1 receptors is likely to be necessary for the development of adaptive processes during and/or after the establishment of nicotine–CPP. As a result, the endocannabinoid system no longer controls the dominant influence exerted by nicotine-paired cues on rats' behavior. The neurobiological processes underlying such endocannabinoid-dependent synaptic plasticity remain to be elucidated. However, it can be speculated that the opposite actions exerted by nicotine and endocannabinoids on GABAergic and glutamatergic control over DA neurons in the VTA and limbic projection areas represent possible mechanisms through which rimonabant interferes with nicotine-induced neuronal plasticity.

Acknowledgments This study has been supported by grants from INSERM, University Pierre et Marie Curie, MILDT (AO MILDT-Inserm 2001), and Sanofi-Aventis. Benoît Forget was the recipient of a grant from the “Société de Tabacologie”. The authors warmly thank Dr. Hans C. Neijt (Novartis Pharma) for his generous gift of the SuperG Software for image analysis. We are grateful to Sanofi-Aventis for the gift of rimonabant.

References

- Amone M, Maruani J, Chaperon F, Thiébot MH, Poncelet M, Soubrié P, Le Fur G (1997) Selective inhibition of sucrose and ethanol intake by SR 141716, an antagonist of central cannabinoid (CB1) receptors. *Psychopharmacology (Berl)* 132:104–106
- Balerio GN, Aso E, Berrendero F, Murtra P, Maldonado R (2004) Δ^9 -Tetrahydrocannabinol decreases somatic and motivational manifestations of nicotine withdrawal in mice. *Eur J Neurosci* 20:2737–2748
- Balfour DJ (2002) Neuroplasticity within the mesoaccumbens dopamine system and its role in tobacco dependence. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord* 1:413–421
- Bell SM, Stewart RB, Thompson SC, Meisch RA (1997) Food-deprivation increases cocaine-induced conditioned place preference and locomotor activity in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 131:1–8
- Benwell ME, Balfour DJ (1992) The effects of acute and repeated nicotine treatment on nucleus accumbens dopamine and locomotor activity. *Br J Pharmacol* 105:849–856
- Birrell CE, Balfour DJ (1998) The influence of nicotine pretreatment on mesoaccumbens dopamine overflow and locomotor responses to D-amphetamine. *Psychopharmacology (Berl)* 140:142–149
- Breivogel CS, Childers SR, Deadwyler SA, Hampson RE, Vogt LJ, Sim-Selley LJ (1999) Chronic Δ^9 -tetrahydrocannabinol treatment produces a time-dependent loss of cannabinoid receptors and cannabinoid receptor-activated G proteins in rat brain. *J Neurochem* 73:2447–2459
- Carr KD (2002) Augmentation of drug reward by chronic food restriction: behavioral evidence and underlying mechanisms. *Physiol Behav* 76:353–364
- Castañé A, Valjent E, Ledent C, Parmentier M, Maldonado R, Valverde O (2002) Lack of CB1 cannabinoid receptors modifies nicotine behavioural responses, but not nicotine abstinence. *Neuropharmacology* 43:857–867
- Chaperon F, Soubrié P, Puech AJ, Thiébot MH (1998) Involvement of central cannabinoid (CB1) receptors in the establishment of place conditioning in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 135:324–332
- Chen K, Ratzliff A, Hilgenberg L, Gulyas A, Freund TF, Smith M, Dinh TP, Piomelli D, Mackie K, Soltesz I (2003) Long-term plasticity of endocannabinoid signaling induced by developmental febrile seizures. *Neuron* 39:599–611
- Cohen C, Perrault G, Voltz C, Steinberg R, Soubrié P (2002) SR141716, a central cannabinoid (CB₁) receptor antagonist, blocks the motivational and dopamine-releasing effects of nicotine in rats. *Behav Pharmacol* 13:451–463
- De Vries TJ, Schoffelmeer ANM (2005) Cannabinoid CB₁ receptors control conditioned drug seeking. *Trends Pharmacol Sci* 26:420–426
- De Vries TJ, Shaham Y, Homberg JR, Crombag H, Schuurman K, Dieben J, Vanderschuren LJ, Schoffelmeer AN (2001) A cannabinoid mechanism in relapse to cocaine seeking. *Nat Med* 7:1151–1154
- De Vries TJ, Homberg JR, Binnekade R, Raaso H, Schoffelmeer AN (2003) Cannabinoid modulation of the reinforcing and motivational properties of heroin and heroin-associated cues in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 168:164–169
- Fabre V, Beaufour C, Evrard A, Rioux A, Hanoun N, Lesch KP, Murphy DL, Lanfumey L, Hamon M, Martres MP (2000) Altered expression and functions of serotonin 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors in knock-out mice lacking the 5-HT transporter. *Eur J Neurosci* 12:2299–2310
- Forget B, Hamon M, Thiébot MH (2005) Cannabinoid CB₁ receptors are involved in motivational effects of nicotine in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 181:722–734
- Fung YK, Lau YS (1989) Effect of nicotine pretreatment on striatal dopaminergic system in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 32:221–226
- González S, Cascio MG, Fernández-Ruiz J, Fezza F, Di Marzo V, Ramos JA (2002) Changes in endocannabinoid contents in the

- brain of rats chronically exposed to nicotine, ethanol or cocaine. *Brain Res* 954:73–81
- Herkenham M, Lynn AB, Johnson MR, Melvin LS, de Costa BR, Rice KC (1991) Characterization and localization of cannabinoid receptors in rat brain: a quantitative in vitro autoradiographic study. *J Neurosci* 11:563–583
- Laitinen JT, Jokinen M (1998) Guanosine 5′-(γ -[³⁵S]thio)triphosphate autoradiography allows selective detection of histamine H3 receptor-dependent G protein activation in rat brain tissue sections. *J Neurochem* 71:808–816
- Le Foll B, Goldberg SR (2004) Rimonabant, a CB₁ antagonist, blocks nicotine-conditioned place preferences. *Neuroreport* 15:2139–2143
- Le Foll B, Goldberg SR (2005) Cannabinoid CB₁ receptor antagonists as promising new medications for drug dependence. *J Pharmacol Exp Ther* 312:875–883
- Ledent C, Valverde O, Cossu G, Petitot F, Aubert JF, Beslot F, Böhme GA, Imperato A, Fratta W, Parmentier M (1999) Unresponsiveness to cannabinoids and reduced addictive effects of opiates in CB₁ receptor knockout mice. *Science* 283:401–404
- Martin M, Ledent C, Parmentier M, Maldonado R, Valverde O (2000) Cocaine, but not morphine, induces conditioned place preference and sensitization to locomotor responses in CB₁ knockout mice. *Eur J Neurosci* 12:4038–4046
- Melis M, Pistis M, Perra S, Muntoni AL, Pillolla G, Gessa GL (2004) Endocannabinoids mediate presynaptic inhibition of glutamatergic transmission in rat ventral tegmental area dopamine neurons through activation of CB₁ receptors. *J Neurosci* 24:53–62
- Navarro M, Carrera MR, Fratta W, Valverde O, Cossu G, Fattore L, Chowen JA, Gomez R, del Arco I, Villanua MA, Maldonado R, Koob GF, Rodríguez de Fonseca F (2001) Functional interaction between opioid and cannabinoid receptors in drug self-administration. *J Neurosci* 21:5344–5350
- Nisell M, Nomikos GG, Hertel P, Panagis G, Svensson TH (1996) Condition-independent sensitization of locomotor stimulation and mesocortical dopamine release following chronic nicotine treatment in the rat. *Synapse* 22:369–381
- Ohno-Shosaku T, Tsubokawa H, Mizushima I, Yoneda N, Zimmer A, Kano M (2002) Presynaptic cannabinoid sensitivity is a major determinant of depolarization-induced retrograde suppression at hippocampal synapses. *J Neurosci* 22:3864–3872
- Pertwee RG (1999) Pharmacology of cannabinoid receptor ligands. *Curr Med Chem* 6:635–664
- Pidoplichko VI, Noguchi J, Areola OO, Liang Y, Peterson J, Zhang T, Dani JA (2004) Nicotinic cholinergic synaptic mechanisms in the ventral tegmental area contribute to nicotine addiction. *Learn Mem* 11:60–69
- Pierce RC, Kumaresan V (2006) The mesolimbic dopamine system: the final common pathway for the reinforcing effect of drugs of abuse? *Neurosci Biobehav Rev* 30:215–238
- Pistis M, Muntoni AL, Pillolla G, Gessa GL (2002) Cannabinoids inhibit excitatory inputs to neurons in the shell of the nucleus accumbens: an in vivo electrophysiological study. *Eur J Neurosci* 15:1795–1802
- Ravinet Trillou C, Arnone M, Delgorge C, Gonalons N, Keane P, Maffrand JP, Soubrié P (2003) Anti-obesity effect of SR141716, a CB₁ receptor antagonist, in diet-induced obese mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 284:R345–R353
- Rinaldi-Carmona M, Barth F, Héaulme M, Alonso R, Shire D, Congy C, Soubrié P, Brelière JC, Le Fur G (1995) Biochemical and pharmacological characterization of SR 141716A, the first potent and selective brain cannabinoid receptor antagonist. *Life Sci* 56:1941–1947
- Robbe D, Kopf M, Remaury A, Bockaert J, Manzoni OJ (2002) Endogenous cannabinoids mediate long-term synaptic depression in the nucleus accumbens. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:8384–8388
- Rubino T, Vigano D, Zagato E, Sala M, Parolaro D (2000) In vivo characterization of the specific cannabinoid receptor antagonist, SR141716A: behavioral and cellular responses after acute and chronic treatments. *Synapse* 35:8–14
- Salamone JD, Correa M, Mingote SM, Weber SM (2005) Beyond the reward hypothesis: alternative functions of nucleus accumbens dopamine. *Curr Opin Pharmacol* 5:34–41
- Singh ME, Verty AN, McGregor IS, Mallet PE (2004) A cannabinoid receptor antagonist attenuates conditioned place preference but not behavioural sensitization to morphine. *Brain Res* 1026:244–253
- Szabo B, Siemes S, Wallmichrath I (2002) Inhibition of GABAergic neurotransmission in the ventral tegmental area by cannabinoids. *Eur J Neurosci* 15:2057–2061
- Tanda G, Goldberg SR (2003) Cannabinoids: reward, dependence, and underlying neurochemical mechanisms—a review of recent preclinical data. *Psychopharmacology (Berl)* 169:115–134
- Tanda G, Munzar P, Goldberg SR (2000) Self-administration behavior is maintained by the psychoactive ingredient of marijuana in squirrel monkeys. *Nat Neurosci* 3:1073–1074
- Tapper AR, McKinney SL, Nashmi R, Schwarz J, Deshpande P, Labarca C, Whiteaker P, Marks MJ, Collins AC, Lester HA (2004) Nicotine activation of alpha4* receptors: sufficient for reward, tolerance, and sensitization. *Science* 306:1029–1032
- van der Stelt M, Di Marzo V (2003) The endocannabinoid system in the basal ganglia and in the mesolimbic reward system: implications for neurological and psychiatric disorders. *Eur J Pharmacol* 480:133–150
- Vinklerová J, Nováková J, Sulcová A (2002) Inhibition of methamphetamine self-administration in rats by cannabinoid receptor antagonist AM 251. *J Psychopharmacol* 16:139–143
- Wonnacott S, Sidhpura N, Balfour DJ (2005) Nicotine: from molecular mechanisms to behaviour. *Curr Opin Pharmacol* 5:53–59
- Zimmer A, Zimmer AM, Hohmann AG, Herkenham M, Bonner TI (1999) Increased mortality, hypoactivity, and hypoalgesia in cannabinoid CB₁ receptor knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 96:5780–5785