

Université de Montréal

**Une lésion neurotoxique de l'habenula latérale amplifie  
la locomotion induite par un psychostimulant sans  
altérer la récompense**

par

Anthony Gifuni

Département de psychiatrie

Faculté de Médecine

Mémoire présenté à la Faculté de Médecine  
en vue de l'obtention du grade de Maîtrise  
en Sciences biomédicales  
option sciences psychiques

Décembre 2010

© Anthony Gifuni, 2010

Université de Montréal  
Faculté des études supérieures et postdoctorales

Ce mémoire intitulé :

Une lésion neurotoxique de l'habenula latérale amplifie la locomotion induite par un psychostimulant sans altérer la récompense

Présenté par :  
Anthony Gifuni

Évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Pierre-Paul Rompré, président-rapporteur  
Sandra Boye, directrice de recherche  
Adrianna Mendrek, membre du jury

## Résumé

L'habenula, un noyau épithalamique, est située au centre de la voie dorsale diencephalique. Cette voie relie les structures limbiques et les ganglions de la base aux cellules monoaminergiques du mésencéphale. En particulier, l'habenula latérale (HbL) projette directement aux cellules dopaminergiques et GABAergiques de l'aire tegmentale ventrale (ATV). L'ATV est le site d'origine de la voie mésolimbique dopaminergique, une voie impliquée de façon cruciale dans la manifestation des comportements dirigés. L'importance de cette projection habenulaire pour le comportement demeure encore méconnue. Ainsi, l'objectif de cette étude est d'approfondir notre compréhension du rôle de régulation de l'HbL sur les comportements dépendants de la neurotransmission dopaminergique.

**MATÉRIEL ET MÉTHODES:** Des rats adultes mâles Sprague-Dawley ont été anesthésiés avec de l'isofluorane et installés sur un appareil stéréotaxique. L'acide iboténique, une neurotoxine agoniste des récepteurs glutamatergiques, était infusée bilatéralement dans l'HbL (0,25 µg/0,25 µl/côté). Les rats du groupe contrôle recevaient des infusions NaCl 0,9%. Les rats de l'expérience d'autostimulation intracérébrale (ASIC) étaient aussi implantés d'une électrode monopolaire dans le mésencéphale postérieur. Un groupe de rats était testé pour leur réponse de locomotion à l'amphétamine (0; 0,5 ou 1 mg/kg, intrapéritonéal), dix jours suivant la lésion de l'HbL. La locomotion était mesurée dans des chambres d'activité, chacune équipée de deux faisceaux parallèles infrarouges. Le jour du test, les rats étaient pesés et placés dans la chambre d'activité puis leur activité locomotrice

de base était mesurée pendant une heure. Les rats recevaient ensuite une dose d'amphétamine ou le véhicule (NaCl 0,9%) par voie intrapéritonéale et l'activité locomotrice était mesurée pendant deux heures supplémentaires. Un groupe de rats distinct a été utilisé dans l'expérience d'ASIC. Commencant sept jours suivant la lésion, les rats étaient entraînés à appuyer sur un levier afin de s'autoadministrer des stimulations électriques, au cours de sessions quotidiennes. Nous avons ensuite mesuré chacun des taux de réponses d'une série de stimulations aux fréquences décroissantes. À partir d'une courbe réponses-fréquences, le seuil de récompense était inféré par la fréquence de la stimulation nécessaire pour produire une réponse semi-maximale. Les seuils de récompense étaient stabilisés à un niveau similaire pour l'ensemble des rats. Enfin, l'effet sur la récompense de l'amphétamine était testé aux mêmes doses employées pour l'expérience de locomotion.

**RÉSULTATS:** Une lésion neurotoxique de l'HbL n'a pas altéré les niveaux de base de l'activité locomotrice dans chaque groupe. Cependant, une telle lésion a potentialisé l'effet de locomotion de l'amphétamine (1 mg/kg) pendant la première heure suivant son administration, et une tendance similaire était observable pendant la seconde heure. À l'inverse, nous n'avons observé aucune interaction entre une lésion à l'HbL et l'effet amplificateur sur la récompense de l'amphétamine.

**CONCLUSION:** Nos résultats révèlent une importante contribution fonctionnelle de l'HbL à la locomotion induite par l'activation de la voie mésolimbique dopaminergique avec une dose de 1 mg/kg d'amphétamine. À l'opposé, aucun effet sur la récompense n'a été observé. Ces résultats suggèrent que l'activation psychomotrice et l'amplification de la

récompense produite par l'amphétamine dépendent de substrats dissociables, chacun étant différentiellement sensible à la modulation provenant de l'HbL.

**Mots-clés :** Amphétamine, autostimulation intracérébrale, dopamine, habenula latérale, lésion, locomotion, récompense

## **Abstract**

The habenula, an epithalamic nucleus, is centrally located within the dorsal diencephalic conduction system. This dorsal pathway connects the limbic forebrain and basal ganglia to midbrain monoaminergic cell groups intricately involved in the control of behavior. In particular, the lateral habenula (LHb) projects to, among other sites, the ventral tegmental area (VTA). Indeed, recent work has revealed direct LHb innervation of VTA dopamine as well as GABA cells. Little is known, however, about the behavioral relevance of this innervation but this knowledge is of potential importance, since the VTA gives rise to the mesolimbic dopamine pathway, a system critically involved in goal-directed behavior. Our aim here was to begin to understand the contribution of the LHb to dopamine-dependent behaviors. To do this, we produced neurotoxic lesions of the LHb and measured amphetamine-enhanced locomotion and intracranial self-stimulation (ICSS), two behaviors highly sensitive to mesolimbic dopamine neurotransmission.

**MATERIALS AND METHODS:** Adult male Sprague-Dawley rats were anesthetised with isoflurane and mounted onto a stereotaxic apparatus. Ibotenic acid, an excitatory neurotoxin at glutamatergic receptors, was infused bilaterally into the LHb (0.25  $\mu$ g/0.25  $\mu$ l/side). Sham-lesioned rats received infusions of 0.9% sterile saline. Rats in the ICSS experiment were additionally implanted with a monopolar stimulation electrode in the posterior mesencephalon. One group of rats was tested for their locomotor response to amphetamine (0, 0.5 or 1 mg/kg, i.p.), ten days after LHb lesion. Locomotion was measured in rectangular activity chambers, each equipped with two parallel infrared

photobeams. On test day, rats were weighed, placed in the activity chamber and baseline locomotor activity was measured for 1 hour. Rats then received amphetamine or vehicle (0.9% saline) and locomotor activity was measured for 2 more hours. A separate group of rats was used in the ICSS experiment. Beginning seven days post-lesion, rats were trained to press a lever in order to self-administer trains of stimulation pulses. We then measured response rates at each of a series of pulse frequencies during daily sessions. From these response-frequency curves, we obtained estimates of reward thresholds, defined as the pulse frequency necessary for half-maximal responding. Baseline reward thresholds were matched across all rats and once stable, we tested the reward-enhancing effect of amphetamine, at the same doses tested in the locomotion experiment.

**RESULTS:** Neurotoxic lesions of the LHb did not alter baseline locomotor activity in either group. Amphetamine enhanced locomotor activity throughout the entire 2 hour test. Importantly, the locomotor stimulant effect of amphetamine (1 mg/kg) was significantly greater in lesioned rats during the first hour, and a similar tendency was observed during the second hour. On the other hand, we did not observe any difference in amphetamine-induced enhancement of reward between lesioned and sham rats, at any dose or any time post-injection.

**CONCLUSION:** Our findings reveal an important functional contribution of the LHb to dopamine-mediated locomotion. On the other hand, the clear dissociation between the locomotor-stimulant and rewarding effects of amphetamine suggests that the neural

substrates mediating these two are dissociable and differentially sensitive to LHb modulation.

**Keywords** : amphetamine, dopamine, habenula, intracranial self-stimulation, locomotion, reward.



# Tables des matières

<b>1. INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
1. LES COMPORTEMENTS DIRIGÉS ET LA DOPAMINE.....	2
1.1 <i>L'activation psychomotrice et la dopamine</i> .....	5
1.2 <i>La récompense et la dopamine</i> .....	9
2. RELATION ENTRE L'HABENULA ET LA DOPAMINE.....	19
2.1 <i>Anatomie de l'habenula</i> .....	21
2.2 <i>Interactions fonctionnelles entre l'HbL et la voie mésolimbique dopaminergique</i>	29
3. ÉTUDE DU RÔLE DE L'HABENULA DANS LES COMPORTEMENTS DIRIGÉS .....	36
<b>2. ARTICLE .....</b>	<b>42</b>
TITRE : .....	42
AUTEURS : .....	42
CONTRIBUTION SPÉCIFIQUE DE L'ÉTUDIANT.....	42
ABSTRACT.....	43
INTRODUCTION.....	45
MATERIALS AND METHODS .....	48
<i>Subjects</i> .....	48
<i>Surgery</i> .....	48
<i>Locomotor activity</i> .....	49
<i>Intracranial self-stimulation</i> .....	50
<i>Histology</i> .....	51
<i>Data Analysis</i> .....	52
RESULTS .....	53
<i>Locomotor activity</i> .....	53
<i>Intracranial self-stimulation</i> .....	54
DISCUSSION .....	55

REFERENCE LIST.....	60
FIGURES LEGEND.....	64
<i>FIGURE 1</i> .....	66
<i>FIGURE 2</i> .....	67
<i>FIGURE 3</i> .....	68
<i>FIGURE 4</i> .....	69
<i>FIGURE 5</i> .....	71
<i>FIGURE 6</i> .....	72
<b>3. DISCUSSION</b> .....	<b>73</b>
<b>4. RÉFÉRENCES</b> .....	<b>89</b>

## Liste des figures

Figure 1 :Relation anatomique entre l'HbL et l'ATV.....	24
Figure 2 : Illustration du paradigme du déplacement de la courbe de l'ASIC.....	41

### ARTICLE

Légende .....	64
Figure 1 .....	66
Figure 2 .....	67
Figure 3 .....	68
Figure 4 .....	69
Figure 5 .....	71
Figure 6 .....	72

## Abréviations

**2-DG** : 2-Deoxy-glucose

**6-OHDA** : 6-hydroxy-dopamine

**AMPH** : Amphétamine

**AMPA** :  $\alpha$ -amino-3-hydroxyl-5-methyl-4-isoxazole-propionate

**AP** : Axe antéropostérieur

**CTRL** : Sujet contrôle

**ASIC** : Autostimulation intracérébrale

**ATV** : Aire tegmentale ventrale

**DA** : Dopamine

**D1** : Récepteur dopaminergique de type 1

**D2** : Récepteur dopaminergique de type 2

**DOPA** : Dihydroxyphenylalanine

**DOPAC** : Acide 3,4-dihydroxyphenylacétique

**FMT** : Faisceau médian télencéphalique

**GABA** : Acide gamma-aminobutyrique

**GAD** : Décarboxylase de l'acide glutamique

**Hb** : Habenula

**HbL** : Habenula latérale

**HbM** : Habenula médiane

**ML** : Axe médiolatéral

**NMDA** : Acide *N*-Methyl-D-aspartique

**RMTg** : Région méso-tegmentale

**SNpc** : Substantia Nigra pars compacta

**SNpr** : Substantia Nigra pars reticulata

**vGLUT** : Transporteur vésiculaire du glutamate

**VD** : Axe ventrodorsal



*À mes grands-parents :*

*Giuseppe Gifuni*

*Rosa Gifuni*

*Léopold Godin*

*Marthe Sauvageau*

## Remerciements

Ce mémoire est le fruit d'une maîtrise effectuée dans le cadre d'un MD/MSc. Au cours des trois dernières années, j'ai eu l'opportunité de m'initier à la recherche dans le domaine des neurosciences. J'ai pu acquérir de nouvelles connaissances et développer de nouvelles compétences techniques qui dépassaient de loin ce que j'avais déjà appris au cours de mes années de médecine préclinique. Mes premiers remerciements vont donc à ma directrice de recherche, Sandra Boye, qui m'a accueilli dans son laboratoire. Elle m'a servi de mentor scientifique et elle m'a guidé en respectant ma propre autonomie. Son intégrité personnelle et son engagement à la science resteront à jamais gravés à ma mémoire.

Merci chaleureux à ceux qui ont rempli mon quotidien pendant ma recherche et qui ont su animer de stimulantes discussions. En particulier, merci à Vincent Duchesne pour son amitié façonnée à même notre confrontation aux écueils de la recherche fondamentale. Je lui souhaite le plus grand bonheur dans sa profession d'enseignant au cégep.

Cette maîtrise m'a donné le temps et le recul nécessaire pour prendre conscience du rôle social du chercheur. Merci à Catherine Dion, du service des communications de l'hôpital Louis-H.-Lafontaine, qui m'a remis en question et a su voir le meilleur en moi.

J'aimerais surtout ne pas oublier Jean-François Ouimette, Aurelio Balsalobre et Jacques Drouin du laboratoire de génétique moléculaire de l'IRCM qui m'ont appris à faire mes premiers pas en recherche.

J'aimerais finalement remercier le Fonds de la recherche en santé du Québec (FRSQ) qui a financé ma maîtrise ainsi que le Conseil de recherche en sciences naturelles et en génie du Canada (CRSNG) pour son financement du laboratoire. Remerciements au Comité d'organisation du programme des stages d'été de la Faculté de Médecine (COPSÉ) de l'Université de Montréal et aux Instituts de recherche en santé du Canada (IRSC) qui m'ont financé pendant un été.



# 1. INTRODUCTION

L'habenula est une structure cérébrale dont le nom signifie en latin « petite bride ». La forme allongée de cette structure a en effet été comparée, par les premiers anatomistes, à de petites brides provenant de la glande pinéale [1]. L'habenula se situe dorsalement au thalamus et forme l'épithalamus avec la glande pinéale. Contrairement à la glande pinéale, l'habenula constitue le centre d'une voie neurale s'étendant du télencéphale jusqu'au mésencéphale : la voie diencephalique dorsale. Cette voie est formée bilatéralement du complexe habenulaire et de deux faisceaux de matière blanche : la stria medullaris, son principal faisceau afférent, et le fasciculus retroflexus, son principal faisceau efférent. Chez les vertébrés, l'habenula et les faisceaux de la voie dorsale diencephalique sont des structures relativement bien conservées [2]. Toutefois, les poissons [3] et les amphibiens [4] possèdent un complexe habenulaire asymétrique possédant deux noyaux à gauche et un seul à droite en raison d'un rapport asymétrique avec la glande pinéale lors de l'embryogenèse. Quant aux mammifères [5], l'habenula se développe symétriquement en deux noyaux dans chaque hémisphère. Ces deux noyaux, l'habenula médiane (HbM) et l'habenula latérale (HbL), comportent des afférences et efférences distinctes [6, 7].

En particulier, parmi ses projections, l'habenula latérale (HbL) projette notamment à l'aire tegmentale ventrale (ATV) [7], un site contenant les corps cellulaires des neurones dopaminergiques de la voie mésolimbique. Cependant, le rôle de cette projection habenulaire reste encore à être pleinement défini sur le plan comportemental. Cette connaissance est potentiellement d'une grande importance étant donné le rôle critique de la

voie mésolimbique dopaminergique dans la régulation des comportements dirigés [8], ainsi que dans certains troubles psychiatriques tels que la dépression et la schizophrénie [9]. Plus précisément, de récents travaux démontrent que l'HbL pourrait réguler la voie mésolimbique dopaminergique au moyen de projections glutamatergiques qui établissent leurs contacts synaptiques avec les cellules dopaminergiques et les cellules GABAergiques de l'ATV [10]. À preuve, la stimulation *in vivo* des cellules de l'HbL induit une inhibition des cellules de l'ATV [11, 12]. D'autre part, des enregistrements électrophysiologiques chez le primate démontrent que l'activité des cellules de l'HbL (activation ou inhibition) est associée à une activité dans le sens opposé des cellules dopaminergiques mésencéphaliques lors d'épreuves comportementales variant la récompense [13, 14]

Notre étude avait pour objectif de comprendre le rôle joué dans le comportement par la projection habenulaire aux cellules dopaminergiques mésolimbiques. À cette fin, nous avons produit une lésion neurotoxique des corps cellulaires habenulaires et nous avons étudié deux comportements hautement sensibles aux variations de l'activité dopaminergique mésolimbique, soit la locomotion induite par l'amphétamine et la récompense.

## **1. Les comportements dirigés et la dopamine**

Au cours de l'évolution, la capacité des animaux à diriger leurs comportements est devenue un avantage sélectif important, leur permettant de s'adapter aux spécificités et aux aléas de l'environnement. Se nourrir, s'hydrater, construire un nid ou se reproduire sont des comportements dirigés plus complexes que de simples programmes réflexes. Par exemple,

l'action de se nourrir n'est pas un réflexe produit par le contact de la nourriture avec la bouche d'un animal : une variété de stimuli tant externes (p. ex. une odeur ou une vision appétissante) qu'internes (p. ex. la faim) influencent ce comportement vital. L'animal doit diriger son comportement (p. ex. manger) au moment opportun et de la manière la plus efficace dans son environnement. Ainsi, le prédateur attiré par une proie devra se tapir dans la végétation, courir vers la proie, bondir de façon à l'agripper, pour finalement se nourrir de sa chair. En somme, les comportements dirigés sont des séquences motrices contrôlées par le système nerveux central. Ce contrôle dépend de l'état interne de l'animal et guide le comportement dirigé dans le temps et l'espace en prenant compte des signaux de l'environnement.

L'étude des substrats cérébraux responsables de l'acquisition et de l'expression des comportements dirigés s'avère d'une grande importance pour l'être humain, particulièrement en ce qui concerne notre compréhension des troubles de la dépendance aux substances psychotropes (drogues). Ces troubles peuvent être considérés comme un fonctionnement pathologique des comportements dirigés. Selon le DSM-IV-TR [15], la dépendance à une substance se caractérise notamment par un désir compulsif de consommer une substance, par une incapacité à contrôler sa consommation et par la poursuite de sa consommation en dépit de ses conséquences néfastes. Les troubles de la dépendance ont un coût économique majeur pour la société : on estime que les dépenses directes et indirectes liées à la consommation de drogue avoisinent les 40 milliards par année au Canada seulement [16]. D'un point de vue biologique, les animaux, incluant l'humain, ont principalement évolué dans des environnements dépourvus d'accès facile aux

drogues. Par conséquent, le système nerveux central des animaux n'est que peu adapté à l'effet des drogues [17]. À l'opposé, la réponse de l'organisme aux récompenses naturelles est minutieusement régulée par des processus homéostatiques, comme la faim et satiété régulent l'action de se nourrir (ce qui ne signifie pas que les récompenses naturelles ne peuvent induire des comportements pathologiques). Or, les substances psychotropes peuvent fréquemment induire des comportements pathologiques, car elles court-circuitent les systèmes de traitement de l'information extérieure, biaisent la perception des états internes de l'organisme et influencent artificiellement les mécanismes cérébraux contrôlant les comportements dirigés [8].

Plusieurs substrats cérébraux ont été impliqués dans le contrôle des comportements dirigés. Au milieu du XXe siècle, il fut découvert qu'une lésion de l'hypothalamus latéral produit un syndrome caractérisé par une anorexie, une adipsie et diverses anomalies de la régulation homéostatique [18]. Or, la destruction sélective des fibres dopaminergiques de passage dans l'hypothalamus latéral révéla qu'une partie importante de ce syndrome était due aux voies de projections dopaminergiques [19, 20]. Vers la même époque, Carlsson démontra que l'administration d'une haute dose de réserpine (5 mg/kg) produit chez le rongeur une déplétion des réserves des neurotransmetteurs monoaminergiques, se traduisant par une « écrasante » sédation. En outre, l'effet sédatif de la réserpine put être renversé en rétablissant la transmission dopaminergique par l'administration de DOPA intraveineux (le précurseur immédiat de la dopamine) [21]. Qui plus est, l'activité dopaminergique s'est depuis avérée centrale à notre compréhension des phénomènes neurobiologiques sous-tendant les troubles de la dépendance. En effet, une modulation de la neurotransmission

dopaminergique semble être le mécanisme d'action commun par lequel les substances psychotropes produisent leur effet sur la récompense [22-24]. Si certaines de ces drogues telles que les opioïdes ou la nicotine altèrent la libération de dopamine en modulant l'activité des neurones dopaminergiques, les psychostimulants comme l'amphétamine et la cocaïne agissent directement sur la recapture de la dopamine, au niveau des terminaisons synaptiques [24]. L'étude des psychostimulants sur les comportements dirigés s'est concentrée soit sur leur activité psychomotrice ou leurs propriétés renforçantes. L'étymologie du terme psychostimulant rappelle qu'il s'agit d'une classe de substances qui exercent un effet périphérique (soit une activation de la locomotion) par la stimulation de processus centraux [24].

### **1.1 L'activation psychomotrice et la dopamine**

À l'état naturel, la locomotion permet aux animaux de se déplacer vers les récompenses de l'environnement ou encore d'éviter les événements aversifs. La locomotion constitue un comportement dirigé quasi universel dans le règne animal : du déplacement d'un poisson vers un stimulus olfactif à la course du guépard vers une proie. Dans un environnement naturel, la locomotion est évoquée par des stimuli conditionnés des récompenses naturelles [25]. De ce fait, la locomotion dirigée est de même nature qu'une réponse conditionnée pavlovienne. Pavlov a démontré que le son d'une cloche pouvait induire une réponse de salivation chez un chien [26] qui avait, auparavant, formé une association entre le son de la cloche et la présentation de nourriture. Le son d'une cloche

associé à la nourriture peut tout aussi facilement provoquer la course du chien vers l'endroit où la cloche se fait entendre. Cette locomotion du chien est un cas type de comportement dirigé : la course est une activité motrice facilitée et orientée par un stimulus conditionné (p. ex. le son de la cloche).

Chez l'animal, une réponse de locomotion peut être évoquée directement par l'action pharmacologique des psychostimulants tels que l'amphétamine et la cocaïne, tout comme par d'autres substances psychotroques tels que les opioïdes [24]. Ces substances entraînent une activation de la neurotransmission dopaminergique [27] qui se substitue aux signaux provenant normalement de stimuli environnementaux. En activant la neurotransmission dopaminergique, les psychostimulants produisent donc artificiellement une locomotion équivalente à l'activation psychomotrice caractéristique des comportements dirigés.

La magnitude de la locomotion produite par l'amphétamine se caractérise par une fonction dose-réponse ayant la forme d'un « u » inversé [28, 29]. Augmenter la dose d'amphétamine amplifie initialement la locomotion. À de plus hautes doses d'amphétamine, l'effet de locomotion est masqué par l'apparition de mouvements stéréotypés [30]; des comportements du répertoire normal qui deviennent anormalement répétitifs (renifler, bouger la tête, lécher, grignoter). Ainsi, l'administration intrapéritonéale d'une haute dose d'amphétamine (5 mg/kg) chez le rat produit dans un premier temps un effet d'hyperlocomotion. Puis, à mesure que l'amphétamine est absorbée, les mouvements stéréotypés apparaissent et interfèrent avec l'effet de locomotion [31]. Lors de la catalyse

de l'amphétamine par le métabolisme, la dose disponible dans l'organisme décroît et l'hyperlocomotion redevient apparente, pour ensuite s'atténuer [31].

Plusieurs preuves concourent pour démontrer que les projections dopaminergiques au noyau accumbens sous-tendent l'hyperlocomotion produite par l'amphétamine. En effet, une lésion locale au 6-OHDA (6-hydroxydopamine), éliminant spécifiquement les terminaisons catécholaminergiques situées dans le noyau accumbens, produit une sévère atténuation de la locomotion, tout en préservant la présence de mouvements stéréotypés [32, 33]. À l'opposé, une lésion similaire située dans le noyau caudé produit l'effet inverse : aucun effet sur la locomotion, mais une atténuation des mouvements stéréotypés [32, 33]. De plus, l'injection bilatérale d'halopéridol, un antagoniste des récepteurs dopaminergiques de type 2 (D2), dans le noyau accumbens agit comme antagoniste de la locomotion induite par l'amphétamine [34]. La même injection dans le noyau caudé ne produit pas d'effet similaire. En outre, une injection bilatérale de dopamine ou d'amphétamine dans le noyau accumbens produit une locomotion qui peut durer près de cinq heures [35]. Par ailleurs, l'injection concomitante d'halopéridol au même site abolit ce dernier effet [35, 36]. Si plusieurs de ces études démontrent un rôle central du noyau accumbens dans la locomotion, d'autres aires terminales des neurones dopaminergiques de l'ATV pourraient aussi être impliquées dans la locomotion. Par exemple, une injection de dopamine ou d'amphétamine dans le tubercule olfactif du rat est suffisante pour produire une locomotion d'amplitude comparable à une celle d'une injection du noyau accumbens [35], mais à ce jour, ce site a reçu relativement moins d'attention scientifique.

Lors de l'administration d'un agoniste dopaminergique telle que l'amphétamine, la libération de dopamine en périphérie des corps cellulaires stimule les autorécepteurs (récepteurs dopaminergiques de type 2; D2) des neurones dopaminergiques. En conséquence, l'activité des cellules dopaminergiques est en grande partie réduite, même si la locomotion est stimulée; l'amphétamine stimule la libération de dopamine au niveau des terminaisons nerveuses [37]. Cependant, l'activation psychomotrice produite par la morphine (administrée systémiquement ou localement dans l'ATV) est une preuve supplémentaire que l'activation des cellules dopaminergiques de l'ATV est suffisante pour stimuler la locomotion. [38, 39]. La morphine, en agissant sur les récepteurs opioïdes *mu*, inhibe l'activité des interneurons GABAergiques de l'ATV [40]. Cette inhibition produit une désinhibition de l'activité des neurones dopaminergiques [41] qui s'accompagne d'une libération de dopamine dans le noyau accumbens [42] et d'une augmentation de la locomotion.

Une lésion unilatérale des neurones dopaminergiques mésencéphaliques avec le 6-OHDA suivie de l'administration de L-DOPA ou d'amphétamine produit chez le rat une rotation dans le sens ipsilatéral de la lésion [43, 44]. L'injection unilatérale de morphine dans l'ATV produit un effet similaire [39]. Cette activation asymétrique de la locomotion découle de la potentialisation de la libération de dopamine des voies dopaminergiques du côté intact. Comme mentionnée, l'activation psychomotrice, comme n'importe quel comportement dirigé, n'est pas un réflexe moteur : la locomotion est guidée par la stimulation sensorielle de l'environnement. Ainsi, le rat dont la locomotion est stimulée unilatéralement cherche à maintenir un contact entre la paroi de la cage et le côté du corps



correspondant au côté stimulé par la libération de dopamine. À l'intérieur d'une cage, il se trouve à tourner dans le sens ipsilatéral de la lésion, mais placé à l'extérieur de la cage il effectuera des rotations dans le sens inverse, de sorte que le côté dont l'activation de la voie mésolimbique est la plus forte soit le côté obtenant le plus de stimulations tactiles [45, 46]. La locomotion induite par l'activation de la voie mésolimbique dopaminergique est donc indubitablement un phénomène psychomoteur qui intègre les stimuli de l'environnement.

## 1.2 La récompense et la dopamine

L'étude du phénomène de récompense est centrale à celle des comportements dirigés. Le mot récompense peut d'abord faire allusion aux objets de l'environnement qui ont une valeur positive pour l'animal (récompenses-objets). Par exemple, la nourriture, l'eau, la chaleur ou l'acte sexuel constituent des exemples de récompenses. La récompense peut aussi faire référence spécifiquement au processus neural supérieur produit par la stimulation sensorielle provenant des récompenses-objets. Chez l'humain, l'hédonie produite par un stimulus avec une valeur positive se présente comme la perception intéroceptive accompagnant le processus de récompense. Bref, le terme récompense peut faire allusion à un objet externe, mais aussi au processus interne engendré chez le sujet qui lui est exposé. Le processus de récompense peut être décomposé dans certains paradigmes expérimentaux en deux composantes observables : un effet énergisant (*priming*) et un effet de renforcement positif. L'effet du *priming* est comparé par Wise [47] à l'envie de manger des cacahuètes salées tout juste après en avoir déjà mangées. Chez l'animal, une

récompense administrée par l'expérimentateur potentialisera la réponse d'un animal pour obtenir une récompense supplémentaire [48]. Le *priming* constitue l'effet «énergisant» de la réponse opérante survenant entre l'obtention de chaque récompense; le *priming* demeure donc de courte-durée et soutient la continuité d'une séquence de réponses. À l'opposé, le renforcement est l'effet à long terme produit par une récompense, consolidant l'association entre un stimulus et la réponse qui l'a précédé. Par exemple, un rat affamé appuie sur un levier (réponse instrumentale); il obtient un morceau de nourriture (récompense-objet). Le renforcement est le processus par lequel le rat apprend qu'en appuyant le levier il peut obtenir d'autres morceaux de nourriture. Bref, le renforcement est le mécanisme qui mène à l'acquisition des comportements dirigés en augmentant la probabilité de leur exécution [49]. Dans une perspective où l'on considère les troubles de la dépendance comme des comportements dirigés pathologiques, leur acquisition se produit donc par un renforcement survenant lors de l'interaction entre substance psychotrope, les stimuli de l'environnement et les réponses du sujet.

Selon la théorie psychomotrice de l'addiction formulée par Wise et Bozarth en 1987, l'activation psychomotrice des substances psychotropes et leur effet renforçant sont sous-tendus par un seul et même substrat biologique : la voie mésolimbique dopaminergique [24]. Ces comportements seraient donc biologiquement homologues, ce qui réconcilie l'école de pensée du conditionnement classique pavlovien avec celle du conditionnement opérant de Skinner. Le conditionnement pavlovien met en évidence le fait qu'une réponse devient conditionnée lorsqu'elle est déclenchée par un stimulus conditionnel associé à une récompense. Selon Wise et Bozarth [24], l'activation

psychomotrice est la réponse *inconditionnelle* des récompenses de l'environnement. En clair, une récompense se caractérise par l'activation de la voie mésolimbique dopaminergique ce qui produit inconditionnellement une activation psychomotrice. Le processus de renforcement qui consolidera un comportement opérant dépendra de la même activation de la voie mésolimbique. Ainsi, selon cette théorie, les propriétés renforçantes d'une drogue peuvent être prédites par leur habileté à produire un effet psychomoteur puisque les deux processus sont sous-tendus par la voie mésolimbique dopaminergique.

### ***1.2.1 Le rôle de la dopamine dans le conditionnement opérant***

Dans l'étude de la récompense et des comportements dirigés, l'un des paradigmes les plus proches du comportement de dépendance aux substances psychotropes chez l'humain est l'autoadministration intraveineuse. Dans ce paradigme, une certaine réponse du rat – telle qu'appuyer sur un levier – produit une injection intraveineuse d'une drogue. La modulation du système dopaminergique influence directement le taux de réponses des animaux. En effet, de faibles doses d'antagonistes dopaminergiques produisent une augmentation des taux de réponses, ce qui mène à une augmentation des doses de drogues autoadministrées par le rat [50]. Cette augmentation du taux de réponses peut être interprétée comme une compensation de la réduction de l'effet de récompense produite par un antagoniste [51]. En contrepartie, les plus hautes doses d'antagoniste dopaminergique produisent une extinction totale du comportement d'autoadministration; ce qui pourrait être expliqué tant par une annulation de l'effet de récompense que par un écrasement des

fonctions motrices [51]. Dans les essais de ratio progressif, le rat doit appuyer un nombre de fois croissant pour s'autoadministrer une simple dose de drogue. Le point de brisure (*breaking point*), soit le taux de réponses maximal que le rat est prêt à fournir pour une seule dose, est atteint beaucoup plus tôt chez des animaux traités avec un antagoniste dopaminergique tel que le raclopride [52]. En d'autres mots, un rat traité avec l'antagoniste arrête de répondre pour la drogue plus tôt qu'un rat non traité. Dans l'expérience de Fletcher et coll., les rats étaient entraînés à appuyer en moyenne 100 fois pour une dose d'amphétamine, mais les rats traités avec un antagoniste dopaminergique n'étaient prêts qu'à appuyer sur le levier en moyenne jusqu'à 20 fois. Ainsi, l'ensemble de ces expériences d'autoadministration suggère, tout comme les études de locomotion, que les voies dopaminergiques centrales sont essentielles au processus de récompense.

Le renforcement induit par les psychostimulants semble particulièrement lié aux projections mésolimbiques dopaminergiques aboutissant dans le noyau accumbens. Ainsi, les animaux sont prêts à travailler pour une injection d'amphétamine directement au niveau de leur noyau accumbens [53]. Parallèlement, l'antagonisme des récepteurs dopaminergiques dans le noyau accumbens est suffisant pour réduire la récompense produite par l'autoadministration de psychostimulants [54]. Une destruction sélective des neurones dopaminergiques de l'ATV ou de leurs terminaisons produit un effet similaire [55-57]. Par ailleurs, la dopamine libérée dans d'autres aires terminales que le noyau accumbens pourrait aussi entrer en jeu dans l'effet de récompense, car l'autoadministration de cocaïne a été observée au niveau du cortex préfrontal et cet effet s'atténue aussi par l'administration concomitante d'un antagoniste des récepteurs dopaminergiques [58].

Les antagonistes dopaminergiques influencent négativement la récompense produite par des stimuli naturels. Ainsi, la présence d'un antagoniste dopaminergique atténue, voire rend impossible aux plus hautes doses, la capacité des animaux à apprendre à appuyer sur un levier pour de la nourriture ou de l'eau [59, 60]. Lorsque les rats ont accès à un levier sur lequel ils ont appris à appuyer pour obtenir une récompense (p. ex. morceau de nourriture ou volume d'eau), un traitement simultané au pimozide (un antagoniste dopaminergique) produit un effet similaire à la simple absence de la récompense : une extinction de leur réponse instrumentale [61]. Au premier jour du test, les taux de réponses des rats ne sont pas différents des tests précédents, où les rats recevaient leurs récompenses sans pimozide. Puis, les taux de réponses diminuent de jour en jour, chaque fois que le rat est nouvellement testé suite à l'administration du pimozide. Cet effet ne peut être attribué à l'accumulation de pimozide dans l'organisme puisqu'un groupe de rats recevait trois traitements au pimozide sur trois jours avant d'être testé avec le pimozide : leurs taux de réponses étaient identiques à ceux des rats testés pour la première fois avec le pimozide [61]. Il apparaît donc que la présence d'un antagoniste dopaminergique produit un renforcement dévalué qui demeure en mémoire, réduisant les taux de réponses aux jours des tests subséquents. L'effet des antagonistes dopaminergiques sur les taux de réponses ne s'explique pas par un effet moteur des antagonistes dopaminergiques; ces agents préservent suffisamment les fonctions motrices pour permettre l'exécution des comportements opérants. Ainsi, le comportement instrumental des rats ayant cessé de répondre pour une stimulation électrique suite à l'administration de pimozide peut être rétabli transitoirement par la présentation d'un stimulus conditionné (lumière associée à la réception de la

stimulation électrique renforçante suite à l'appui sur le levier) [62]. En somme, l'augmentation de la neurotransmission dopaminergique se traduit par une potentialisation de la récompense et, inversement, son inhibition par une atténuation de la récompense ; suggérant que l'action post-synaptique de la dopamine est non seulement un facteur de modulation mais aussi un facteur nécessaire dans le renforcement des comportements instrumentaux.

### ***1.2.2 Le rôle de la dopamine dans le conditionnement pavlovien***

Certains modèles animaux se basent sur le conditionnement pavlovien (classique) pour étudier la récompense. Un paradigme nommé la préférence de place conditionnée utilise comme mesure la préférence d'un animal pour la portion d'un environnement qui a été associé à l'effet d'une substance psychotrope. Dans ces études, l'animal reçoit une injection de drogue dans un premier environnement et une injection de solution saline dans un second de façon à lui permettre d'établir une association entre l'effet intéroceptif de la drogue et les spécificités sensorielles de l'environnement avec lesquelles il en a fait l'expérience. Cette procédure est répétée un certain nombre de fois. Au jour du test, l'animal a un libre accès aux deux environnements sans aucune administration de drogue [63]. Le rat développe le plus souvent une préférence pour l'environnement où il a reçu la drogue possédant des propriétés renforçantes positives. Si une substance possède des propriétés aversives, la préférence se développera pour le compartiment associé à une injection de solution saline. Les expériences de préférence de place conditionnée mettent en

évidence que les stimuli neutres de l'environnement peuvent acquérir des propriétés secondaires « motivationnelles » par le biais d'un conditionnement classique pavlovien.

Les observations faites dans des paradigmes pavloviens de préférence de place conditionnée corroborent celles réalisées dans les études de conditionnement instrumental tel que l'autoadministration : la préférence de place conditionnée dépend également de l'activation de la voie mésolimbique dopaminergique. Ainsi, le développement de la préférence de place conditionnée pour l'environnement associé à l'amphétamine est bloqué par un traitement avec un antagonistes des récepteurs D2 (halopéridol) lors des séances de conditionnement [64]. De plus, l'administration d'amphétamine directement dans le noyau accumbens, mais non dans le noyau caudé peut produire une préférence de place [65]. En outre, l'activation spécifique des cellules dopaminergiques par des méthodes optogéniques démontre que l'activation de la voie mésolimbique dopaminergique est suffisante pour produire un tel conditionnement [66].

Les associations pavloviennes établies lors d'un conditionnement opérant semblent aussi dépendre de la voie mésolimbique dopaminergique. L'amphétamine peut ainsi moduler le comportement d'un animal devant un stimulus associé à la réception d'une récompense contingente à une réponse opérante. Dans l'expérience de Taylor et Robbins (1984), des rats assoiffés ont appris à appuyer sur un levier afin d'obtenir de l'eau dont l'administration était associée à une lumière. Dans la seconde partie de l'expérience, l'administration d'eau était cessée; l'appui sur le levier ne résultait qu'en la production de la lumière. À cette étape, l'administration d'amphétamine dans le noyau accumbens, mais non dans le noyau caudé, a potentialisé la réponse instrumentale des rats pour le stimulus

conditionnel associé à l'administration de l'eau (c'est-à-dire pour la lumière) [67]. En somme, les données des modèles comportementaux, tant de conditionnements pavloviens que de conditionnements opérants, indiquent que l'effet de récompense répond à la modulation pharmacologique de la voie dopaminergique mésolimbique, particulièrement celle terminant au noyau accumbens.

### ***1.2.3 Le rôle de la dopamine dans l'autostimulation intracérébrale***

La récompense peut être obtenue par une injection de substance psychotrope, par une récompense naturelle, mais aussi en stimulant directement le système nerveux central à l'aide d'un courant électrique. Cette découverte remonte à 1953, alors qu'Olds et Milner étudiaient l'effet de la stimulation électrique intracérébrale au moyen d'une électrode implantée de façon chronique. Ils observèrent que les rats revenaient constamment à la section d'une cage où les stimulations électriques du septum étaient administrées [68]. Ces chercheurs réalisèrent ainsi que la stimulation électrique de certains substrats cérébraux pouvait agir comme récompense. L'autostimulation intracérébrale (ASIC) désigne le paradigme où un rat apprend à travailler pour s'administrer un courant électrique transmis via une électrode implantée dans son encéphale. La stimulation électrique, bien plus qu'une simple alternative aux récompenses-objets, constitue une façon de court-circuiter l'ensemble des facteurs existant entre un stimulus (p. ex. nourriture, drogue) et le point neural terminal de la récompense, en activant un substrat neurobiologique directement par la pointe d'une électrode. Par le fait même, le déclenchement du processus neurobiologique de récompense ne dépend plus des sens (vue, goût, olfaction, ouïe, toucher). Ainsi, l'ASIC



constitue un processus exempt des interférences produit par les phénomènes de satiété, de faim ou de soif [69, 70].

La stimulation du faisceau médian télencéphalique (FMT) au niveau de l'hypothalamus latéral ou de l'aire tegmentale ventrale (ATV) permet de produire un comportement d'ASIC reproductible, facile d'accès et avec un minimum d'interférences visibles [71]. L'étude de cartographie de Corbett et Wise (1980) démontre que les sites les plus efficaces pour supporter l'autostimulation sont anatomiquement rapprochés de la voie mésolimbique dopaminergique au niveau du diencéphale et des corps cellulaires dopaminergiques de l'ATV [72]. En outre, des sites supportant l'ASIC s'étendent au niveau du mésencéphale postérieur et du pont, principalement au niveau de la ligne médiane [73, 74], certains se trouvant jusqu'au noyau solitaire du tronc cérébral [75]. Les territoires télencéphalique dont l'implantation d'une électrode permettent l'ASIC incluent le bulbe olfactif [76], ainsi que des structures sous-corticales et corticales [77]. Bien que le site anatomique de l'électrode soit facilement identifiable, l'ASIC ne permet pas de définir précisément l'origine des neurones impliqués dans la récompense, ni d'activer isolément les neurones impliqués dans un comportement particulier [78].

Tout comme pour la récompense induite par des agents pharmacologiques, la neurotransmission de la voie mésolimbique dopaminergique sert à l'effet de récompense produit par la stimulation intracérébrale. Ainsi, l'administration d'un antagoniste dopaminergique diminue l'efficacité des récompenses produites par les stimulations électriques [79]. À l'opposé, un traitement avec un agoniste dopaminergique tel que l'amphétamine potentialise l'effet de récompense induit par les stimulations [80]. Ici aussi,

la neurotransmission au sein du noyau accumbens semble particulièrement importante puisque l'injection unilatérale de microvolume d'amphétamine dans le noyau accumbens suffit pour potentialiser la récompense induite par l'ASIC [81]. Par ailleurs, tout comme l'injection d'amphétamine dans le noyau caudé n'altérerait pas les mesures de locomotion, ce type d'injection ne modifie pas la valeur de la récompense mesurée lors de l'ASIC [81]. Conformément, l'injection locale dans le noyau accumbens d'un antagoniste dopaminergique ( $\alpha$ -flupenthixol) provoque une augmentation des seuils de récompense des stimulations [82]. De la même façon que les antagonistes dopaminergiques altéreraient le renforcement des récompenses naturelles, l'extinction d'une réponse d'ASIC produite par un antagoniste dopaminergique n'est pas instantanée; le rat doit faire l'expérience de la récompense dévaluée pour désapprendre son comportement opérant [83]. Ainsi, la neurotransmission dopaminergique, particulièrement au niveau du noyau accumbens, est nécessaire à l'effet de renforcement de la stimulation intracérébrale.

Bien qu'elle joue un rôle prédominant, la neurotransmission dopaminergique n'est recrutée qu'indirectement par les stimulations intracérébrales. On appelle cellules de « première étape », les neurones dont la stimulation par l'électrode constitue le point de départ du processus neuronal sous-tendant la récompense. Par une approche psychophysique, on estime que ces neurones activées par une stimulation du faisceau télencéphalique médian possèdent une période réfractaire qui se situe entre 0.5 et 1.2 msec [84] et une vitesse de conduction entre 1 et 8 m/s [78]. Ces caractéristiques suggèrent que les fibres axonales des neurones de « première étape » sont myélinisées et d'un diamètre probable de 0,3 à 1,5  $\mu\text{m}$ . Ces caractéristiques excluent donc les neurones

catécholaminergiques qui sont non myélinisés, possèdent des périodes réfractaires supérieures à 1,5 ms et conduisent leurs potentiels d'action à des vitesses inférieures à 1 m/s [85]. Cependant, les cellules dopaminergiques de l'ATV peuvent être activées trans-synaptiquement par les stimulations produisant l'ASIC. Les preuves d'une stimulation trans-synaptique sont fournies par l'observation que les neurones dopaminergiques de l'ATV peuvent intégrer la magnitude du signal de récompense produit par la stimulation électrique intracérébrale, du moins de celui provenant de la stimulation du mésencéphale postérieur [86]. Ainsi, l'activation des cellules dopaminergiques de l'ATV est proportionnelle à la magnitude de la récompense produite par la stimulation électrique et non à la force des paramètres de stimulation (fréquence, intensité) [86]. En résumé, l'ASIC constitue un important modèle de comportement dirigé qui concorde avec les expériences d'autoadministration de drogue, de préférence de place conditionnée et de locomotion pour mettre en évidence l'implication de la neurotransmission dopaminergique mésolimbique dans la genèse et le maintien des comportements dirigés.

## **2. Relation entre l'habenula et la dopamine**

Les organismes doivent tenir compte de la nature des stimuli extéroceptifs (perception du monde externe) ainsi que des stimuli intéroceptifs (faim, soif, envie sexuelle) afin de guider leurs comportements dirigés. Autrement, leur comportement serait aléatoire et incompatible à la survie dans un environnement sans cesse changeant. Par conséquent, les substrats cérébraux responsables de la perception et de l'analyse de

l'information sensorielle doivent nécessairement réguler l'activité des systèmes sous-tendant l'acquisition et l'expression des comportements dirigés. Il a été établi que la voie mésolimbique dopaminergique joue un rôle de premier plan dans la manifestation des comportements dirigés. Conséquemment, une attention particulière devrait être accordée aux afférences de l'ATV, la région cérébrale contenant les corps cellulaires de la voie mésolimbique dopaminergique. Conséquemment, les afférences de l'ATV jouent probablement un rôle régulateur crucial dans le contrôle et l'adaptation des comportements dirigés. L'ATV reçoit plusieurs afférences, tant télencéphaliques, diencéphaliques que méso- et rhombocéphaliques [87]. L'étude anatomique de Geisler et Zahm (2005) démontre que les afférences à l'ATV s'étendent du cortex préfrontal jusqu'au bulbe rachidien, produisant un ensemble quasi continu [88]. Les sources des afférences de l'ATV, confirmées par traçage antérograde, comprennent le cortex préfrontal, le noyau accumbens, le pallidum ventral, l'aire préoptique latérale, le septum latéral, la bande diagonale de Broca, l'hypothalamus latéral et l'habenula latérale (HbL) [88]. Un grand nombre de ces afférences sont glutamatergiques. L'immunohistochimie des terminaisons glutamatergiques dans l'ATV révèle que les terminaisons sous-corticales (caractérisées par vGLUT2 ; le transporteur vésiculaire du glutamate de type 2) sont 4.5 fois plus nombreuses que les terminaisons provenant de structures corticales (caractérisés par vGLUT1 ; le transporteur vésiculaire du glutamate de type 1) [89]. L'HbL comprend 7% des neurones exprimant vGLUT2 qui se rendent à l'ATV [90].

De récentes études démontrent que la projection provenant de l'HbL est étroitement liée à la régulation des cellules dopaminergiques de l'ATV, tant au plan physiologique que

comportemental [91]. Étant donné que l'HbL se situe en amont de la voie mésolimbique dopaminergique, l'étude du rôle de cette structure pourrait nous permettre d'approfondir notre compréhension du substrat neurobiologique des comportements dirigés.

## **2.1 Anatomie de l'habenula**

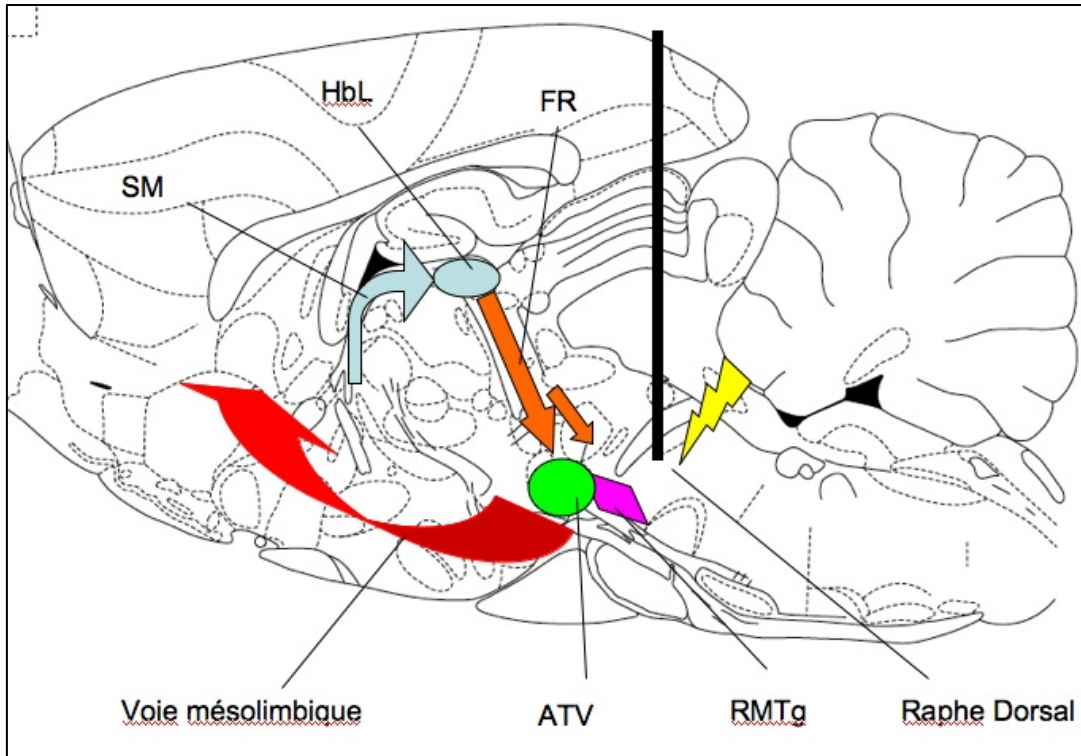
Chez le rat, l'habenula se situe au-dessus de la portion postérieure du thalamus. Elle forme avec la glande pinéale l'épithalamus. L'habenula se subdivise en deux noyaux distincts, l'habenula médiane (HbM) et l'habenula latérale (HbL). Le complexe habenulaire se situe au centre de la voie dorsale diencéphalique qui inclut deux faisceaux de matière blanche qui relient la base du télencéphale au mésencéphale: la stria medullaris et le fasciculus retroflexus [92]; ces deux faisceaux contiennent l'ensemble des afférences et des efférences de l'habenula. La stria medullaris est un faisceau d'axones orienté dans l'axe rostro-caudal longeant la face médiane du thalamus. La stria medullaris prend son origine dans la portion antérieure du faisceau télencéphalique médian et termine sa course dans l'habenula. Cependant, plusieurs fibres n'établissent aucun contact synaptique dans l'habenula [93]. La majeure partie de ces fibres de passage suivent leur cours par la commissure habenulaire ou le fasciculus retroflexus. Certaines de ces fibres proviendraient du noyau septo-fimbrial et de la région préoptico-hypothalamique latérale [7, 94] et termineraient dans le tegmentum et le tectum mésencéphalique [94-96]. Le fasciculus retroflexus relie l'habenula et le mésencéphale ventral. Ce faisceau contient la presque totalité des fibres efférentes descendantes de l'habenula et aussi quelques fibres afférentes ascendantes à l'habenula. Les fibres de cette voie conservent un ordre dans leur

arrangement, avec les fibres de l'HbM occupant la portion interne du fasciculus retroflexus et les fibres de l'HbL la portion externe [7].

Les neurones de l'habenula sont de nature hétérogène. Une étude utilisant une coloration de Golgi révèle les différentes morphologies adoptées par ces neurones. Iwahori (1977) divise les neurones de l'HbM en deux groupes : des neurones piriformes épineux et des neurones fusiformes [93]. Tous les neurones de l'HbM projettent à l'extérieur du noyau, alors que seuls les neurones fusiformes possèdent des axones collatéraux. L'étude morphologique de l'HbL démontre la présence de neurones de projection, classés en trois groupes selon leur taille, ainsi que la présence d'interneurones dont l'axone, beaucoup plus court, termine au sein de l'HbL [93]. Une analyse des propriétés cytochimiques et cytoarchitecturales révèle une plus grande complexité dans la constitution de l'habenula. Cinq (5) sous-noyaux dans l'HbM et dix (10) sous-noyaux dans l'HbL ont été identifiés sur la base d'analyses de l'ultrastructure du neuropile [97] et de critères immunocytochimiques [98]. Les neurones qui résident dans l'HbM et l'HbL diffèrent quant aux phénotypes de leurs neurotransmetteurs. L'HbM contient un agrégat très dense de neurones cholinergiques dans ses deux tiers inférieurs [99] et de neurones produisant la substance P dans son tiers supérieur [93, 100]. Des neurones glutamatergiques, détectés par l'hybridation *in situ* de vGLUT1, sont aussi présents dans l'ensemble l'HbM. Quant à l'HbL, l'hybridation *in situ* de vGLUT2 démontre que la majorité des neurones qui s'y trouvent sont glutamatergiques. Seul un petit nombre de neurones GABAergiques, détectés par la présence d'ARNm de la décarboxylase de l'acide glutamique 67 (GAD 67), sont présents dans le sous-noyau oval de l'HbL [101].

La présence d'interneurones intrahabenulaires ainsi que de projections entre les deux habenulae droite et gauche témoignent de l'existence d'un circuit intrinsèque pouvant moduler l'information relayée par la voie dorsale diencephalique. Des projections de l'HbM vers l'HbL ont été identifiées, mais non l'inverse [102]. Les axones des neurones de l'HbM forment des boutons en passant au sein même de l'HbM et de l'HbL. Ces projections pourraient être la source du contenu en substance P de l'HbL, puisqu'un sectionnement entre l'HbM et l'HbL supprime la présence de substance P dans l'HbL [100]. Les projections intrinsèques des neurones résidents de l'HbL tendent le plus souvent à projeter vers les régions plus latérales de l'habenula [102]. Un faisceau nommé la commissure habenulaire relie les deux habenulae au niveau de leur portion médiane et postérieure. Des analyses de traçage antérograde et rétrograde montrent que, contrairement à l'HbM, les projections de l'HbL empruntent abondamment cette commissure pour projeter à l'HbL contralatérale [103]. Ces projections entre HbL maintiennent d'ailleurs une topographie médiolatérale, où les neurones latéraux projettent à l'aspect latéral de l'HbL et les neurones médiaux à l'aspect médian de l'HbL contralatérale.

**FIGURE 1 : Relation anatomique entre l'ATV et l'HbL**



**Légende:** Cette figure représente une coupe sagittale de l'encéphale de rats (0,9 mm latéral de ligne médiane) [104]. De façon schématisée, les structures de la voie dorsale diencephalique y sont illustrées : la stria medullaris (SM; voie afférente principale de l'HbL), l'HbL (situé postéro-dorsalement au thalamus) et le fasciculus retroflexus (FR; voie de projection principale de l'HbL). La voie mésolimbique dopaminergique (en rouge) prend son origine dans l'aire tegmentale ventrale (ATV). La région rostromédiane tegmentale du pont (RMTg) se situe en continuité avec l'ATV postérieure. Le trait vertical noir représente le site approximatif de l'électrode monopolaire implantée dans l'expérience d'ASIC (coordonnées : 7,2 mm AP; 8,0 mm VD; 0,0 mm ML). La pointe de l'éclair indique le site stimulé par l'électrode dans la présente expérience, soit le raphé dorsal du mésencéphale postérieur.



### ***2.1.1 Afférences de l'habenula***

L'HbM reçoit ses principales afférences du septum et de la bande diagonale de Broca [105, 106]. Une afférence provenant du raphé médian, passant par le fasciculus retroflexus, fournit probablement le contenu en sérotonine de l'HbM [107]. Des projections provenant de l'aire périaqueductale grise et du noyau tegmental dorsal, en partie noradrénergiques, empruntent le faisceau médian télencéphalique pour rejoindre la stria medullaris et terminer dans l'HbM [108]. De plus, une innervation noradrénergique périphérique provenant du ganglion cervical supérieur rejoindrait aussi l'HbM. Finalement, l'HbM recevrait aussi une projection dopaminergique provenant de l'ATV [109].

Les afférences se rendant à l'HbL empruntent principalement la stria medullaris, mais aussi le fasciculus retroflexus et la commissure habenulaire. La majeure partie des afférences de la stria medullaris destinée à l'HbL se trouve dans la portion latérale de ce faisceau. L'HbL est souvent conçue comme un centre intégrateur étant donné que des afférences des ganglions de la base et du système limbique y convergent [6]. Chez le rat, la principale projection des ganglions de la base à l'HbL provient du noyau entopédonculaire, l'équivalent du globus pallidus interne du primate [6, 110-114]. Les terminaisons des projections du noyau entopédonculaire innervent principalement la région latérale de l'HbL, autrefois appelée division motrice de l'HbL, étant donné le rôle important du noyau entopédonculaire dans le contrôle des mouvements. Les projections du noyau entopédonculaire sont en grande partie GABAergiques, puisque des lésions de cette voie diminuent substantiellement le contenu en GAD 67 dans l'HbL [115, 116]. Cette projection inclurait aussi des fibres cholinergiques puisque certains neurones du noyau

entopédonculaire projetant au thalamus et à l'HbL démontrent une immunohistochimie positive pour l'acétylcholine transférase [117, 118]. Par ailleurs, l'HbL reçoit une afférence du pallidum ventral, la division infracommissurale du globus pallidus externe [119]. Zahm et collègues [120] ont noté que l'innervation de l'habenula impliquait principalement la division medioventrale du pallidum ventral. Cette division reçoit surtout des projections du *shell* du noyau accumbens [120]. En outre, le noyau accumbens lui-même projetterait aussi directement à l'HbL [121, 122]. Plusieurs régions appartenant au système limbique projettent à l'HbL : la bande diagonale de Broca, le septum latéral, l'amygdale centrale, le noyau de la stria terminalis, l'aire préoptique latérale et l'hypothalamus latéral [6, 123, 124]. Une étude de double marquage montre qu'une partie des projections de l'hypothalamus latéral et de l'aire préoptique latérale sont GABAergiques, et pourraient donc avoir un effet inhibiteur sur l'habenula [125]. Les projections de l'hypothalamus latéral ciblent principalement la partie médiane de l'HbL, considérée pour cette raison comme la subdivision limbique de l'HbL [6]. Des projections provenant du cortex frontal médian ont aussi été décrites chez le rat [126].

L'HbL reçoit aussi des afférences provenant des régions postérieures de l'encéphale. Ainsi, des projections en provenance des noyaux du raphé dorsal et médian, du noyau tegmental latérodorsal et de l'ATV emprunte le fasciculus retroflexus pour se rendre à l'HbL [6]. L'innervation provenant de l'ATV est en partie dopaminergique. Une étude de retraçage indique que la projection dopaminergique provient particulièrement du noyau interfasciculaire et, dans une moindre mesure, des noyaux périnigraux de la partie rostrale de l'ATV [127]. Les terminaisons dopaminergiques sont localisées principalement dans la

division médiane de l'HbL au niveau de ses deux tiers postérieurs [128]. Ainsi, destruction des corps cellulaires dopaminergiques dans l'ATV produit une déplétion d'environ 80% de la dopamine dans la division médiane de l'HbL [109].

### ***2.1.2 Efférences de l'habenula***

Les neurones de l'HbM innervent presque uniquement le noyau interpedonculaire, situé au centre de la partie ventrale du tegmentum mésencéphalique [100, 129]. L'analyse anatomique de ces fibres démontre que les parties dorsales et médianes de l'HbM projettent à des sous-noyaux distincts du noyau interpedonculaire, respectivement à la partie centrale et aux régions périphériques [103]. Des études lésionnelles de l'habenula ou de sectionnement du fasciculus retroflexus combinées à des analyses histochimiques montrent que cette projection de l'HbM au noyau interpedonculaire utiliserait la substance P et l'acétylcholine [100, 129, 130].

Les fibres efférentes de l'HbL empruntent aussi le fasciculus retroflexus et se divisent en sous-branches à la hauteur de l'ATV, [7]. L'une de ces sous-branches monte en direction rostrale avec le faisceau télencéphalique médian et innerve l'aire préoptique latérale, l'hypothalamus (noyaux latéraux, dorsomédiaux et postérieurs), le septum ventral et plusieurs noyaux du thalamus (noyaux dorso-médian, central et ventro-médian) [7]. La branche la plus dense innerve les noyaux sérotoninergiques du raphé, principalement le raphé médian, ainsi que les régions adjacentes de la substance grise centrale [7, 131-135]. Un contingent de fibres de projections projette à la formation réticulaire mésencéphalique située latéralement aux noyaux du raphé et se poursuit dans la partie dorsale du tegmentum

ponto-mésencéphalique [7]. Enfin, l'HbL possède des efférences aux noyaux mésencéphaliques dopaminergiques de l'ATV et de la substance noire pars compacta. Les noyaux monoaminergiques du tronc cérébral, tout comme plusieurs autres efférences habénulaires, fournissent une innervation réciproque à l'HbL [92]. Par ailleurs, les projections de l'HbL sont bilatérales, leur site de décussation principal se trouvant, non pas dans la commissure habénulaire, mais dans l'ATV [7].

Au niveau de l'ATV, les terminaisons de l'HbL ciblent autant les cellules dopaminergiques que les cellules GABAergiques [136]. L'utilisation d'un traceur antérograde injecté dans l'HbL a permis de retracer le type de neurones de l'ATV recevant ces projections : 48% étaient des cellules dopaminergiques (marquées à la tyrosine hydroxylase) et 52% étaient des cellules marquées au GABA. La majorité des projections habénulaires sont excitatrices puisque la présence de transporteur vGLUT2 a été révélée dans la majorité (~85%) de ces terminaisons [136]. En outre, un nombre important de ces fibres aboutissent dans une région située caudalement à l'ATV et dorsolatéralement au noyau interpédonculaire nommé la région rostromédiane tegmentale du pont (RMTg) [137,138]. Cette région se démarque par son immunoréactivité du marqueur *Fos* suivant l'administration d'un psychostimulant [139]. Le RMTg contient une forte concentration de neurones GABAergiques [140] qui établissent un grand nombre de contacts synaptiques avec les cellules dopaminergiques l'ATV [141]. *A priori*, ces projections inhibitrices à l'ATV doivent jouer un rôle physiologique important dans l'interaction fonctionnelle entre l'habenula et la voie mésolimbique dopaminergique.

## **2.2 Interactions fonctionnelles entre l'HbL et la voie mésolimbique dopaminergique**

Plusieurs évidences démontrent que les projections de l'HbL vers l'ATV et le RMTg régulent négativement les neurones dopaminergiques. Inversement, certaines observations suggèrent que l'activité neurale de l'HbL est influencée par l'activité de la voie dopaminergique mésolimbique. Les interactions fonctionnelles entre ces structures régulent potentiellement la manifestation des comportements dirigés.

### ***2.2.1 Régulation de la neurotransmission dopaminergique par l'HbL***

La stimulation électrique de l'habenula produit une inhibition d'environ 90% des neurones dopaminergiques enregistrés au niveau de l'ATV [11, 12]. De ce nombre, un tiers est simplement inhibé par la stimulation de l'HbL alors que les deux autres tiers démontrent une réponse biphasique, avec une inhibition initiale suivie d'une excitation subséquente. Dans les deux types de réponse, la durée de l'inhibition est sensiblement la même, soit d'environ 80 msec. Une lésion électrolytique du fasciculus retroflexus ou une lésion des corps cellulaires de l'HbL annulent l'effet d'une stimulation de l'HbL; l'inhibition des cellules de l'ATV est donc orthodromique et prend origine dans l'HbL [11, 12]. Chez le primate, des enregistrements électrophysiologiques démontrent que l'activation des neurones de l'HbL précède très étroitement la dépression de l'activité des neurones dopaminergiques et qu'une inhibition des neurones de l'HbL accompagne l'activation des neurones dopaminergiques [13].

Les projections habenulaires glutamatergiques à l'ATV ne peuvent expliquer seules l'inhibition des cellules dopaminergiques produite par la stimulation de l'HbL. En fait, dans une préparation *in vitro* isolant l'habenula, l'ATV et le fasciculus retroflexus, la stimulation

de l'habenula déclenche une réaction d'excitation dans 80% des cellules de l'ATV, tant dans les neurones dopaminergiques que non dopaminergiques [142]. Dans cette préparation, les potentiels post-synaptiques d'excitation provoqués dans l'ATV par la stimulation de l'HbL impliquent une libération de glutamate, puisqu'ils peuvent être bloqués par l'acide kynurénique, un inhibiteur des récepteurs glutamatergiques [142]. Or, l'inhibition des neurones dopaminergiques de l'ATV observée *in vivo* dépend du neurotransmetteur GABA, puisque l'administration de bicuculline, un inhibiteur des récepteurs GABA<sub>A</sub>, permet d'atténuer l'inhibition des neurones dopaminergiques produite par d'une stimulation électrique de l'HbL [11, 12]. La source de l'inhibition GABAergique, mobilisée par l'HbL, proviendrait donc en partie des cellules GABAergiques situées dans l'ATV [10], mais aussi en grande partie des neurones GABAergiques situées dans le RMTg [141]. En somme, il est probable que les neurones inhibiteurs du RMTg, qui reçoivent une dense innervation de l'HbL, servent de relai aux efférences habenulaires vers les neurones dopaminergiques de l'ATV [137, 141].

Plusieurs observations neurobiochimiques corroborent le fait que l'HbL agirait tel un « frein » sur les fonctions dopaminergiques : appuyer sur le frein inhiberait l'activité d'une grande proportion des cellules dopaminergiques de la voie mésolimbique et lever le frein désinhiberait leur activité en facilitant leur stimulation. Certains résultats démontrent que les niveaux de dopamine des aires terminales de la voie mésolimbique varient en fonction de l'activité habenulaire. Ainsi, une lésion de l'HbL produit une augmentation du rapport DOPAC/DA mesuré *ex vivo*, suggérant une augmentation de la libération de dopamine dans le cortex préfrontal [143]. De plus, une infusion bilatérale de tétrodoxtine,

un inhibiteur des canaux sodiques, dans le fasciculus retroflexus ou dans la stria medullaris modifie les mesures *ex vivo* de la dopamine et de ses métabolites, indiquant de la même façon une hausse de la libération de dopamine dans le cortex préfrontal médian, le noyau accumbens, le bulbe olfactif et le striatum [144, 145]. Lecourtier et coll. (2008) ont constaté que la stimulation électrique de l'HbL produit une légère diminution de la libération de dopamine dans le noyau accumbens, sans influencer les niveaux de dopamine du striatum dorsal et du cortex préfrontal de manière décelable. En contrepartie, l'inhibition de l'HbL par l'injection locale d'un antagoniste des récepteurs AMPA (LY293558) accroît significativement la libération de la dopamine extracellulaire recueillie par microdialyse dans le noyau accumbens, le striatum dorsal ainsi que le cortex préfrontal [146], suggérant la présence d'un tonus inhibiteur des cellules dopaminergiques aux conditions basales.

### ***2.2.2 Influence de la neurotransmission dopaminergique sur l'activité neurale de l'HbL***

En accord avec les résultats décrits précédemment, il est plausible que l'activité de l'HbL soit impliquée dans la réponse de l'organisme aux modulations de l'activité dopaminergique, via une boucle de rétroaction. Le rôle de l'HbL pourrait être de réguler négativement le tonus excitateur des neurones dopaminergiques de l'ATV, en fonction du niveau de la neurotransmission dopaminergique. Ainsi, l'analyse de l'activité métabolique de l'HbL révèle que les manipulations pharmacologiques des récepteurs dopaminergiques influencent l'activité des neurones habenulaires. Certaines de ces études mesurent l'activité métabolique des neurones par l'accumulation du 2-deoxyglucose radioactif (2-DG marqué au carbone 14; [<sup>14</sup>C]-2-DG) et utilisent cette mesure comme index de l'activité neuronale,

principalement aux synapses [147-149]. L'administration systémique d'un agoniste des récepteurs dopaminergiques comme l'apomorphine provoque une diminution de l'activité métabolique dans l'HbL [150-153]. L'administration d'amphétamine ou de cocaïne, des agonistes indirects des récepteurs dopaminergiques, provoque également une diminution des concentrations de 2-DG dans l'HbL [154-157]. À l'inverse, l'administration d'antagonistes dopaminergiques produit une nette augmentation de l'activité métabolique dans l'HbL, tant pour les antagonistes des récepteurs D1 (p.ex. SCH 23390) que pour les antagonistes des récepteurs D2 (p. ex. halopéridol) [158]. Avec des résultats semblables, Gallistel (1982) a suggéré que l'habenula constituait le site d'action servant d'intermédiaire à l'atténuation de la récompense produite par les antagonistes dopaminergiques, puisque l'HbL est le seul site marqué par une hausse de 2-DG sous l'effet du pimozide [83]. En effet, alors que l'autostimulation diminue le marquage du 2-DG dans l'habenula, le pimozide y produit un accroissement de 2-DG, et ce, simultanément à la réduction de la récompense [83]. Cette hypothèse est valable à la condition que le 2-DG reflète l'activation des corps cellulaires, puisque cela signifierait que l'antagonisme des récepteurs dopaminergiques active l'HbL qui à son tour inhiberait les neurones dopaminergiques. Néanmoins, le 2-DG semble plutôt indiquer une hausse de l'activité synaptique [149]. Bref, il est impossible de déterminer avec certitude si les neurones de l'HbL sont activés ou inhibés par une variation de l'activité des récepteurs dopaminergiques.

Une méthode alternative qui témoigne d'une réponse neurale de l'HbL face aux agents dopaminergiques est l'analyse de l'expression des antigènes *Fos*, des protooncogènes issus du gène *FOS* dont l'expression est modifiée par l'activité neuronale.



Ainsi, l'administration d'un agoniste dopaminergique comme l'amphétamine ou l'apomorphine amplifie la production d'antigènes *Fos* dans l'HbL, particulièrement dans sa portion latérale [159]. Ces résultats appuient l'idée que l'activité habenulaire contribue à réguler l'effet des psychostimulants sur le comportement.

D'autres résultats indiquent que l'HbL joue un rôle critique lors de la réponse de l'organisme aux psychostimulants via une boucle de rétroaction. Ainsi, le sectionnement de la stria medullaris ou une lésion électrolytique de l'HbL atténue significativement l'inhibition des neurones dopaminergiques induite par un psychostimulant [160, 161]. La dose psychostimulante requise pour induire 50% d'inhibition des neurones dopaminergiques enregistrés était alors de 3.3 à 4.7 fois supérieure chez les rats lésés à la stria medullaris ou à l'HbL, comparativement au groupe contrôle. Si la modification de l'activité dopaminergique modifie l'activité cellulaire de l'HbL et que l'HbL peut réguler l'activité des cellules dopaminergiques, une boucle de rétroaction pourrait exister entre ces deux éléments. Cette boucle habénulo-mésolimbique coexisterait avec d'autres sites innervant de façon réciproque l'ATV, tels que les ganglions de la base qui reçoivent des projections et qui projettent à l'ATV [162]. Les interactions entre cellules dopaminergiques et cellules habenulaires pourraient donc posséder une implication particulière dans l'acquisition ou l'expression des comportements dirigés.

### ***2.2.3 Rôle de l'HbL dans les comportements dirigés***

Plusieurs manipulations expérimentales ont révélé l'implication de l'habenula et de la voie dorsale diencephale dans la régulation d'une grande variété de comportements

dépendants de la dopamine [92]. Par exemple, des lésions à l'habenula ou de sa voie efférente principale, le fasciculus retroflexus, affectent les comportements sexuels induits par hormones sexuelles chez les rats femelles [163-165]. Des lésions cytotoxiques de l'HbL perturbent les comportements maternels post-partum, tels que le soin aux ratons et la construction de nid [166-168]. En outre, des lésions électrolytiques de l'habenula peuvent altérer l'efficacité des stimulations supportant l'ASIC [169]. Plusieurs de ces comportements sont altérés possiblement par une perturbation de l'activité de la voie mésolimbique dopaminergique. En particulier, les rats ayant appris une tâche de temps de réaction à 5 choix en série (TTRS-5) démontrent un plus grand nombre de réponses prématurées avec une lésion habenulaire. Cette tâche requiert que les animaux répondent, avec un certain délai, par *nosepoke* dans le trou correspondant à une lumière prédisant une récompense [170]. Un nombre de réponses prématurées excessif est compatible avec la présence d'impulsivité, d'un aspect similaire au comportement induit par l'administration d'amphétamine (provoquant une hausse de la neurotransmission dopaminergique) [171]. L'implication de la neurotransmission dopaminergique est d'autant plus confirmée que l'administration d'halopéridol permet de normaliser le nombre de réponses prématurées des rats lésés à l'HbL sans affecter le nombre réponses correctes [170].

Les études ayant examiné la locomotion induite par un psychostimulant suite à une lésion de l'HbL suggèrent que la lésion habenulaire amplifie l'effet psychomoteur des psychostimulants. Heldt et Ressler [172] ont constaté qu'une lésion électrolytique de l'HbL potentialise la locomotion induite par l'apomorphine (2 mg/kg). Dans cette expérience, une contribution des fibres de passages de l'habenula ne peut être exclue, particulièrement du

fait que les lésions de la stria medullaris (décrite plus haut) ont un effet neurocomportemental. Par ailleurs, une lésion électrolytique unilatérale de l'HbL mène à un déséquilibre de l'activité de la voie mésolimbique dopaminergique; l'administration d'apomorphine (2mg/kg) produit une rotation contralatérale en présence d'une telle lésion [173], un effet aboli par l'administration d'halopéridol. Ainsi, une lésion unilatérale de l'HbL suivie de l'administration d'un agoniste dopaminergique produit le même effet qu'une injection unilatérale d'amphétamine dans le noyau accumbens[174]. Finalement, lorsqu'un antagoniste des récepteurs AMPA est infusé dans l'HbL une corrélation positive existe entre cette libération de dopamine dans le noyau accumbens et le niveau de locomotion mesurée simultanément [146].

En résumé, de multiples études tant comportementales, électrophysiologiques que biochimiques appuient l'hypothèse qu'une fonction de l'HbL est d'exercer une régulation négative sur la neurotransmission dopaminergique mésolimbique. L'excitation électrique *in vivo* de l'HbL inhibe les cellules dopaminergiques de l'ATV. Cette inhibition semble être médiée trans-synaptiquement par l'activation de cellules GABAergiques intermédiaires situées dans l'ATV et dans le RMTg. De plus, l'activité neurale de l'HbL est vraisemblablement sensible à l'activation de la neurotransmission dopaminergique induite par les psychostimulants, puisque ces agents modifient les indices métaboliques et biochimiques index de l'activité neuronale au niveau de l'HbL. En somme, les relations entre l'HbL et la voie mésolimbique dopaminergique suggèrent que l'HbL joue un rôle fonctionnel important dans la manifestation des comportements dirigés.

### 3. Étude du rôle de l'habenula dans les comportements dirigés

L'objectif de ce travail est d'examiner la contribution des neurones de l'HbL dans l'expression des comportements dirigés, sensibles à la neurotransmission de la voie mésolimbique dopaminergique. Historiquement, l'activation psychomotrice et la récompense (renforcement positif) ont été considérées comme des phénomènes émanant des mêmes cellules dopaminergiques situées dans l'ATV [24]. Le rôle de l'HbL dans la locomotion induite par un psychostimulant est déjà fortement suspecté [173]. Par conséquent, si la théorie de Wise et Bozarth (1987) est vraie, une lésion à l'HbL devrait également altérer les mesures de récompenses induites par un psychostimulant. Cependant, certaines données indiquent au contraire qu'il est possible de dissocier les substrats neurobiologiques responsables de la locomotion et de l'amplification de la récompense produites par les psychostimulants [175, 176].

Dans le paradigme d'ASIC, un rat travaille pour obtenir une stimulation électrique administrée au moyen d'une électrode implantée dans une structure cérébrale [177, 178]. Les comportements étudiés constituant l'ASIC sont généralement des tâches opérantes simples. Par exemple, l'animal est placé dans un appareillage où l'appui d'un levier ou l'introduction du museau dans une cavité (*nosepoking*) délivre une salve de pulsions électriques au site de la pointe de l'électrode. Lorsque l'électrode est placée dans un endroit dont la stimulation entraîne une récompense efficace, le comportement menant à la livraison des pulsions électriques s'acquiert souvent rapidement. L'expérimentateur peut varier les paramètres de la stimulation électrique comme leur fréquence, leur amplitude et

leur durée. Généralement, un courant cathodique de faible intensité est employé, car il produit efficacement une dépolarisation des structures cérébrales, principalement des axones, qui se trouvent à proximité de l'électrode (bien qu'il soit aussi possible de dépolariser les neurones au niveau de leur corps cellulaire ou de leurs dendrites, si la densité de la stimulation est suffisamment élevée) [179].

Lors d'une expérience d'ASIC, l'administration d'un agoniste dopaminergique comme l'amphétamine accroît le taux de réponses d'un animal, c'est-à-dire son nombre de réponses dans une période fixe de temps. Inversement, les antagonistes dopaminergiques réduisent les taux de réponses. L'augmentation ou la baisse des taux de réponses, bien que souvent utilisées comme mesures dans plusieurs études passées, n'est pas indicative en soi de l'efficacité de la récompense produite par la stimulation. Effectivement, la variation de l'activité du rat ne permet pas de distinguer la capacité du rat à performer une tâche motrice, d'un changement de l'effet de récompense altérant la réponse du rat. Par exemple, un anesthésique musculaire comme le curare produit une baisse des taux de réponses, en raison d'une incapacité d'exécuter l'action motrice, mais non d'une altération de la récompense. L'une des méthodes employées pour distinguer l'effet de récompense de la performance du rat est le paradigme du déplacement de la courbe [180, 181]. Cette méthode tire avantage du fait qu'il est possible de faire varier un paramètre de stimulation (*input*) et de mesurer le taux de réponses correspondant (*output*) [180]. À chaque valeur d'*input* correspond un certain niveau de récompense qui détermine l'*output* comportementale de l'animal. Dans des conditions normales, la courbe dessinée par la fonction entre l'*input* (paramètre de stimulation) et l'*output* (taux de réponses) décrit une courbe semi-

sigmoïdale. Aux paramètres de stimulation les plus faibles, presque aucun comportement n'est évoqué chez l'animal. Des paramètres plus élevés augmentent progressivement des taux de réponses sans cesse plus élevés, jusqu'au point où le rat répond à un taux maximal. La forme et la position de cette courbe renseigneront sur la fonction entre l'effet sur la récompense et les variables indépendantes de la stimulation. À titre d'exemple, supposons une diminution de l'efficacité de la stimulation causée par une manipulation pharmacologique: pour obtenir un *output* équivalent, et donc maintenir une récompense équivalente, l'*input* (par exemple la fréquence de la stimulation) devra être augmenté de façon à compenser l'effet de la manipulation pharmacologique. Lorsque l'efficacité de la stimulation est diminuée, l'augmentation de l'*input* nécessaire pour maintenir l'*output* constant déplace ainsi la courbe vers la droite (voir figure 2). À l'opposé, un déplacement de la courbe vers la gauche signifierait que la même courbe peut être obtenue à des paramètres de stimulation plus faibles, signifiant que l'efficacité de la stimulation a augmenté. Ainsi, l'utilisation d'un agent pharmacologique ou d'une lésion qui affecte la capacité motrice (performance) d'un rat à répondre maximalement n'altère pas l'efficacité d'une stimulation à produire une récompense. Une telle manipulation produira théoriquement une transformation scalaire de la courbe réponses-fréquence, ce qui signifie que le taux de réponses à chaque niveau de stimulation sera diminué par le même facteur.

Afin de quantifier de comparer les courbes réponses-fréquence, Edmonds et Gallistel (1974) ont proposé de prendre comme seuil de comparaison les valeurs du paramètre de stimulation produisant 50% du taux de réponses maximal. Cette valeur est appelée seuil de stimulation M50 et se situe dans la portion ascendante de la courbe (voir

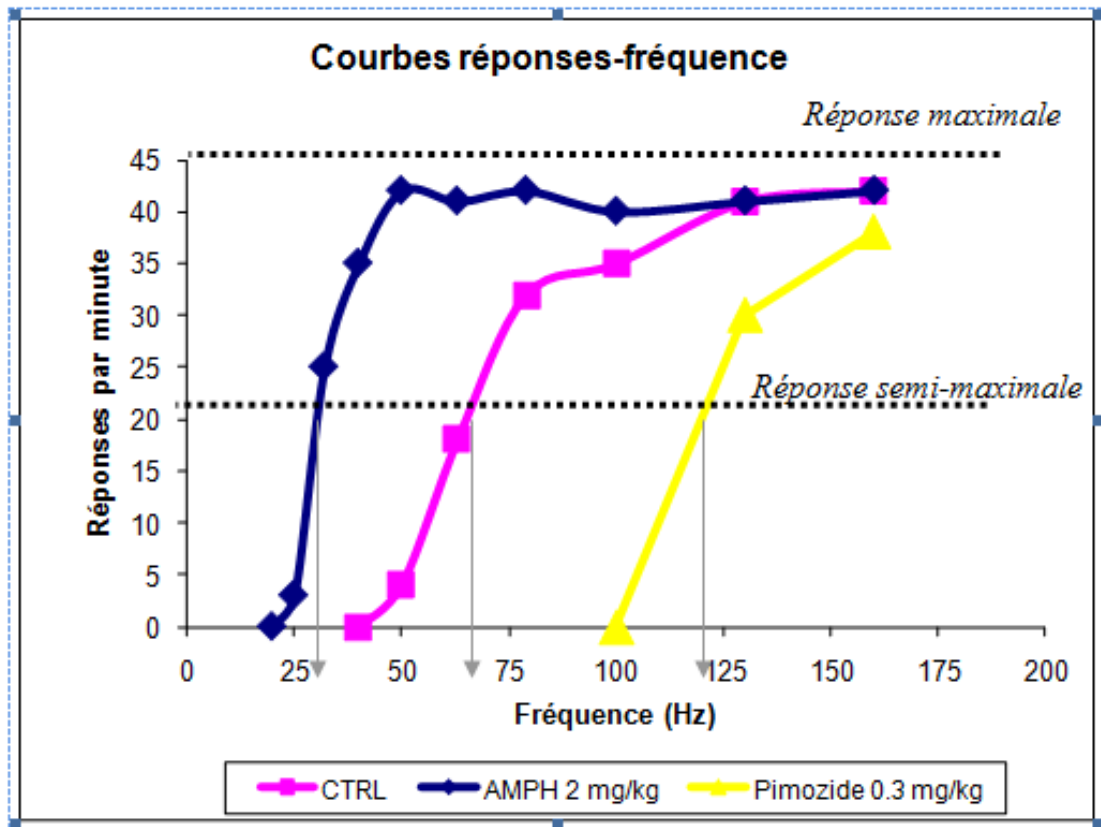
figure 2). En théorie, un traitement qui ne fait qu'affecter la performance du rat ne modifie pas les seuils M50, sauf dans les cas où ce traitement induit des effets moteurs extrêmes [181]. Ainsi, en comparant les seuils de récompense M50 avant et après une manipulation, nous obtenons une estimation de la compensation nécessaire pour maintenir la récompense à un niveau constant. Cette procédure permet de quantifier l'effet d'un traitement pharmacologique (ou de n'importe quelle autre manipulation) sur l'efficacité renforçante de la stimulation intracérébrale. Cette quantification confère au paradigme du déplacement de la courbe dans l'ASIC un avantage important dans l'étude du fonctionnement de la récompense.

Comme mentionné précédemment, l'amphétamine potentialise l'effet de récompense d'une stimulation intracérébrale, ce qui se traduit par un déplacement des courbes réponse-fréquence vers la gauche (dans le cas où la fréquence constitue la variable indépendante). Cet effet est une fonction de la dose d'amphétamine; de plus grandes doses d'amphétamine déplacent les courbes encore plus vers la gauche (jusqu'à une certaine limite imposée par les effets secondaires sur la motricité). Ces observations indiquent que la potentialisation de la récompense induite par les psychostimulants se conjugue à l'effet de récompense induit par l'ASIC et que, par conséquent, une voie commune finale sous-tend nécessairement ces effets. Ainsi, tout comme la locomotion, l'ASIC avec le paradigme du déplacement de la courbe, constitue une méthode permettant de déterminer indirectement les différences de neurotransmission dopaminergique de la voie mésolimbique potentiellement provoquée par une lésion habenulaire [182]. La sensibilité de ces paradigmes reflète directement l'importance fonctionnelle des variations de la

neurotransmission dopaminergique en mesurant directement leur manifestation comportementale; ces modèles expérimentaux permettront de clarifier le rôle de l'HbL en rapport aux circuits dopaminergiques mésolimbiques qui sous-tendent la locomotion et potentialisent la récompense des stimulations intracérébrales.



FIGURE 2 : Illustration du paradigme du déplacement de la courbe de l'ASIC



**Légende :** Courbes de réponses par minute en fonction de la fréquence des salves électriques administré via une électrode placée dans le FMT. Les données représentent trois conditions : basale (CTRL), sous l'effet d'une injection systémique d'amphétamine de 2 mg/kg et sous l'effet d'une injection systémique de pimozide 0.3 mg/kg [80]. L'amphétamine potentialise l'effet de récompense des stimulations électriques en déplaçant la courbe vers la gauche. Cette potentialisation est quantifiée avec le seuil M50 (fréquence produisant un taux de réponses semi-maximal), indiqué par des flèches verticales. À l'inverse, le pimozide réduit l'effet de récompense des stimulations. Dans cette condition, la courbe paraît dans son ensemble déplacée vers la droite. À noter que ces manipulations pharmacologiques altèrent minimalement les niveaux maximaux de réponses qui partagent la même asymptote (se référer au texte pour plus de détails).

## **2. ARTICLE**

### **Titre :**

**EFFECT OF NEUROTOXIC LESIONS OF THE LATERAL HABENULA ON THE  
LOCOMOTOR-STIMULANT AND REWARD-ENHANCING PROPERTIES OF  
AMPHETAMINE**

*Soumis à: Psychopharmacology*

### **Auteurs :**

**Anthony J. Gifuni et Sandra M. Boye**

### **Contribution spécifique de l'étudiant**

L'ensemble des manipulations expérimentales ont été réalisées par l'étudiant, c'est-à-dire les chirurgies chez les sujets animaux, les mesures de locomotion et les mesures d'auto-stimulations intracérébrales. L'étudiant était aussi responsable de colliger les données et de procéder à leur analyse statistique.

## **Abstract**

*Rationale.* Midbrain dopamine neurons play a key role in goal-directed behavior as well as in some psychiatric disorders. Recent studies have provided electrophysiological, anatomical and biochemical evidence that the lateral habenula (LHb) exerts strong inhibitory control over midbrain dopamine neurons. However, the behavioral relevance of this inhibitory input is poorly understood.

*Objective.* Our aim was to understand the contribution of the LHb to dopamine sensitive behavior. Here, we characterized the locomotor-stimulant and rewardenhancing properties of amphetamine in rats with and without neurotoxic lesions of the LHb. Amphetamine-induced forward locomotion and reward were respectively measured in automated activity cages and with intracranial self-stimulation, two behaviors that rely on normal mesolimbic dopamine neurotransmission.

*Methods.* Adult male Sprague Dawley rats were stereotaxically infused with ibotenic acid (0.25 ug/0.25 ul/side) and allowed 7-10 days post-operative recovery. Amphetamine-induced (0, 0.5 or 1.0 mg/kg, ip) locomotion and reward were then tested in lesioned and sham-lesioned rats.

*Results.* Neurotoxic lesions of the LHb resulted in a significant potentiation of the locomotor-stimulant effect of amphetamine. However, LHb lesions did not alter the rewarding properties of this drug.

*Conclusions.* Our findings suggest that the clear dissociation between the locomotorstimulant and reward-enhancing properties of amphetamine reflects the contribution of two distinct substrates of midbrain dopamine neurons that are functionally dissociable and differentially sensitive to LHb modulation.

**Key words:** lateral habenula, dopamine, reward, locomotion, amphetamine, intracranial self-stimulation, lesion

## Introduction

The habenula, located centrally along the dorsal diencephalic pathway, serves as a relay between forebrain afferents of limbic and basal ganglia origins and monoaminergic midbrain nuclei intricately involved in the control of emotions and behaviour (Geisler and Trimble 2008; Hikosaka et al. 2008; Li et al. 1993; Wang and Aghajanian 1977). Most notably, habenular involvement has been cited in maternal behaviour (Matthews-Felton et al. 1995), responses to stress and anxiety (Shumake and Gonzalez-Lima 2003; Wirtshafter et al. 1994), reward (Gomita and Gallistel 1982) and reward error processing (Matsumoto and Hikosaka 2007; Ullsperger and von Cramon 2003), as well as in psychiatric disorders such as schizophrenia (Sandyk 1992; Shepard et al. 2006) and depression (Roiser et al. 2009; Sartorius et al. 2010).

The habenula comprises a medial and a lateral aspect, each with distinct afferents and efferents (Sutherland 1982). Recently, the lateral habenula (LHb) has received renewed research attention due mainly to its increasingly evident role in controlling the activity of mesolimbic and nigrostriatal dopamine (DA) neurons. Thus, earlier descriptions of habenular innervation of ventral midbrain (Bunney and Aghajanian 1976; Herkenham and Nauta 1979; Phillipson 1979) have been confirmed and extended to show that this innervation is predominantly glutamatergic and preferentially synapses on GABAergic neurons in the ventral tegmental area (VTA), substantia nigra and rostromedial tegmental nucleus (Brinshawitz et al. 2010; Jhou et al. 2009); all three GABAergic groups in turn provide inhibitory control over DAergic activity. Thus, stimulation of the LHb causes phasic inhibition of DA neurons, an effect that is mediated via GABA<sub>A</sub> receptors (Ji and

Shepard 2007) and is blocked following electrolytic lesions of the fasciculus retroflexus or chemical lesions of the LHb (Christoph et al. 1986; Ji and Shepard 2007). In addition, a modest but direct glutamatergic innervation of midbrain DA neurons has also been described (Brinschwitz et al. 2010; Omelchenko et al. 2009). Despite this, the predominant result of habenular stimulation is near-absolute inhibition of DAergic firing activity in anesthetized (Christoph et al. 1986; Ji and Shepard 2007) as well as in awake animals (Matsumoto and Hikosaka 2007). Others have suggested that the LHb exerts near-maximal tonic inhibition of DA neurons under basal conditions, based on the observation that acute inhibition of LHb input to VTA results in a significant increase in forebrain DA neurotransmission (Lecourtier et al. 2008; Nishikawa et al. 1986).

Comparatively less is known about the behavioral relevance of LHb signals transmitted to VTA DA neurons, but this knowledge is of potential relevance given the key role of this neuronal population to goal-directed behavior as well as to some serious psychiatric disorders. Recent studies in awake behaving monkeys have illustrated in great detail how habenular neurons are excited by negative reward signals associated with the absence of expected reward or the presence of punishment, an event followed closely in time by silencing of midbrain DA neurons. Conversely, predictable reward or the presence of conditioned reward-related stimuli inhibit the habenula but enhance midbrain DA activity (Matsumoto and Hikosaka 2007; Matsumoto and Hikosaka 2009a). These findings have led to the hypothesis that intrinsic LHb neurons control approach behavior towards potential rewards via inhibition/disinhibition of VTA DA activity (see Hikosaka 2010).

Midbrain DA neurons are also critically important for the rewarding and motivating properties of drugs of abuse as well as of electrical brain stimulation (Wise and Rompré 1989). However, the few studies that have addressed the role of the habenula in these functions have provided inconsistent findings. For instance, operant responding for sucrose and cocaine on a fixed interval schedule is increased by low-frequency habenular stimulation, is not affected by high frequency stimulation and is reduced by mixed patterns of stimulation (Friedman et al. 2010; Friedman et al. 2011). Still others have shown that rats will self-administer trains of electrical pulses directly to the habenula (Vachon and Miliaressis 1992), suggesting that the stimulation is rewarding. Lastly, although neurotoxic lesions of the habenula cause resistance to extinction of both sucrose and cocaine self-administration (Friedman et al. 2010; Friedman et al. 2011), electrolytic lesions lead to long-lasting reductions in the rewarding effectiveness of electrical brain stimulation (Morissette and Boye 2008).

Our objective was to understand the nature of the contribution of the LHb to DA-sensitive behavior. To do this, we studied the locomotor-stimulant as well as the reward-enhancing properties of the psychostimulant amphetamine, in rats with and without neurotoxic lesions of the LHb. Forward locomotion following amphetamine was used to assess LHb contributions to approach behavior. Intracranial selfstimulation, a behavior critically sensitive to changes in VTA DA signaling (Boye and Rompré 2000; Gallistel and Karras 1984; Wise 1996), was used in combination with curve-shift scaling, allowing us to electively assess amphetamine reward independent of the actual rate of responding.

## Materials and Methods

### Subjects

Subjects were male Sprague-Dawley rats (Charles River, St Constant, Quebec) weighing between 300-330 g at the time of surgery. Rats were kept in a temperature (21°C) and humidity (50%) controlled room with a 12 hour light/dark cycle (lights on at 6:30 a.m.), had unrestricted access to food and water and were allowed to habituate to the animal colony for at least five days prior to surgery. All procedures followed Canadian Council on animal Care guidelines and were approved by the Institutional Animal Care Committee.

### Surgery

Subjects were anesthetized with a mixture of isoflurane (5%) and oxygen (0.6 L/min) and mounted onto a stereotaxic apparatus. During surgery, the level of anesthesia was reduced to 2-3%. The skull was drilled bilaterally over the habenula and, in those rats included in the intracranial self-stimulation experiment, in the area overlying the posterior mesencephalon at the level of the dorsal raphe nucleus. Habenular infusions were made sequentially, with a cannula (30 ga) that was connected to a 5 ul Hamilton syringe via PE10 tubing, at the following flat skull coordinates: -3.3 mm posterior to bregma,  $\pm$ 0.6 mm lateral and 4.7 mm ventral to the surface of the sagittal sinus (Paxinos and Watson 1997). Ibotenic acid (0.25 ug/0.25 ul/side; Tocris Bioscience, MO, USA) and vehicle (0.25 ul/side; sterile 0.9% saline) infusions were controlled by a minipump and occurred over one



minute. At the end of each infusion, an additional minute was allowed prior to cannula retraction in order to maximize drug diffusion. In those rats included in the locomotion experiment, the scalp was sutured with Chromic catgut. Once both infusions were completed, rats used in the intracranial self-stimulation experiment were then implanted with a stimulation electrode on the midline, 7.8-8.0 mm posterior to bregma and 6.8-7.8 mm ventral to the surface of the skull. Stimulation electrodes were made from stainless steel wire (0.27 mm dia.) and were insulated with Epoxylite except at the rounded tip. A bare stainless steel wire, connected at one end to a male amphenol pin and wrapped around six miniature screws that were threaded into the cranium, served as the anode. Acrylic dental cement was used to chronically secure the electrode assembly to the skull. Prior to the end of surgery, all rats received an injection of the non-steroidal antiinflammatory analgesic Ketoprofen (5 mg/kg, sc).

### **Locomotor activity**

Locomotor activity was measured in rectangular Plexiglas chambers (45 cm long x 32.5 cm wide x 37.5 cm high), each equipped with two parallel infrared photobeams situated 23 cm apart, 11 cm from the short ends of the chambers, and 3 cm above the grid floor. A mesh lid allowed ventilation. Each locomotor activity chamber was encased within a sound-attenuating box that was equipped with a fan and a 7-W lightbulb. In-house software registered alternating photobeam interruptions; the total locomotor activity score thus represents the number of times the rat traversed the cage during the test session.

Ten days after surgery, rats were placed in the activity chambers and baseline locomotor activity was measured during one hour. Rats were then injected with amphetamine (0.5 or 1.0 mg/kg, ip) or vehicle (0.9 % saline) and locomotor activity was measured for an additional two hours.

### **Intracranial self-stimulation**

Operant chambers (28 cm wide x 29.4 cm deep x 68.6 cm high) were constructed from PVC (back and side walls) and Plexiglas (front wall). Each chamber was equipped with a non-retractable lever (ENV-116M, Med Associates Inc, St Albans VT, USA) located on the left wall, 3.4 cm above the metal rod floor. Operant chambers were encased in sound-attenuating boxes (48.6 cm wide x 50.7 cm deep x 95.4 cm high) made from melamine with a Plexiglas window allowing constant viewing of the rat. Each depression of the lever triggered a constant-current generator (PHM-152/2, Med Associates Inc, St Albans, VT, USA) to deliver a single 400-ms train of rectangular cathodal pulses of 0.1 ms in duration, delivered on a FI-1s schedule. Current intensity was monitored on an oscilloscope by reading the voltage drop across a 1 k resistor in series with the electrode.

One week after surgery, rats were trained to self-administer trains of cathodal rectangular pulses by the method of successive approximations. Once the response was learned, rats were allowed to self-administer the stimulation for one hour, at parameters set to support consistent responding. On the following day, rats were allowed to self-administer the same stimulation parameters, but only during 45 sec trials that were separated by 30 sec inter-trial intervals and preceded by five trains of non-contingent

stimulation. All parameters of the non-contingent stimulation were identical to those available during the 45 sec trial. Beginning on the third day, the pulse frequency was systematically reduced by approximately 0.1  $\log_{10}$  units across trials, starting with a frequency that supported maximal responding and ending with one sufficiently low to induce extinction. The plot of the rate of responding as a function of pulse frequency comprised a single response-frequency curve; several of these curves were determined daily. Reward thresholds were defined as the pulse frequency required for half-maximal responding and were derived from a regression line fit to the rising portion of individual response-frequency curves. In order to standardize the rewarding effectiveness of the stimulation across all rats prior to the start of drug testing, current intensities were adjusted to produce reward thresholds of approximately 50 Hz.

Once reward thresholds were stable across a minimum of three days (less than 0.1  $\log_{10}$  unit variations), we tested the rewarding effect of amphetamine. On the test day, we first determined four baseline reward thresholds; the first threshold estimate was not included in the data analyses. Rats were then injected with amphetamine (0.5 or 1.0 mg/kg, ip) or vehicle (0.9 % saline) and immediately returned to the operant chamber for an additional six threshold determinations. The post-injection test lasted approximately 1.5 hours, a window of time coinciding with peak behavioral drug effects.

## **Histology**

At the end of all testing, rats in the locomotion experiment were anesthetized with urethane (1.2 g/kg, ip) and decapitated, and their brains were immediately harvested and

flash frozen (2-methyl-butane, -50°C). For rats in the intracranial self-stimulation experiment, stimulation sites were first marked by passing direct anodal current (100  $\mu$ A, 15 sec) via the stimulation electrode. Rats were then sacrificed similarly to those in the locomotion experiment. All brains were sliced in a cryostat into 20  $\mu$ m coronal sections and mounted onto gelatin-coated slides. Sections were stained for Nissl substance using thionin and examined under a light microscope.

### **Data Analysis**

Statistical analyses were carried out using Statistica 6.0 (Stat-Soft, Tulsa, OK, USA). All time course data were analyzed with two-way mixed analyses of variance (ANOVAs) with lesion as the between factor and time as the repeated measure. Mean total activity scores were analyzed with two-way ANOVAs (lesion x dose) followed by post hoc Tukey honestly significant difference (HSD) tests where appropriate.

## Results

### Locomotor activity

In total, 52 rats received bilateral neurotoxin ( $n = 26$ , Fig. 1a) or vehicle ( $n = 26$ , Fig. 1b) infusions. Ibotenic acid lesions were characterized by the presence of gliosis and reduced neuronal densities. Due to the small infusion volume, lesion boundaries were generally restricted to the LHb and targeted a region of the habenula extending from approximately 2.8 to 4.16 mm posterior to bregma. In one case, we were only able to locate the lesion within the left habenula with certainty, so for this rat, the right lesion is not included in Fig. 1a. Sites of sham infusions were identified by locating the tip of the cannula track; the distribution of these sites was similar to that of the lesions. No evidence of neuronal loss or gliosis was observed in sham-infused brains.

Fig. 2 shows the time course of the locomotor response under baseline conditions and after injection of vehicle and amphetamine (injection at time 0). Ibotenic acid lesions did not alter spontaneous locomotion ( $F(1, 50) = 0.43$ , Fig. 2a) nor the responses to vehicle ( $F(1, 18) = 0.47$ , Fig. 2b) or 0.5 mg/kg amphetamine ( $F(1, 12) = 0.30$ , Fig. 2c), but did produce a hypersensitive response to the locomotorstimulant actions of 1.0 mg/kg amphetamine ( $F(1, 16) = 7.13$ ,  $p < .05$ , Fig. 2d). Fig. 3 shows mean total activity scores during the first and second hour after injection. A two-way ANOVA on first hour scores revealed an effect of lesion ( $F(1, 46) = 7.24$ ,  $p < .01$ ), treatment ( $F(2, 46) = 46.34$ ,  $p < .01$ ) and a significant interaction ( $F(2, 46) = 3.82$ ,  $p < .05$ , Fig. 3a). Tukey HSD post hoc analysis indicated that although both doses of amphetamine increased locomotor activity in

both groups of rats ( $p < .01$ ), the response to 1.0 mg/kg amphetamine was 60% greater in lesioned rats ( $182.9 \pm 17.21$  vs  $115.1 \pm 11.26$ ,  $p < .01$ ). We observed a similar trend during the second hour, but the two-way ANOVA revealed only an effect of treatment ( $F(2, 46) = 28.77$ ,  $p < .01$ , Fig. 3b).

### **Intracranial self-stimulation**

In all, 43 rats received ibotenic acid ( $n = 20$ ) or vehicle ( $n = 23$ ) infusions into the LHb. In this group of rats, the anterior-posterior distribution of lesion sites ranged from 3.14 to 4.16 mm posterior to bregma, and was mainly confined to the LHb (Fig. 4a). Cannula tips in sham-lesioned rats were also located within the LHb and were distributed from 3.14 to 3.8 mm posterior to bregma (Fig. 4b). Stimulation sites were located in and around the ventral half of the dorsal raphe nucleus, from 7.3 to 8.3 mm posterior to bregma (Fig. 4c).

Overall, amphetamine increased the rewarding effectiveness of the stimulation by approximately 20-25%, an effect that was stable throughout the 90 min test and which did not dissociate between lesion groups (Fig. 5). Two-way ANOVAs on thresholds did not reveal any effect of lesion nor time, at any dose. Fig. 6 shows changes in asymptotic responding as a function of time after injection. Amphetamine increased asymptotic response rates by approximately 15-20% (Fig. 6). Two-way ANOVAs on asymptotic response rates following vehicle or 1.0 mg/kg amphetamine did not reveal any effect of lesion nor time, whereas 0.5 mg/kg amphetamine induced higher response rates in lesioned versus sham-lesioned rats ( $F(1, 10) = 8.07$ ,  $p < .05$ ).

## Discussion

A quickly growing body of research suggests that the habenula, its lateral aspect in particular, exerts strong inhibitory control over VTA DA neurons (Christoph et al. 1986; Ji and Shepard 2007). Here, we examined this contribution to DA-sensitive behavior by neurotoxically lesioning the LHb and then assessing changes to amphetamine-induced locomotion and intracranial self-stimulation. Our results show that destruction of intrinsic LHb neurons results in a pronounced enhancement of the locomotor response triggered by amphetamine without altering its reward-enhancing properties. Thus, although our results are consistent with a role of the LHb in psychostimulant-induced locomotion, our findings with intracranial self-stimulation suggest independence between LHb function and positive reward. These findings demonstrate, for the first time, a clear dissociation between the contribution of the LHb to these DA-sensitive goal-directed behaviors.

Psychostimulant-induced locomotion has not previously been studied in rats with neurotoxic LHb lesions. However, mechanical lesions have been shown to enhance the locomotor response to morphine (Funk and Stewart 1992) and to apomorphine (Heldt and Ressler 2006). Although the underlying mechanism for the potentiated locomotor response is not yet known, it is unlikely to be due solely to disinhibition of VTA DA activity (Lecourtier et al. 2008), since neither we nor others (Funk and Stewart 1992; Thornton et al. 1994) observed any post-lesion change in spontaneous locomotion. We also did not observe any change after vehicle injection. Similarly, single unit recording studies have shown that neither neurotoxic lesions of the habenula (Christoph et al. 1986) nor

electrolytic lesions of the fasciculus retroflexus (Ji and Shepard 2007) alter baseline DA cell firing. In the present study, the effect of our lesions on locomotion became apparent only after challenge with amphetamine, a finding suggesting hypersensitivity within the substrate for psychostimulant locomotion. One possible site for such hypersensitivity might be the nucleus accumbens, a DA terminal site critical for psychostimulant-induced locomotion. In effect, it has been shown that lesions of the habenula alter synaptic plasticity within the fimbria-accumbens pathway, leading to increased long-term depression in nucleus accumbens (Lecourtier et al. 2006). Depression of synaptic strength in this nucleus is a common action of psychostimulants (Nicola et al. 1996) and is associated with the sensitized locomotor response observed following repeated exposure to these drugs (Beurrier and Malenka 2002; Thomas et al. 2001).

In contrast, we did not observe any effect of LHb lesions on the rewordenhancing properties of either dose of amphetamine. Amphetamine potentiated the rewarding effectiveness of the stimulation, as evidenced by a reduction in reward thresholds, similarly in both groups of rats. Histological inspection of our lesions did not reveal important differences in the extent of lesion borders in those rats included in the locomotor activity and reward function experiments. Moreover, the locomotor activating and reward-enhancing properties of amphetamine were measured within approximately one week of each other (10-17 days post-lesion), suggesting that progressive neuronal degeneration did not contribute significantly to our results; such a contribution would have caused a greater alteration in reward function than in locomotor activity, since intracranial self-stimulation tests were carried out later.



The lack of change in amphetamine reward following LHb lesions appears at odds with recent self-administration studies showing that similar lesions actually increase sucrose and cocaine seeking, as inferred from a pronounced resistance to extinction of operant responding (Friedman et al. 2010; Friedman et al. 2011). The reason for this discrepancy is not obvious, but the use of different behavioral measures may be relevant. We chose to use intracranial self-stimulation in combination with the curve-shift paradigm because this method allows us to dissociate changes in reward from changes in responding (Edmonds and Gallistel 1974; Miliaressis et al. 1986). For instance, our data demonstrate that despite higher response rates in lesioned rats treated with the 0.5 mg/kg dose of amphetamine, the actual reward-enhancing capacity of this dose was not altered. In much the same vein, electrolytic lesions of the habenula do not alter heroin reward, as measured by self-administration breaking points, despite causing transient increases in response rates (Wang et al. 2009). It appears, then, that despite lesion-induced increases in operant responding, rate-independent measures do not support a role for the LHb in positive reward or motivation. These findings further suggest that enhanced operant responding after the lesion may more closely reflect changes in approach behaviors, such as forward locomotion, than reward function.

The absence of lesion-induced changes in reward is nonetheless puzzling, given the intricate relation between intracranial self-stimulation, DA and the LHb. Indeed, DA is the only neurotransmitter known to reliably alter brain stimulation reward in a predictable manner (see Wise 1996 for review). Reciprocally, rewarding stimulation itself alters DA neurotransmission by increasing extracellular levels in nucleus accumbens and VTA

(Hernandez et al. 2006; You et al. 2001), and a subpopulation of VTA DA neurons can integrate reward signals triggered at the level of the posterior mesencephalon (Moisan and Rompré 1998). In addition, the LHb appears to occupy a key location in brain reward circuitry. For example, rewarding brain stimulation, as well as DA agonists like amphetamine and apomorphine, reliably reduce habenular metabolic activity as measured with  $^{14}\text{C}$ -2-deoxyglucose (2-DG) (Gomita and Gallistel 1982; McCulloch et al. 1980; Wechsler et al. 1979). In contrast, reward-attenuating doses of pimozide and haloperidol increase 2-DG utilization in LHb (Gomita and Gallistel 1982; McCulloch et al. 1980; Pizzolato et al. 1984). These findings with intracranial self-stimulation are consistent with those of Matsumoto and Hikosaka (2007, 2009a), positing the habenula as a source of negative reward signals. Moreover, the habenular inhibition triggered by rewarding stimulation and amphetamine is functionally similar to that of a neurotoxic lesion, and may explain why we did not observe any lesion-induced changes during intracranial self-stimulation. By extension, our present results further suggest that previous observations of habenular self-stimulation (Vachon and Miliareisis 1992) and attenuation of reward following electrolytic lesions of the LHb (Morissette and Boye 2008) may have been due to the respective stimulation and destruction of fibers of passage.

The dissociation between lesion-induced changes in locomotion and reward observed here may reflect the activity of different substrates of DA neurons. Indeed, available evidence suggests that although a large population of midbrain of DA neurons responds to LHb stimulation, not all neurons respond in the same manner (Christoph et al. 1986; Ji and Shepard 2007). In fact, different DA neurons appear to respond preferentially

to positive or to negative motivational signals (Matsumoto and Hikosaka 2009b). Such heterogeneity among midbrain DA responses has led to the hypothesis that different sub-populations encode distinct stimulus properties, such as motivational value or motivational salience, so as to guide behavior in a manner that is congruent with contextual cues (Bromberg-Martin et al. 2010).

In summary, we aimed to investigate the contribution of the LHb to DA sensitive behavior. We showed that neurotoxic lesions of the LHb enhanced the locomotor-stimulant properties of amphetamine while not altering its rewardenhancing properties. Taking into account the heterogeneous way in which DA neurons appear to encode different motivational signals, we propose that the dissociation between the locomotor-stimulant and rewarding effects of amphetamine reflects the activity of two sub-populations DA neurons that are functionally dissociable and differentially sensitive to LHb modulation.

## Reference list

- Beurrier C, Malenka RC (2002) Enhanced inhibition of synaptic transmission by dopamine in the nucleus accumbens during behavioral sensitization to cocaine. *J.Neurosci.* 22: 5817-5822
- Boye SM, Rompre PP (2000) Behavioral evidence of depolarization block of dopamine neurons after chronic treatment with haloperidol and clozapine. *J.Neurosci.* 20: 1229-1239
- Brinschwitz K, Dittgen A, Madai VI, Lommel R, Geisler S, Veh RW (2010) Glutamatergic axons from the lateral habenula mainly terminate on GABAergic neurons of the ventral midbrain. *Neuroscience* 168: 463-476
- Bromberg-Martin ES, Matsumoto M, Hikosaka O (2010) Dopamine in motivational control: rewarding, aversive, and alerting. *Neuron* 68: 815-834
- Bunney BS, Aghajanian GK (1976) The precise localization of nigral afferents in the rat as determined by a retrograde tracing technique. *Brain Res.* 117: 423-435
- Christoph GR, Leonzio RJ, Wilcox KS (1986) Stimulation of the lateral habenula inhibits dopamine-containing neurons in the substantia nigra and ventral tegmental area of the rat. *J.Neurosci.* 6: 613-619
- Edmonds DE, Gallistel CR (1974) Parametric analysis of brain stimulation reward in the rat: III. Effect of performance variables on the reward summation function. *J.Comp Physiol Psychol.* 87: 876-883
- Friedman A, Lax E, Dikshtein Y, Abraham L, Flaumenhaft Y, Sudai E, Ben Tzion M, Ami-Ad L, Yaka R, Yadid G (2010) Electrical stimulation of the lateral habenula produces enduring inhibitory effect on cocaine seeking behavior. *Neuropharmacology* 59: 452-459
- Friedman A, Lax E, Dikshtein Y, Abraham L, Flaumenhaft Y, Sudai E, Ben Tzion M, Yadid G (2011) Electrical stimulation of the lateral habenula produces an inhibitory effect on sucrose self-administration. *Neuropharmacology* 60: 381-387
- Funk D, Stewart J (1992) The effects of lesions of the habenular nuclei on the development of sensitization to the behavioral activation effects of repeatedly administered morphine in the rat. *Brain Res.* 583: 127-136
- Gallistel CR, Karras D (1984) Pimozide and amphetamine have opposing effects on the reward summation function. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 20: 73-77 Geisler S, Trimble M (2008) The lateral habenula: no longer neglected. *CNS.Spectr.* 13: 484-489
- Gomita Y, Gallistel CR (1982) Effects of reinforcement-blocking doses of pimozide on neural systems driven by rewarding stimulation of the MFB: a <sup>14</sup>C-2-deoxyglucose analysis. *Pharmacol.Biochem.Behav.* 17: 841-845

- Heldt SA, Ressler KJ (2006) Lesions of the habenula produce stress- and dopamine-dependent alterations in prepulse inhibition and locomotion. *Brain Res.* 1073-1074: 229-239
- Herkenham M, Nauta WJ (1979) Efferent connections of the habenular nuclei in the rat. *J.Comp Neurol.* 187: 19-47
- Hernandez G, Hamdani S, Rajabi H, Conover K, Stewart J, Arvanitogiannis A, Shizgal P (2006) Prolonged rewarding stimulation of the rat medial forebrain bundle: neurochemical and behavioral consequences. *Behav.Neurosci* 120: 888-904
- Hikosaka O (2010) The habenula: from stress evasion to value-based decision-making. *Nat.Rev.Neurosci.* 11: 503-513
- Hikosaka O, Sesack SR, Lecourtier L, Shepard PD (2008) Habenula: crossroad between the basal ganglia and the limbic system. *J.Neurosci.* 28: 11825-11829
- Jhou TC, Geisler S, Marinelli M, Degarmo BA, Zahm DS (2009) The mesopontine rostromedial tegmental nucleus: A structure targeted by the lateral habenula that projects to the ventral tegmental area of Tsai and substantia nigra compacta. *J.Comp Neurol.* 513: 566-596
- Ji H, Shepard PD (2007) Lateral habenula stimulation inhibits rat midbrain dopamine neurons through a GABA(A) receptor-mediated mechanism. *J.Neurosci.* 27: 6923-6930
- Lecourtier L, Defrancesco A, Moghaddam B (2008) Differential tonic influence of lateral habenula on prefrontal cortex and nucleus accumbens dopamine release. *Eur.J.Neurosci.* 27: 1755-1762
- Li YQ, Takada M, Mizuno N (1993) Demonstration of habenular neurons which receive afferent fibers from the nucleus accumbens and send their axons to the midbrain periaqueductal gray. *Neurosci.Lett.* 158: 55-58
- Matsumoto M, Hikosaka O (2007) Lateral habenula as a source of negative reward signals in dopamine neurons. *Nature* 447: 1111-1115
- Matsumoto M, Hikosaka O (2009) Representation of negative motivational value in the primate lateral habenula. *Nat Neurosci* 12: 77-84
- Matthews-Felton T, Corodimas KP, Rosenblatt JS, Morrell JI (1995) Lateral habenula neurons are necessary for the hormonal onset of maternal behavior and for the display of postpartum estrus in naturally parturient female rats. *Behav.Neurosci.* 109: 1172-1188
- McCulloch J, Savaki HE, Sokoloff L (1980) Influence of dopaminergic systems on the lateral habenular nucleus of the rat. *Brain Res* 194: 117-124

- Miliaressis E, Rompre PP, Laviolette P, Philippe L, Coulombe D (1986) The curve-shift paradigm in self-stimulation. *Physiol Behav.* 37: 85-91
- Moisan J, Rompre PP (1998) Electrophysiological evidence that a subset of midbrain dopamine neurons integrate the reward signal induced by electrical stimulation of the posterior mesencephalon. *Brain Res.* 786: 143-152
- Morissette MC, Boye SM (2008) Electrolytic lesions of the habenula attenuate brain stimulation reward. *Behav. Brain Res.* 187: 17-26
- Nicola SM, Kombian SB, Malenka RC (1996) Psychostimulants depress excitatory synaptic transmission in the nucleus accumbens via presynaptic D1-like dopamine receptors. *J. Neurosci.* 16: 1591-1604
- Nishikawa T, Fage D, Scatton B (1986) Evidence for, and nature of, the tonic inhibitory influence of habenulo-interpeduncular pathways upon cerebral dopaminergic transmission in the rat. *Brain Res.* 373: 324-336
- Omelchenko N, Bell R, Sesack SR (2009) Lateral habenula projections to dopamine and GABA neurons in the rat ventral tegmental area. *Eur. J. Neurosci.* 30: 1239-1250
- Paxinos G, Watson C (1997) *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, third edition edn. Academic Press, San Diego, CA
- Phillipson OT (1979) Afferent projections to the ventral tegmental area of Tsai and interfascicular nucleus: a horseradish peroxidase study in the rat. *J. Comp Neurol.* 187: 117-143
- Pizzolato G, Soncrant TT, Rapoport SI (1984) Haloperidol and cerebral metabolism in the conscious rat: relation to pharmacokinetics. *J Neurochem* 43: 724-732
- Roiser JP, Levy J, Fromm SJ, Nugent AC, Talagala SL, Hasler G, Henn FA, Sahakian BJ, Drevets WC (2009) The effects of tryptophan depletion on neural responses to emotional words in remitted depression. *Biol. Psychiatry* 66: 441-450
- Sandyk R (1992) Pineal and habenula calcification in schizophrenia. *Int. J. Neurosci.* 67: 19-30
- Sartorius A, Kiening KL, Kirsch P, von Gall CC, Haberkorn U, Unterberg AW, Henn FA, Meyer-Lindenberg A (2010) Remission of major depression under deep brain stimulation of the lateral habenula in a therapy-refractory patient. *Biol. Psychiatry* 67: e9-e11
- Shepard PD, Holcomb HH, Gold JM (2006) Schizophrenia in translation: the presence of absence: habenular regulation of dopamine neurons and the encoding of negative outcomes. *Schizophr. Bull* 32: 417-421

- Shumake J, Gonzalez-Lima F (2003) Brain systems underlying susceptibility to helplessness and depression. *Behav.Cogn Neurosci.Rev.* 2: 198-221
- Sutherland RJ (1982) The dorsal diencephalic conduction system: a review of the anatomy and functions of the habenular complex. *Neurosci.Biobehav.Rev.* 6: 1-13
- 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: 1217-1223
- Thornton EW, Murray M, Connors-Eckenrode T, Haun F (1994) Dissociation of behavioral changes in rats resulting from lesions of the habenula versus fasciculus retroflexus and their possible anatomical substrates. *Behav.Neurosci.* 108: 1150-1162
- Ullsperger M, von Cramon DY (2003) Error monitoring using external feedback: specific roles of the habenular complex, the reward system, and the cingulate motor area revealed by functional magnetic resonance imaging. *J Neurosci* 23: 4308-4314
- Vachon MP, Miliareisis E (1992) Dorsal diencephalic self-stimulation: a movable electrode mapping study. *Behav.Neurosci.* 106: 981-991
- Wang RY, Aghajanian GK (1977) Physiological evidence for habenula as major link between forebrain and midbrain raphe. *Science* 197: 89-91
- Wang Y, Zhang F, Tang S, Lai M, Hao W, Zhang Y, Yang J, Zhou W (2009) Lack of effect of habenula lesion on heroin self-administration in rats. *Neurosci.Lett.* 461: 167-171
- Wechsler LR, Savaki HE, Sokoloff L (1979) Effects of d- and l-amphetamine on local cerebral glucose utilization in the conscious rat. *J Neurochem* 32: 15-22
- Wirtshafter D, Asin KE, Pitzer MR (1994) Dopamine agonists and stress produce different patterns of Fos-like immunoreactivity in the lateral habenula. *Brain Res.* 633: 21-26
- Wise RA (1996) Addictive drugs and brain stimulation reward. *Annu.Rev.Neurosci.* 19: 319-340
- Wise RA, Rompre PP (1989) Brain dopamine and reward. *Annu.Rev.Psychol.* 40: 191-225
- You ZB, Chen YQ, Wise RA (2001) Dopamine and glutamate release in the nucleus accumbens and ventral tegmental area of rat following lateral hypothalamic self-stimulation. *Neuroscience* 107: 629-639

## Figures Legend

**Fig. 1** Location of ibotenic acid lesions and sham infusions in rats included in the locomotor activity experiment. **a)** Schematic diagrams of coronal sections of the rat brain through the habenula showing the extent of ibotenic acid lesions. Darkness represents coincidence of lesions across different rats. Lesions were reconstructed from light microscopic examination of thionin stained tissue; lesion boundaries were determined by neuronal loss and glial proliferation, viewed at a final magnification of 100x. **b)** Schematic representations of the sites of sham (sterile 0.9% saline) infusions. Sites were determined by locating the tip of the cannula track under the same conditions as in (a). Drawings of coronal sections reproduced from Paxinos and Watson (1997). Numbers above each drawing indicates distance (mm) posterior to bregma.

**Fig. 2** Time course of locomotor activity under different test conditions in lesioned and sham-lesioned rats. Beam interruptions were counted for one hour under basal (spontaneous) conditions **(a)** or for two hours following intraperitoneal injection of vehicle (0.9% saline) **(b)**, 0.5 mg/kg amphetamine **(c)** or 1.0 mg/kg amphetamine **(d)**. Each symbol represents the mean from all lesioned (filled symbols) or sham-lesioned (open symbols) rats during the indicated 10 min period  $\pm$  s.e.m. Each beam interruption represents one crossing of the locomotor activity chamber.

**Fig. 3** Total locomotor activity after amphetamine injection in lesioned and sham-lesioned rats. For each dose, locomotor activity was summed over the first **(a)** and second **(b)** hour



following amphetamine injection in lesioned (filled bars) and sham-lesioned (open bars) rats. Bars represent the mean  $\pm$  s.e.m. \* $p < .01$  vs respective vehicle control; † $p < .01$  vs sham control.

**Fig. 4** Location of ibotenic acid lesions (**a**), sham infusions (**b**) and electrode tip locations (**c**) of rats included in the intracranial self-stimulation experiment. Lesions and sham infusion sites were determined as in Fig. 1. Electrode tip sites were determined by locating the lesion produced just prior to sacrifice.

**Fig. 5** Changes in reward thresholds as a function of time following injection of **a**) vehicle, **b**) 0.5 mg/kg amphetamine and **c**) 1.0 mg/kg amphetamine. Each symbol represents the mean  $\pm$  s.e.m. from lesioned (filled symbols) and sham-lesioned (open symbols) rats and is expressed as a percentage of baseline.

**Fig. 6** Changes in asymptotic response rates as a function of time following injection of **a**) vehicle, **b**) 0.5 mg/kg amphetamine and **c**) 1.0 mg/kg amphetamine. Each symbol represents the mean  $\pm$  s.e.m. from lesioned (filled symbols) and sham-lesioned (open symbols) rats and is expressed as a percentage of baseline.

FIGURE 1

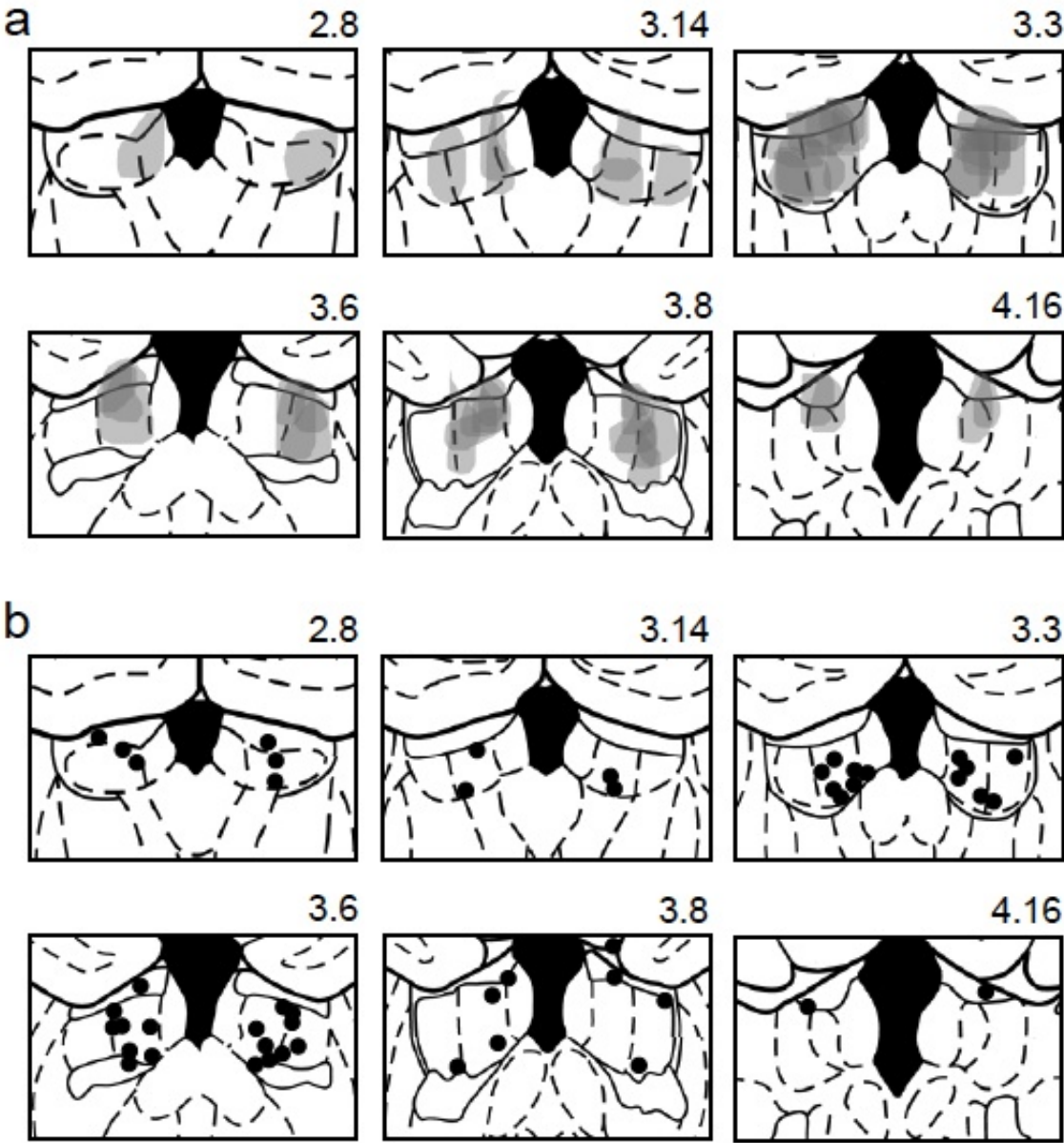


FIGURE 2

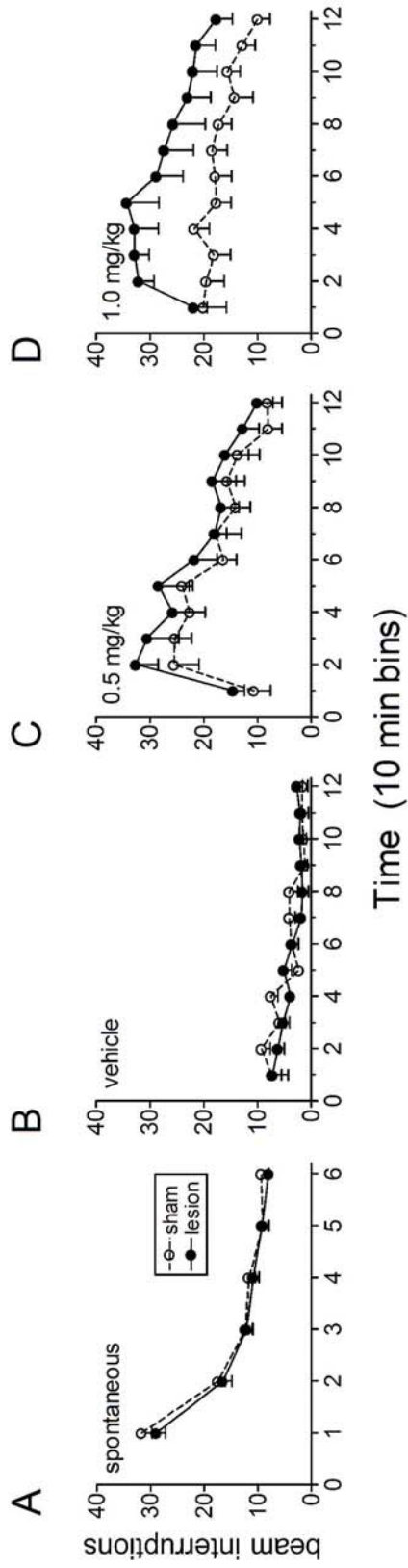


FIGURE 3

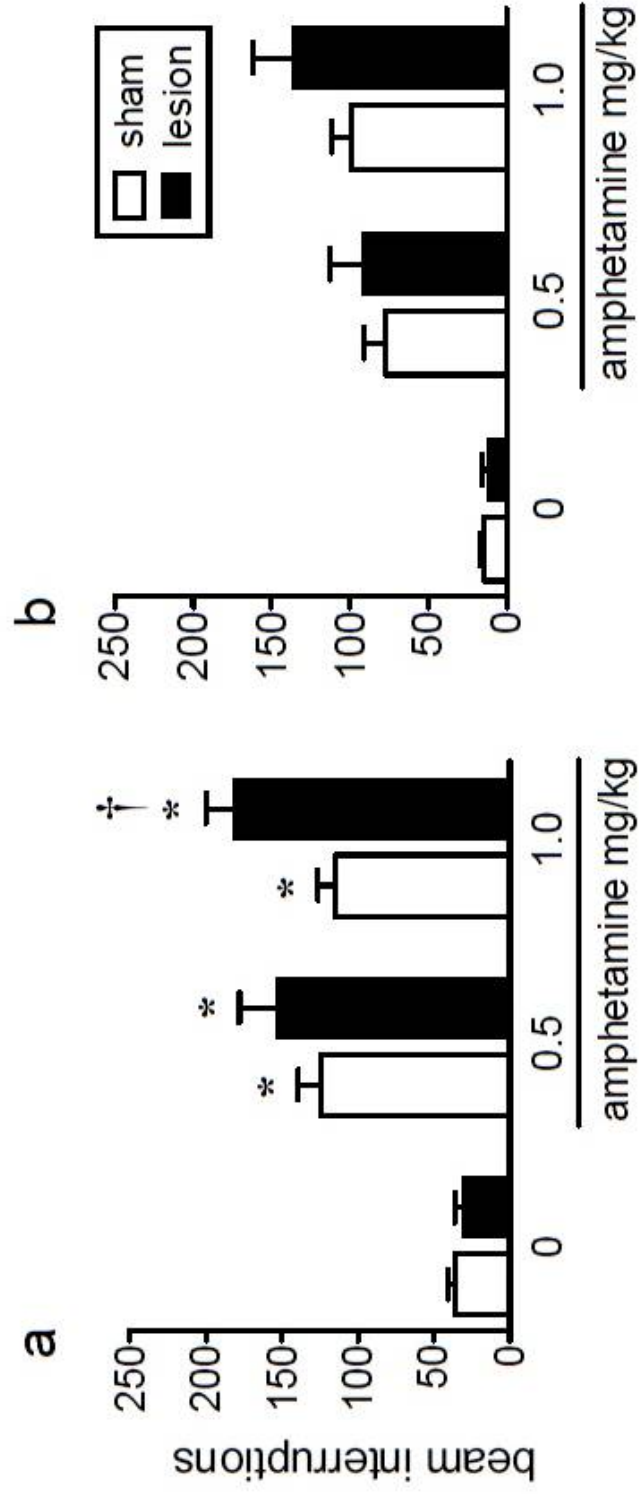
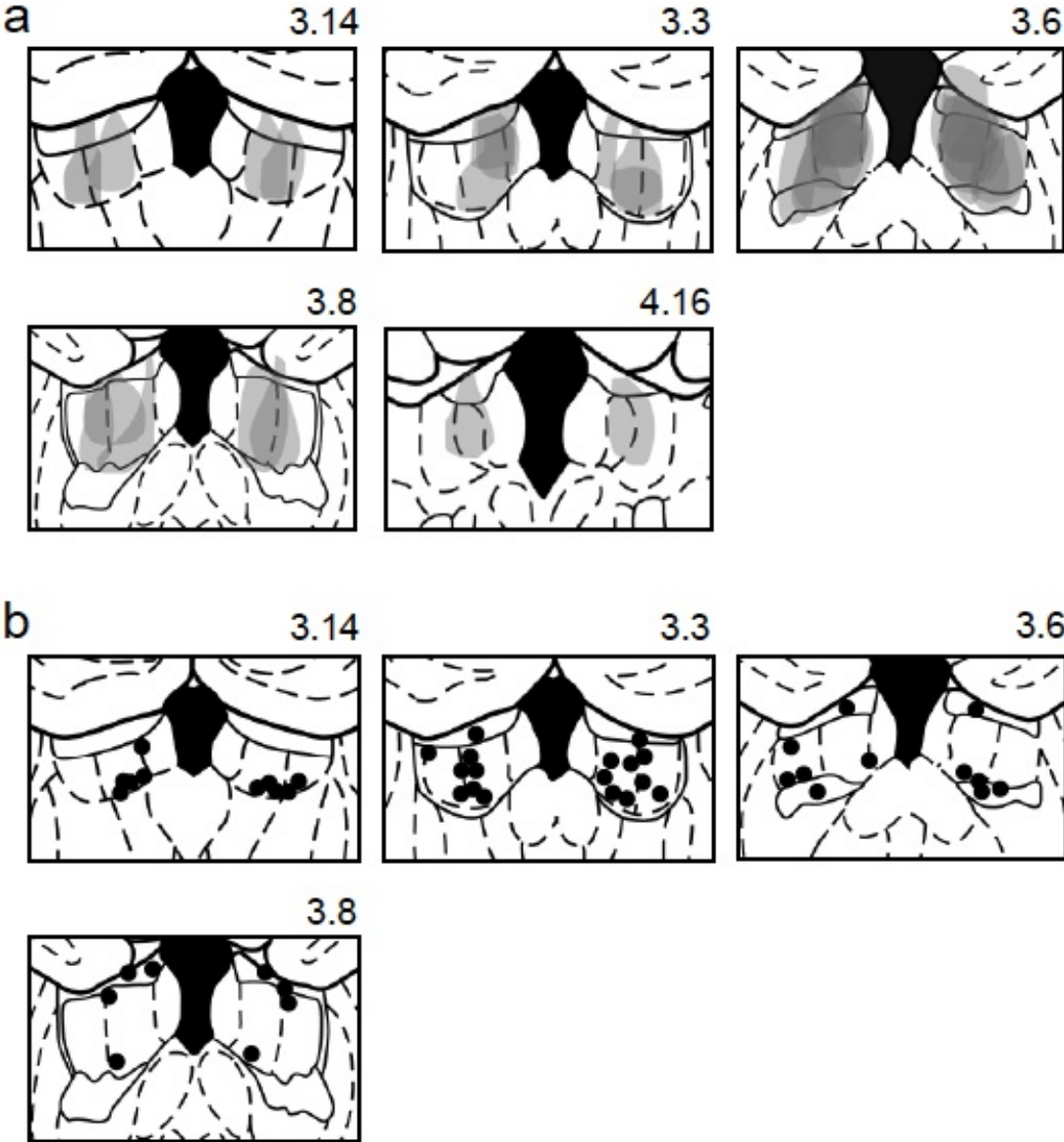


FIGURE 4



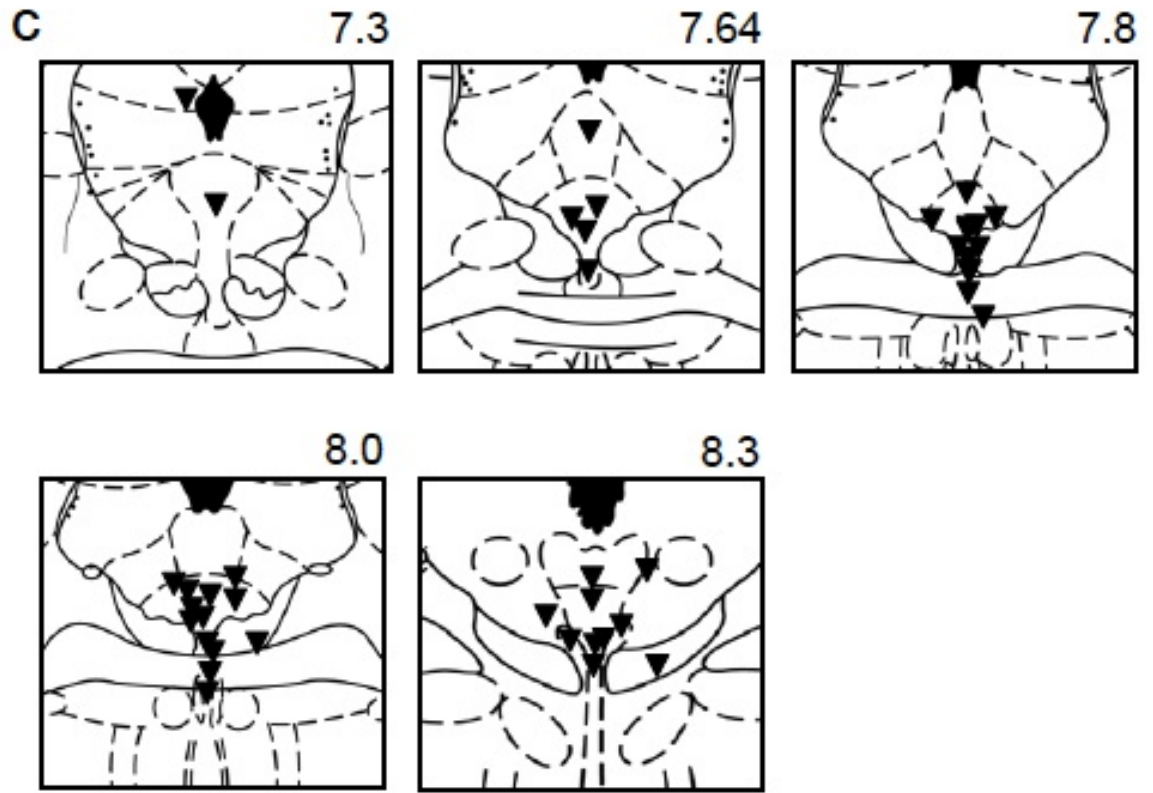


FIGURE 5

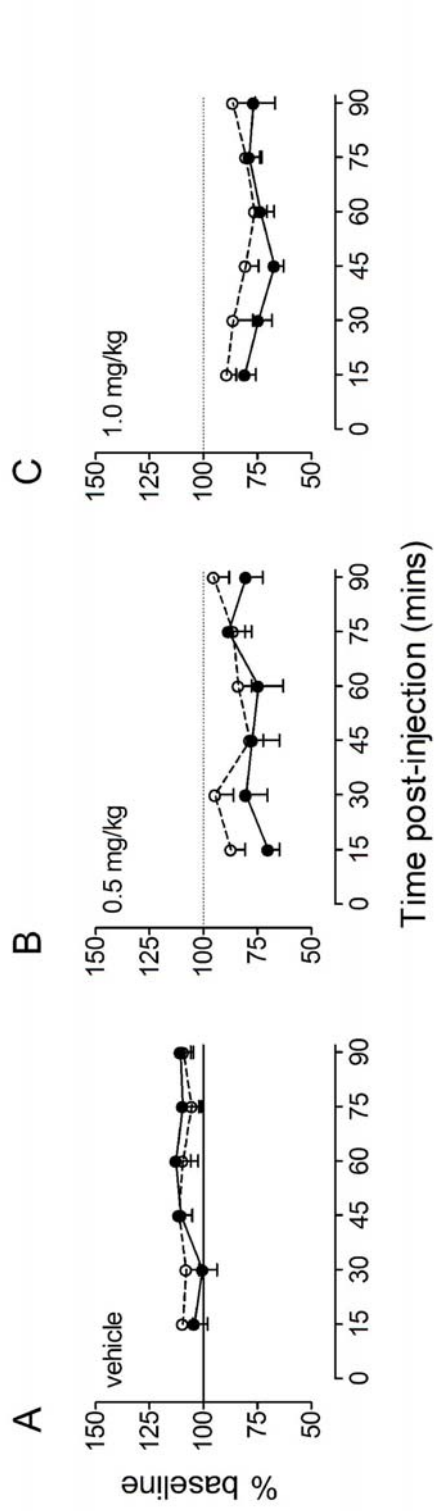
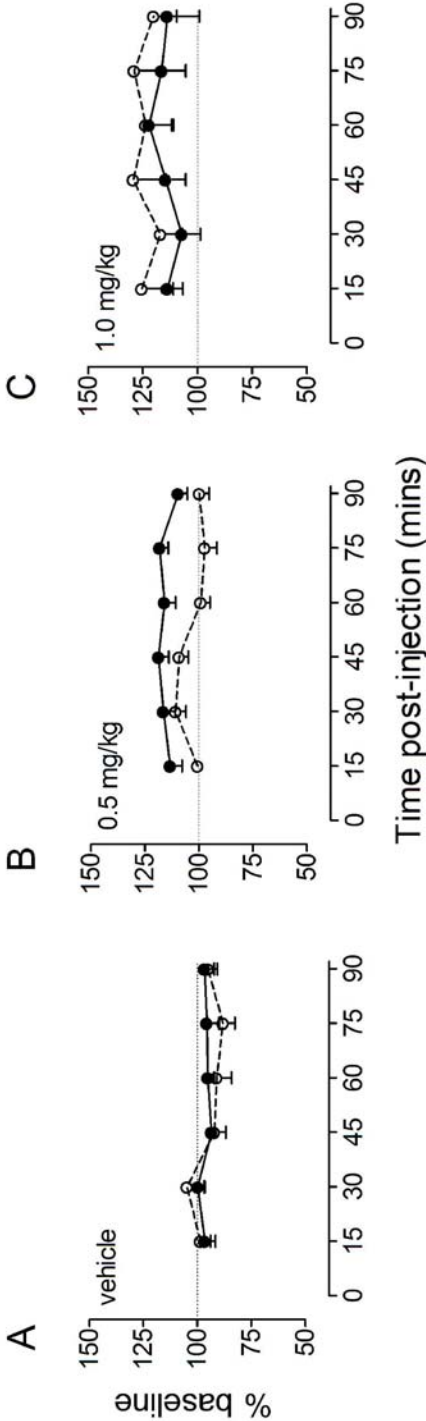


FIGURE 6





### 3. Discussion

Notre étude a mesuré indirectement l'impact de l'HbL sur la neurotransmission dopaminergique mésolimbique chez le rat. Pour ce faire, nous avons produit une lésion bilatérale de l'HbL et nous avons stimulé la neurotransmission dopaminergique de la voie mésolimbique avec de l'amphétamine. La neurotransmission dopaminergique de la voie mésolimbique a été inférée par deux comportements : la locomotion et l'autostimulation intracérébrale (ASIC). Une lésion neurotoxique de l'HbL n'a pas altéré les niveaux de base de l'activité locomotrice dans chaque groupe. Cependant, une telle lésion a potentialisé l'effet de locomotion de l'amphétamine (1 mg/kg) pendant la première heure suivant son administration, et une tendance similaire était observable pendant la seconde heure. À l'inverse, nous n'avons observé aucune interaction entre une lésion à l'HbL et l'effet amplificateur de la récompense induit par l'amphétamine.

L'usage de l'acide iboténique pour effectuer nos lésions suggère que cet effet est dû à la mort des neurones situés dans l'HbL. En effet, l'acide iboténique cible les récepteurs NMDA des corps neuronaux [184]. Toutefois, une contribution des fibres de passage ne peut pas être entièrement exclue puisqu'une analyse ultrastructurale révèle que l'acide iboténique peut produire une dégénérescence des gaines de myélines, sans toutefois affecter les fibres non myélinisées [185]. Il n'en demeure pas moins que même des lésions causées par l'acide iboténique à des doses supérieures préservent relativement les fibres de passages [186]. Par conséquent, en regard de la faible dose employée par notre étude, il semble peu

probable que l'effet des lésions soit imputable à l'interférence de la neurotransmission le long des fibres de passage.

Selon la théorie psychomotrice de l'addiction de Wise et Bozarth (1987) [24], le même substrat cérébral serait impliqué dans la réponse psychomotrice et la récompense des psychostimulants. Plusieurs éléments probants suggèrent que ce substrat cérébral serait la voie mésolimbique dopaminergique. En effet, l'activation psychomotrice induite par l'amphétamine résulte en partie de la libération de dopamine aux sites terminaux de la voie mésolimbique, notamment au niveau du noyau accumbens. En effet, il est possible de stimuler la locomotion par l'administration locale d'amphétamine dans le noyau accumbens [35]. De plus, l'administration d'un antagoniste dopaminergique dans le noyau accumbens réduit significativement la locomotion induite par l'amphétamine systémique [34]. D'autre part, une lésion des terminaisons dopaminergiques dans le noyau accumbens abolit la facilitation de la locomotion produite par l'amphétamine systémique [33].

Parallèlement, la neurotransmission dopaminergique mésolimbique semble jouer un rôle tout aussi important dans le phénomène de récompense supportant l'ASIC. L'administration locale d'amphétamine dans le noyau accumbens amplifie l'effet de récompense des stimulations électriques [81, 187]. Inversement, l'injection locale dans le noyau accumbens d'un antagoniste dopaminergique ( $\alpha$ -flupenthixol) diminue l'effet de récompense des stimulations [82]. Les cellules dopaminergiques de l'ATV sont d'autant plus impliquées dans la récompense qu'elles peuvent intégrer la magnitude de la récompense produite par une salve de pulsions électriques administrées dans le mésencéphale postérieur [86]. Bien que la voie mésolimbique dopaminergique soit

impliquée dans la locomotion induite par les psychostimulants et la récompense, des neurones dopaminergiques différents peuvent être responsables de chaque comportement. Dans cette perspective les afférences à l'ATV, telles que l'HbL, pourraient donc influencer la locomotion induite par un psychostimulant indépendamment de la récompense. Notre expérience montre que seule la locomotion induite par l'amphétamine est influencée par une lésion habenulaire.

Dix jours suivant une lésion habenulaire bilatérale, l'effet de locomotion induit par l'amphétamine a été amplifié dans la première heure suivant l'administration de la drogue, seulement à la plus forte dose testée (1,0 mg/kg). L'amphétamine à 1,0 mg/kg au cours de la première heure triple en moyenne la locomotion des rats non lésés et le sextuple chez les rats lésés. L'effet d'une dose plus faible (0,5 mg/kg) tend à être supérieur chez les rats lésés, sans que cet effet soit significativement différent du groupe contrôle. Nos résultats sont corroborés par deux études antérieures [172, 188] qui ont observé qu'une lésion bilatérale de l'HbL produit une amplification de l'effet de locomotion induite par l'apomorphine, un agoniste des récepteurs dopaminergiques. De plus, Wickens et coll. (1996) [173] ont observé qu'une lésion habenulaire unilatérale potentialise ipsilatéralement la locomotion des rongeurs, induisant des comportements de rotations sous l'effet d'une administration systémique d'apomorphine. Contrairement à notre étude, les résultats de ces deux dernières études ont été obtenus par des lésions électrolytiques de l'HbL. En conséquence, il est impossible de conclure avec certitude si les effets observés par ces études s'expliquent par la lésion des corps cellulaires habenulaires ou des fibres de passage.

L'enregistrement de l'activité électrophysiologique des neurones dopaminergiques suggère que ces neurones sont inhibés par l'activité de l'HbL. En effet, une stimulation électrique de l'HbL produit une importante hyperpolarisation du potentiel de repos dans un grand nombre de neurones dopaminergiques de l'ATV [11, 12]. En outre, la stimulation ou l'inhibition pharmacologique des récepteurs AMPA de l'HbL peuvent respectivement inhiber ou stimuler les cellules dopaminergiques de l'ATV comme en témoigne l'observation des variations des niveaux toniques de dopamine dans le noyau accumbens [146]. Ces données concordent avec les observations électrophysiologiques de Matsumoto et Hikosaka (2007): une activation des cellules habenulaires précède l'inhibition des cellules dopaminergiques.

L'inhibition des neurones dopaminergiques par l'HbL semble dépendre de l'activation trans-synaptique d'une tierce région. En effet, cette inhibition est dépendante d'une libération de GABA dans l'ATV puisque l'inhibition locale des récepteurs GABA<sub>A</sub> abolit cet effet [11]. Or, la majorité des fibres afférentes à l'ATV provenant de l'HbL sont glutamatergiques et donc excitatrices [10]. D'autre part, l'inhibition des neurones dopaminergiques lors d'une stimulation électrique de l'HbL est répandue dans presque l'ensemble des cellules dopaminergiques enregistrées [11, 12]. Cependant, l'HbL innoverait dans l'ATV presque autant de cellules dopaminergiques que de cellules GABAergiques [10]. Cette donnée suggère qu'une autre afférence GABAergique pourrait s'ajouter à l'inhibition provenant des cellules GABAergique intrinsèques à l'ATV lors d'une stimulation habenulaire. À cet égard, l'HbL innerve une région adjacente à la partie postérieure de l'ATV, le RMTg [137], dont le contenu est riche en cellules GABAergiques

projetant aux cellules dopaminergiques de l'ATV [141]. En outre, les enregistrements électrophysiologiques montrent que ces cellules GABAergiques sont activées par les mêmes conditions qui activent l'HbL, ce qui suggère que la stimulation habenulaire contrôle directement le RMTg [141]. D'autres circuits, moins directs que le RMTg, peuvent aussi intervenir entre l'HbL et l'ATV, soit ceux provenant du raphé médian et du raphé dorsal. Ces noyaux sérotoninergiques sont densément innervés par l'HbL [7]. En effet, l'activité sérotoninergique du raphé médian et du raphé dorsal module aussi l'activité dopaminergique mésolimbique, mais d'une façon complexe qui reste encore à être explorée [189]. En clair, une lésion de l'HbL élimine des neurones dont l'activation produit une inhibition de la voie mésolimbique dopaminergique. Cette inhibition dépendrait de l'activation de cellules GABAergiques, dont certaines seraient situées à l'extérieur de l'ATV au niveau du RMTg. La perte de l'afférence habenulaire au RMTg pourrait donc en grande partie contribuer aux répercussions d'une lésion habenulaire sur l'activation psychomotrice induite par un psychostimulant.

La lésion d'un système en inhibant un autre produit de façon caractéristique une désinhibition. Si l'on compare l'HbL aux freins d'une bicyclette, à l'état de base, le système dopaminergique pédalerait contre des freins fortement enclenchés. Si l'on brise ces freins, la même force appliquée sur les pédales par le système dopaminergique accroît soudain la vitesse de la bicyclette. Ainsi, la désactivation chimique du tonus inhibiteur de l'HbL produit immédiatement une grande libération dopaminergique au niveau de la voie mésolimbique dopaminergique, un phénomène qui corrèle avec une augmentation de la locomotion [146]. Inversement, la stimulation électrique ou l'injection locale d'AMPA

dans l'HbL produit une diminution significative de la dopamine du noyau accumbens [146]. Cependant, nos résultats démontrent que la lésion de l'HbL n'altère pas la locomotion spontanée. En effet, nos données démontrent que les taux de locomotion spontanée n'ont pas varié sous l'effet d'une lésion neurotoxique de l'HbL. Ces résultats corroborent l'observation que le niveau basal d'activité des neurones dopaminergiques demeure inchangé suite à une lésion du fasciculus retroflexus [11]. Dans notre exemple, le cycliste qui perd l'usage des freins peut apprendre à rouler à la même vitesse qu'auparavant avec un moindre effort sur les pédales. Si deux cyclistes roulent à la même vitesse, nous ne pourrions les distinguer sur la simple base de leur vitesse apparente. Il faudra les mettre dans une situation où l'usage des freins est nécessaire.

Tout d'abord, nos résultats sont suggestifs d'une hypersensibilité du substrat responsable l'activation psychomotrice, puisque l'effet des lésions sur la locomotion ne s'est révélé qu'après un traitement à l'amphétamine. Un site possible de cette hypersensibilité peut être les circuits synaptiques du noyau accumbens, hautement impliqués dans l'effet psychomoteur des psychostimulants. En effet, des lésions électrolytiques bilatérales de l'habenula altèrent la neuroplasticité des terminaisons glutamatergiques enregistrées dans le noyau accumbens [190]. Plus spécifiquement, une lésion de l'HbL amplifie les dépressions synaptiques à long terme dans le noyau accumbens suite à une stimulation à basse fréquence de ses afférences hippocampiques [190]. Lecourtier (2006) émet l'hypothèse qu'une régulation positive de la dopamine dans le noyau accumbens, secondaire à une lésion habenulaire, altère l'excitabilité des neurones du noyau accumbens. En effet, une dépression de l'activité synaptique s'observe sur des

préparations *in vitro* du noyau accumbens suite à l'administration d'un psychostimulant ou d'un agoniste dopaminergique [191, 192]. La dépression des synapses excitatrices du noyau accumbens a d'autant plus été associée à la sensibilisation de la réponse de locomotion observée suivant des traitements répétés à l'amphétamine [193].

Une autre hypothèse en accord avec les présents résultats est d'ordre fonctionnel. Une lésion de l'HbL produit un effet additif sur la locomotion possiblement par la perte d'une rétroaction normalement présente lors de l'administration d'amphétamine. L'effet de l'amphétamine sur la locomotion est semblable à l'effet d'une pente descendante sur la vitesse d'un vélo. Plus la pente est inclinée plus la rétroaction est forte et plus les freins sont nécessaires pour contrôler la vitesse du vélo. Ainsi, l'administration d'amphétamine produit une relâche de dopamine qui non seulement stimule les cellules postsynaptiques, mais qui stimule aussi les autorécepteurs des cellules dopaminergiques; ce qui produit chez ces neurones une hyperpolarisation. Certains indices suggèrent que l'HbL contribuerait aussi à réguler négativement la voie mésolimbique dopaminergique lors d'une administration d'amphétamine. En effet, l'inhibition des neurones dopaminergiques est atténuée lors d'un blocage pharmacologique de la transmission axonale le long du fasciculus retroflexus [145]. En outre, l'expression du gène *FOS* confirme que l'activité neuronale est augmentée dans l'HbL sous l'effet de l'amphétamine [159]. L'HbL activée servirait donc de freins supplémentaires sur les neurones dopaminergiques. La dysfonction de ces freins se fera donc sentir dans une pente plus inclinée, soit à de fortes doses d'amphétamine. Ainsi, la présente expérience montre que la désinhibition la plus prononcée de la voie mésolimbique dopaminergique se produit à la dose de 1,0 mg/kg plutôt que 0,5 mg/kg. En somme, nos

résultats suggèrent que l'HbL contribue à l'inhibition active des neurones dopaminergiques lors d'un traitement avec l'amphétamine et que la suppression de cette inhibition potentialise la réponse de locomotion aux psychostimulants.

Notre étude ne peut confirmer l'identification de la source située en amont de l'HbL qui déclencherait la rétroaction négative des cellules de l'ATV lors de l'administration d'un psychostimulant. Cette rétroaction peut provenir de l'activation directe des récepteurs dopaminergiques de l'HbL provoquée par l'amphétamine. En effet, l'HbL est un site qui reçoit des projections dopaminergiques de l'ATV, mais le rôle fonctionnel de cette projection demeure encore incertain [109]. Les sites projetant à l'HbL par la stria medullaris peuvent potentiellement activer l'HbL et induire une inhibition de la voie mésolimbique dopaminergique. En effet, le blocage de la transmission neuronale dans la stria medullaris réduit l'inhibition des cellules dopaminergiques en présence d'un dérivé amphétaminique [145]. Cela suggère qu'une afférence de l'habenula (ou encore des fibres de passages) permettent de moduler la réponse des neurones dopaminergiques de l'ATV aux psychostimulants. Plusieurs indices indiquent que cette afférence habenulaire proviendrait des ganglions de la base, soit un important champ terminal des voies dopaminergiques mésolimbique et nigrostriée. À preuve, les changements de l'activité métabolique observable dans l'HbL suite à l'administration de L-DOPA disparaissent suite à une lésion striatale du côté ipsilatérale [194] et l'injection intrastriatale de dopamine est suffisante pour modifier l'activité métabolique de l'HbL [195]. Ces résultats suggèrent que les changements d'activité neuronale dans l'habenula pourraient dépendre de l'activité dopaminergique dans les ganglions de la base. La modulation de l'HbL pourrait aussi



provenir de ses afférences du pallidum ventral. Cette dernière région reçoit une importante innervation du noyau accumbens [196] et joue un rôle fonctionnel important dans l'activation psychomotrice. En effet, des injections locales d'un agoniste des récepteurs opioïdes  $\mu$  (DAMGO) ou d'un antagoniste des récepteurs GABA<sub>A</sub> (bicuculline) dans le pallidum ventral produisent une hyperlocomotion [197]. Qui plus est, la locomotion induite par la modulation pharmacologique du pallidum ventral dépend directement de la voie mésolimbique dopaminergique, puisqu'elle est peut être bloquée par l'injection d'agoniste GABAergique (muscimol) dans l'ATV [198]. Étant donné sa connectivité avec les ganglions de la base et sa fonction de régulation sur l'ATV, l'HbL apparaît comme un relai participant au phénomène de locomotion induite par les psychostimulants.

En résumé, une voie possible pouvant être impliquée dans la réponse exagérée l'amphétamine des animaux lésés pourrait impliquer le noyau accumbens et l'ensemble du striatum. Le noyau accumbens projette au pallidum ventral, qui projette à l'HbL. L'HbL serait ainsi recrutée pour exercer une inhibition rétroactive des neurones dopaminergiques via le RMTg, une région riche en cellules GABAergiques qui innervent l'ATV. L'ensemble de ce circuit contrôlerait la magnitude de l'activation psychomotrice produite par l'amphétamine.

À l'opposé dans l'ASIC, l'effet de l'amphétamine sur la récompense n'a pas été altéré par une lésion préalable de l'HbL. Les doses d'amphétamine administrées lors de notre expérience ont augmenté l'effet de récompense, tant chez les rats lésés que les rats du groupe contrôle. La magnitude de ces effets était comparable aux résultats obtenus par d'autres laboratoires utilisant des techniques similaires [187]. En comparant les seuils de

récompense, aucune différence ne transparaît entre les groupes lésés et non lésés à l'HbL. Pour les deux groupes de sujets, l'amphétamine a abaissé également les seuils de récompense d'environ 40% pour la dose de 1,0 mg/kg d'amphétamine et d'environ 20 % pour la dose de 0,5 mg/kg. Ainsi, l'injection d'acide iboténique dans l'HbL n'a pas altéré l'effet de l'amphétamine sur la récompense, peu importe la dose d'amphétamine employée ou le temps suivant l'injection de la drogue. Ce résultat contraste avec la potentialisation de la locomotion amphétaminique lors d'une lésion habénulaire.

Nos résultats reproduisent une dissociation déjà observée des effets de récompense et de locomotion de l'amphétamine. Par exemple, l'administration chronique d'amphétamine potentialise la réponse psychomotrice induite par l'amphétamine après une période d'abstinence, mais n'altère pas les seuils de récompense de l'ASIC [176]. L'hyperdopaminergisme produit par lésion néonatale de l'hippocampe produit une dissociation, car l'amphétamine provoque dans cette condition une plus grande réponse psychomotrice sans altérer la récompense [199]. Dans la présente expérience, une lésion habénulaire altère aussi différenciellement l'activation psychomotrice et la facilitation de la récompense produite par l'amphétamine. Ces résultats suggèrent que les substrats cérébraux responsables de l'activation psychomotrice sont fonctionnellement dissociables de ceux modulant la récompense et que ces substrats sont différemment sensibles à la modulation issue de l'HbL.

L'absence d'effet d'une lésion de l'HbL au niveau de la facilitation amphétaminique de la récompense concorde avec les observations neurocomportementales faites chez le primate. En effet, l'HbL semble beaucoup moins impliquée dans la réponse aux

récompenses, qu'à la réponse à l'*omission* d'une récompense (récompense négative) [13]. Dans ces études, des primates ont appris que la position d'un stimulus pouvait prédire l'occurrence d'une récompense. Lorsqu'un stimulus prédit une récompense, la survenue de la récompense active les neurones dopaminergiques et son omission les inhibe [200]. Dans la situation d'une omission d'une récompense, les neurones de l'HbL sont fortement activés au moment où la récompense devrait se produire [200]. Le rapport temporel entre l'activation des cellules de l'HbL et l'inhibition des cellules dopaminergiques indique que l'HbL est la source de cette inhibition [13, 14]. Lors de la présentation d'une récompense l'inverse se produit : les cellules habenulaires sont inhibées et les cellules dopaminergiques sont activées [13, 14]. Toutefois, l'intervalle de temps qui sépare l'inhibition des cellules habenulaires et l'activation des cellules dopaminergiques ne permet pas d'inférer une relation causale entre ces deux phénomènes. En somme, l'HbL semble jouer un rôle critique dans l'absence d'une récompense prédite, mais son rôle demeure secondaire lors de la présentation d'une récompense.

Dans l'ASIC, le comportement est mesuré uniquement lorsque les récompenses sont présentes et toujours dans un contexte où ces récompenses sont contingentes à la même réponse du rat. Le système dopaminergique se trouve donc constamment recruté par les circuits stimulés par les pulsions électriques intracérébrales [201]. Or, l'HbL est principalement impliquée par le processus contraire, soit une diminution de la récompense prédite [13]. L'administration d'amphétamine produit tout juste le contraire d'une omission de récompense : elle potentialise l'effet de récompense des stimulations intracérébrales. Dans ces conditions, l'HbL n'exercerait donc pas d'inhibition sur les cellules

dopaminergiques. Par conséquent, l'élimination des corps cellulaires de l'HbL avec de l'acide iboténique ne nous permet pas d'observer d'influence de cette structure sur l'ASIC, ce qui s'explique théoriquement car l'HbL ne serait pas activée par la présentation de récompenses positives.

Tout comme l'ASIC, l'autoadministration est un paradigme de conditionnement opérant où un rat apprend à appuyer sur un levier pour obtenir une injection de drogue. Dans ce paradigme aussi, la récompense est toujours prédite par le comportement. Dans les faits, une lésion habénulaire neurotoxique n'affecte pas les mesures associées à l'autoadministration d'héroïne, n'influençant ni les taux de réponses, ni le point de rupture pour lequel les rats sont prêts à travailler pour obtenir une récompense [202]. Ces expériences démontrent qu'une lésion de l'HbL ne semble pas potentialiser l'activité de la voie mésolimbique dopaminergique relativement au processus de récompense positive.

Une lésion de l'HbL affecterait donc uniquement les comportements liés à la dopamine lorsque l'HbL est impliquée fonctionnellement au contrôle de ce comportement via une inhibition de la voie mésolimbique dopaminergique. Cela est vérifiable lors d'une absence de récompense dans le paradigme d'autoadministration [203, 204] et lors du contrôle de l'impulsivité dans le paradigme de la tâche de réactions aux cinq choix en série [14]. Ainsi, une lésion de l'HbL affecte les comportements d'extinction dans le paradigme d'autoadministration du sucrose [204] et de la cocaïne [203]. Les animaux lésés à l'HbL persistent à appuyer sur le levier en dépit de l'absence de récompense [203, 204]. L'inhibition du système dopaminergique semble aussi importante au contrôle de l'impulsivité chez le rongeur. En effet, l'administration d'amphétamine produit une

impulsivité mesurable dans la tâche de réaction aux cinq choix en série [171]. Dans l'étude de Lecourtier (2005), la désinhibition du système dopaminergique induit par une lésion habenulaire entraîne aussi une impulsivité dans cette tâche comportementale. Dans les situations où l'action motrice devrait être inhibée, les rats lésés à l'HbL démontrent une plus grande difficulté à retenir leurs mouvements devant les ouvertures où la nourriture est distribuée, un comportement d'impulsivité atténué par l'administration d'halopéridol [170]. Cette impulsivité produite par une lésion de l'HbL semble être le fruit d'une activation psychomotrice beaucoup moins inhibée. Ainsi, dans une tâche d'autoadministration, la lésion à l'HbL augmente les taux de réponses lors des premières sessions non seulement pour le levier produisant une administration d'héroïne, mais aussi pour le levier qui ne produit aucune administration [202], un phénomène explicable par une impulsivité accrue. Les rats lésés à l'HbL augmentent leur nombre d'appuis indistinctement sur tous les leviers. Par conséquent, la lésion habenulaire semble simplement augmenter l'activation psychomotrice du rat, sans potentialiser spécifiquement le comportement dirigé vers la récompense. Incidemment, dans notre étude d'ASIC, nos résultats démontrent aussi une augmentation des taux de réponses maximaux (valeur des taux de réponses asymptotiques) de l'ASIC avec une dose de 0,5 mg/kg d'amphétamine, un phénomène possiblement expliqué par la plus grande impulsivité motrice des rats lésés à l'HbL (l'amphétamine 0.5 mg/kg n'a pas augmenté en soit les asymptotes des rats non-lésés). Dans l'ensemble, nos résultats corroborent donc le récent modèle théorique d'Hikosaka qui attribue à l'HbL un rôle fonctionnel d'inhibition psychomotrice [205].

Les cellules dopaminergiques du mésencéphale reçoivent une grande variété d'afférences [87, 88]. De ce fait, Il est possible que des neurones dopaminergiques impliqués dans la locomotion reçoivent une innervation différente des neurones dopaminergiques impliqués dans la récompense. L'HbL représente donc une structure cérébrale qui innoverait différenciellement les neurones dopaminergiques selon leur fonction comportementale. À cet égard, de récentes données suggèrent que seule une sous-population de neurones dopaminergiques ont une activité compatible avec une innervation provenant de l'HbL [206]. Bien que les cellules dopaminergiques répondent de façon homogène aux stimuli prédictifs d'une récompense [207], elles réagissent de manière hétérogène à des stimuli prédictifs d'un événement aversif [206]. Comme mentionné précédemment, la réponse aux stimuli associés à une récompense est une réponse probablement indépendante de l'HbL [13]. Dans la réponse aux stimuli associés à un événement aversif, un sous-groupe de neurones dopaminergiques est inhibé alors qu'un autre est activé. Les neurones inhibés par la prédiction d'un événement aversif correspondent aux mêmes neurones inhibés par l'omission d'une récompense prédite [206]. Comme l'inhibition associée à une omission de récompense est attribuable à l'activation habenulaire [13, 208], il est possible de croire que l'HbL est la source de l'inhibition d'une sous-population de neurones dopaminergiques lors de la prédiction d'un événement aversif, mais cela reste à être confirmé. En contrepartie, les neurones dopaminergiques dont l'activation ne discrimine pas la prédiction d'une récompense et d'un stimulus aversif demeurent insensibles à l'omission d'une récompense [206]. Ces neurones dopaminergiques sont probablement soumis à un contrôle habenulaire moins

significatif. En somme, ces résultats laissent entrevoir que l'HbL ne participerait que subsidiairement à l'activité associée à la valence positive des stimuli, mais contribuerait significativement à la réponse des stimuli dont la valence motivationnelle est négative. Ainsi, une lésion de l'HbL n'a pas d'impact sur un comportement dont l'issue est une récompense (valence positive), mais dans le cas de la locomotion, une lésion de l'HbL lui révèle un rôle d'inhibition psychomotrice.

Il demeure probable que la sous-population de neurones dopaminergiques sous le contrôle de l'HbL projette à des aires terminales différentes de la voie mésolimbique dopaminergique. Il existe effectivement une hétérogénéité fonctionnelle entre les aires de projections de la voie mésolimbique. Ainsi, une lésion des terminaisons dopaminergiques circonscrites au *core* du noyau accumbens atténue la locomotion sans altérer l'effet de récompense de l'amphétamine dans un paradigme de préférence de place conditionnée [175]. À l'inverse, une lésion du *shell* du noyau accumbens produit une diminution de la récompense mesurée dans le paradigme de préférence de place conditionnée tout en préservant l'effet psychomoteur induit par l'amphétamine [175]. Des résultats similaires sont obtenus avec la nicotine [209], une substance activant indirectement la voie mésolimbique dopaminergique [23]. Il est donc concevable que les cellules dopaminergiques projetant au *core* du noyau accumbens reçoivent une modulation habenulaire plus importante que les cellules projetant au *shell*. Il faudrait donc examiner si les cellules dopaminergiques identifiées par leur sensibilité à la stimulation habenulaire projettent à des aires du striatum différenciellement impliquées dans l'activation psychomotrice et la récompense.

En conclusion, nos résultats démontrent qu'une lésion de l'HbL augmente l'activation psychomotrice induite par l'amphétamine, mais n'altère pas l'amplification amphétaminique de la récompense. Ces résultats convergent avec les données électrophysiologiques et comportementales déjà existantes qui lient les fonctions de l'HbL à la régulation négative de la voie dopaminergique mésolimbique. Les résultats différents obtenus dans la locomotion et la récompense peuvent s'expliquer par un contrôle différentiel provenant de l'HbL au niveau des neurones dopaminergiques de l'ATV. Dans ce schème, le phénomène de locomotion dépendrait de neurones dopaminergiques normalement sous le contrôle inhibiteur de l'HbL, alors que l'implication des neurones dopaminergiques dans l'ASIC serait indépendante du contrôle de l'HbL. Par son rôle inhibiteur associé à la valence négative des stimuli externes, l'HbL représente une structure clé dans notre compréhension des comportements dirigés, de leur apprentissage, leur exécution et de leur maintien. Par le fait même, l'approfondissement de nos connaissances sur l'HbL est porteur de promesses quant à notre compréhension de pathologies psychiatriques impliquant la voie mésolimbique dopaminergique, telle que les troubles de la dépendance et la schizophrénie.



## 4. RÉFÉRENCES

1. Bergman, R.A., A.K. Afifi, and P.M. Heidger. *Atlas of Microscopic Anatomy* Appendix V: Nervous System Glossary of Terms 2010 2010 [cited 10 mai 2010 2010]; Available from: <http://www.anatomyatlases.org/>
2. Bianco, I.H. and S.W. Wilson, *The habenular nuclei: a conserved asymmetric relay station in the vertebrate brain*. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2009. **364**(1519): p. 1005-20.
3. Iwahori, N., K. Nakamura, and S. Kameda, *A Golgi study on the neuronal organization of the habenular ganglion in the red stingray, *Dasyatis akajei**. Okajimas Folia Anat Jpn, 1991. **68**(2-3): p. 135-44.
4. Kemali, M. and E. Sada, *Histology and ultrastructure of the dorsal habenular nuclei of the frog*. Z Mikrosk Anat Forsch, 1974. **88**(1): p. 167-76.
5. Altman, J. and S.A. Bayer, *Development of the diencephalon in the rat. IV. Quantitative study of the time of origin of neurons and the internuclear chronological gradients in the thalamus*. J Comp Neurol, 1979. **188**(3): p. 455-71.
6. Herkenham, M. and W.J. Nauta, *Afferent connections of the habenular nuclei in the rat. A horseradish peroxidase study, with a note on the fiber-of-passage problem*. J Comp Neurol, 1977. **173**(1): p. 123-46.

7. Herkenham, M. and W.J. Nauta, *Efferent connections of the habenular nuclei in the rat*. J Comp Neurol, 1979. **187**(1): p. 19-47.
8. Wise, R.A., *Brain reward circuitry: insights from unsensed incentives*. Neuron, 2002. **36**(2): p. 229-40.
9. Sandyk, R., *Relevance of the habenular complex to neuropsychiatry: a review and hypothesis*. Int J Neurosci, 1991. **61**(3-4): p. 189-219.
10. Omelchenko, N., et al., *Lateral habenula projections to dopamine and GABA neurons in the rat ventral tegmental area*. Eur J Neurosci, 2009. **30**(7): p. 1239-50.
11. Ji, H. and P.D. Shepard, *Lateral habenula stimulation inhibits rat midbrain dopamine neurons through a GABA(A) receptor-mediated mechanism*. J Neurosci, 2007. **27**(26): p. 6923-30.
12. Christoph, G.R., R.J. Leonzio, and K.S. Wilcox, *Stimulation of the lateral habenula inhibits dopamine-containing neurons in the substantia nigra and ventral tegmental area of the rat*. J Neurosci, 1986. **6**(3): p. 613-9.
13. Matsumoto, M. and O. Hikosaka, *Lateral habenula as a source of negative reward signals in dopamine neurons*. Nature, 2007. **447**(7148): p. 1111-5.
14. Matsumoto, M. and O. Hikosaka, *Representation of negative motivational value in the primate lateral habenula*. Nat Neurosci, 2009. **12**(1): p. 77-84.

15. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. Fourth Edition, Text Revision ed2000, Washington, DC: American Psychiatric Association.
16. Rehm, J., et al., *The costs of substance abuse in Canada 2002: Highlights*, 2006, Canadian Center on Substance Abuse: Ottawa.
17. Nesse, R.M. and K.C. Berridge, *Psychoactive drug use in evolutionary perspective*. *Science*, 1997. **278**(5335): p. 63-66.
18. Teitelbaum, P. and A.N. Epstein, *The lateral hypothalamic syndrome: Recovery of feeding and drinking after lateral hypothalamic lesions*. *Psychol Rev*, 1962. **69**: p. 74-90.
19. Ungerstedt, U., *Adipsia and aphagia after 6-hydroxydopamine induced degeneration of the nigro-striatal dopamine system*. *Acta Physiol Scand Suppl*, 1971. **367**: p. 95-122.
20. Fibiger, H.C., A.P. Zis, and E.G. McGeer, *Feeding and drinking deficits after 6-hydroxydopamine administration in the rat: similarities to the lateral hypothalamic syndrome*. *Brain Res*, 1973. **55**: p. 135-148.
21. Carlsson, A., et al., *On the presence of 3-hydroxytyramine in brain*. *Science*, 1958. **127**(3296): p. 471.

22. Carboni, E., et al., *Amphetamine, cocaine, phencyclidine and nomifensine increase extracellular dopamine concentrations preferentially in the nucleus accumbens of freely moving rats*. *Neuroscience*, 1989. **28**(3): p. 653-61.
23. Di Chiara, G. and A. Imperato, *Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1988. **85**: p. 5274-5278.
24. Wise, R.A. and M.A. Bozarth, *A psychomotor stimulant theory of addiction*. *Psychol Rev*, 1987. **94**(4): p. 469-92.
25. Bindra, D., *A motivational view of learning, performance, and behavior modification*. *Psychol Rev*, 1974. **81**(3): p. 199-213.
26. Pavlov, I.P., *Réflexes conditionnées*. Les classiques de la médecine. 1927, Paris: Masson. 465.
27. Wise, R.A. and P.P. Rompre, *Brain dopamine and reward*. *Annu Rev Psychol*, 1989. **40**: p. 191-225.
28. Geyer, M.A., et al., *Effects of Apomorphine and amphetamine on patterns of locomotor and investigatory behavior in rats*. *Pharmacol Biochem Behav*, 1987. **28**: p. 393-399.

29. Kuczenski, R. and D.S. Segal, *In vivo measures of monoamines during amphetamine-induced behaviors in rats*. Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiat, 1991. **14**: p. S37-S50.
30. Fray, P.J., et al., *An observational method for quantifying the behavioural effects of dopamine agonists: contrasting effects of d-amphetamine and apomorphine*. Psychopharmacology (Berl), 1980. **69**(3): p. 253-9.
31. Schiorring, E., *Amphetamine induced selective stimulation of certain behaviour items with concurrent inhibition of others in an open-field test with rats*. Behaviour, 1971. **39**: p. 1-16.
32. Iversen, S.D., et al., *Proceedings: Amphetamine and apomorphine responses in the rat after lesion of mesolimbic or striatal dopamine neurones*. Br J Pharmacol, 1975. **54**(2): p. 244P.
33. Kelly, P.H., P.W. Seviour, and S.D. Iversen, *Amphetamine and apomorphine responses in the rat following 6-OHDA lesions of the nucleus accumbens septi and corpus striatum*. Brain Res, 1975. **94**(3): p. 507-22.
34. Pijnenburg, A.J., W.M. Honig, and J.M. Van Rossum, *Inhibition of d-amphetamine-induced locomotor activity by injection of haloperidol into the nucleus accumbens of the rat*. Psychopharmacologia, 1975. **41**(2): p. 87-95.
35. Pijnenburg, A.J., et al., *Effects of chemical stimulation of the mesolimbic dopamine system upon locomotor activity*. Eur J Pharmacol, 1976. **35**(1): p. 45-58.

36. Pijnenburg, A.J., W.M. Honig, and J.M. Van Rossum, *Effects of antagonists upon locomotor stimulation induced by injection of dopamine and Noradrenaline into the nucleus accumbens of nialamide-pretreated rats*. *Psychopharmacologia*, 1975. **41**(2): p. 175-80.
37. Bunney, B.S., et al., *Dopaminergic neurons: effect of antipsychotic drugs and amphetamine on single cell activity*. *J Pharmacol Exp Ther*, 1973. **185**(3): p. 560-71.
38. Joyce, E.M. and S.D. Iversen, *The effect of morphine applied locally to mesencephalic dopamine cell bodies on spontaneous motor activity in the rat*. *Neurosci Lett*, 1979. **14**: p. 207-212.
39. Holmes, L.J. and R.A. Wise, *Contralateral circling induced by tegmental morphine: anatomical localization, pharmacological specificity, and phenomenology*. *Brain Res*, 1985. **326**(1): p. 19-26.
40. Lacey, M.G., N.B. Mercuri, and R.A. North, *Two cells types in the rat substantia nigra zona compacta distinguished by membrane properties and the actions of dopamine and opioids*. *J Neurosci*, 1989. **9**: p. 1233-1241.
41. Matthews, R.T. and D.C. German, *Electrophysiological evidence for excitation of rat ventral tegmental area dopamine neurons by morphine*. *Neuroscience*, 1984. **11**: p. 617-625.

42. Di Chiara, G. and A. Imperato, *Opposite effects of mu and kappa opiate agonists on dopamine release in the nucleus accumbens and in the dorsal caudate of freely moving rats*. J Pharmacol Exp Ther, 1988. **244**: p. 1067-1080.
43. Anden, N.E., et al., Acta Pharmacol Toxicol, 1966. **24**(263-274).
44. Ungerstedt, U. and G.W. Arbuthnott, Brain Res, 1970. **24**: p. 485-493.
45. Bozarth, M.A. and R.A. Wise, *Involvement of the ventral tegmental dopamine system in opioid and psychomotor stimulant reinforcement*. NIDA Res Monogr, 1986. **67**: p. 190-6.
46. Wise, R.A. and L.J. Holmes, *Circling from unilateral VTA morphine: direction is controlled by environmental stimuli*. Brain Res Bull, 1986. **16**(2): p. 267-9.
47. Wise, R.A., *Dopamine, learning and motivation*. Nature Reviews Neuroscience, 2004. **5**: p. 1-12.
48. Edmonds, D.E., J.R. Stellar, and C.R. Gallistel, *Parametric analysis of brain stimulation reward in the rat: II. Temporal summation in the reward system*. J Comp Physiol Psychol, 1974. **87**(5): p. 860-9.
49. Skinner, B.F., *The behavior of organisms: An experimental analysis*. 1938, New York: Appleton-Century-Crofts.

50. Yokel, R.A. and R.A. Wise, *Attenuation of intravenous amphetamine reinforcement by central dopamine blockade in rats*. *Psychopharmacology (Berl)*, 1976. **48**(3): p. 311-8.
51. Yokel, R.A. and R.A. Wise, *Increased lever pressing for amphetamine after pimozide in rats: implications for a dopamine theory of reward*. *Science*, 1975. **187**: p. 547-549.
52. Fletcher, P.J., *A comparison of the effects of risperidone, raclopride, and ritanserin on intravenous self-administration of d-amphetamine*. *Pharmacol Biochem Behav*, 1998. **60**(1): p. 55-60.
53. Hoebel, B.G., et al., *Self-Injection of amphetamine directly into the brain*. *Psychopharmacology*, 1983. **81**: p. 158-193.
54. Roberts, D.C.S. and K.A. Zito, *Interpretation of lesion effects on stimulant self-administration*, in *Methods of assessing the reinforcing properties of abused drugs*, M.A. Bozarth, Editor 1987, Springer-Verlag: New York. p. 87-104.
55. Roberts, D.C., M.E. Corcoran, and H.C. Fibiger, *On the role of ascending catecholaminergic systems in intravenous self-administration of cocaine*. *Pharmacol Biochem Behav*, 1977. **6**: p. 615-620.
56. Roberts, D.C.S., et al., *Extinction and recovery of cocaine self-administration following 6-hydroxydopamine lesions of the nucleus accumbens*. *Pharmacol Biochem Behav*, 1980. **12**: p. 781-787.



57. Roberts, D.C.S. and G.F. Koob, *Disruption of cocaine self-administration following 6-hydroxydopamine lesions of the ventral tegmental area in rats*. Pharmacol Biochem Behav, 1982. **17**: p. 901-904.
58. Goeders, N.E. and J.E. Smith, *Cortical dopaminergic involvement in cocaine reinforcement*. Science, 1983. **221**(4612): p. 773-5.
59. Wise, R.A. and H.V. Scharz, *Pimozide attenuates acquisition of lever pressing for food in rats*. Pharmacol Biochem Behav, 1981. **15**(655-656).
60. Gerber, G.J., J. Sing, and R.A. Wise, *Pimozide attenuates lever pressing for water reinforcement in rats*. Pharmacol Biochem Behav, 1981. **14**: p. 201-205.
61. Wise, R.A., et al., *Neuroleptic-induced 'anhedonia' in rats: pimozide blocks reward quality of food*. Science, 1978. **201**: p. 262-264.
62. Franklin, K.B.J. and S.N. McCoy, *Pimozide-induced extinction in rats: stimulus control of responding rules out motor deficit*. Pharmacol Biochem Behav, 1979. **11**: p. 71-75.
63. Tzschentke, T.M., *Measuring reward with the conditioned place preference (CPP) paradigm: update of the last decade*. Addict Biol, 2007. **12**(3-4): p. 227-462.
64. Spyrali, C., H.C. Fibiger, and A.G. Phillips, *Dopaminergic substrates of amphetamine-induced place preference conditioning*. Brain Res, 1982. **253**(1-2): p. 185-93.

65. Carr, G.D. and N.M. White, *Conditioned place preference from intra-accumbens but not intra-caudate amphetamine injections*. Life Sci, 1983. **33**: p. 2551-2557.
66. Tsai, H.C., et al., *Phasic firing in dopaminergic neurons is sufficient for behavioral conditioning*. Science, 2009. **324**(5930): p. 1080-4.
67. Taylor, J.R. and T.W. Robbins, *Enhanced behavioural control by conditioned reinforcers following microinjections of d-amphetamine into the nucleus accumbens*. Psychopharmacology (Berl), 1984. **84**(3): p. 405-12.
68. Olds, J. and P. Milner, *Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain*. J Comp Physiol Psychol, 1954. **47**(6): p. 419-27.
69. Olds, J. and M.E. Olds, *Positive reinforcement produced by stimulating hypothalamus with iproniazid and other compounds*. Science, 1958. **127**(3307): p. 1175-6.
70. Olds, J., *Self-stimulation of the brain; its use to study local effects of hunger, sex, and drugs*. Science, 1958. **127**(3294): p. 315-24.
71. Olds, M.E. and J. Olds, *Approach-avoidance analysis of rat diencephalon*. J Comp Neurol, 1963. **120**: p. 259-95.

72. Corbett, D. and R.A. Wise, *Intracranial self-stimulation in relation to the ascending dopaminergic systems of the midbrain: a moveable electrode mapping study*. Brain Res, 1980. **185**(1): p. 1-15.
73. Rompre, P.P. and S. Boye, *Localization of reward-relevant neurons in the pontine tegmentum: a moveable electrode mapping study*. Brain Res, 1989. **496**(1-2): p. 295-302.
74. Rompre, P.P. and E. Miliareisis, *Pontine and mesencephalic substrates of self-stimulation*. Brain Res, 1985. **359**(1-2): p. 246-59.
75. Carter, D.A. and A.G. Phillips, *Intracranial self-stimulation at sites in the dorsal medulla oblongata*. Brain Res, 1975. **94**(1): p. 155-60.
76. Phillips, A.G. and G.J. Mogenson, *Self-stimulation of the olfactory bulb*. Physiol Behav, 1969. **4**.
77. Trzcinska, M. and C. Bielajew, *Behaviourally derived estimates of excitability in striatal and medial prefrontal cortical self-stimulation sites*. Behav Brain Res, 1992. **48**(1): p. 1-8.
78. Shizgal, P., et al., *Behavioral methods for inferring anatomical linkage between rewarding brain stimulation sites*. J Comp Physiol Psychol, 1980. **94**(2): p. 227-37.
79. Franklin, K.B.J., *Catecholamines and self-stimulation: Reward and performance effects dissociated*. Pharmacol Biochem Behav, 1978. **9**: p. 813-820.

80. Gallistel, C.R. and D. Karras, *Pimozide and amphetamine have opposing effects on the reward summation function*. *Pharmacol Biochem Behav*, 1984. **20**(1): p. 73-7.
81. Colle, L.M. and R.A. Wise, *Effects of nucleus accumbens amphetamine on lateral hypothalamic brain stimulation reward*. *Brain Res*, 1988. **459**(2): p. 361-8.
82. Stellar, J.R., A.E. Kelley, and D. Corbett, *Effects of peripheral and central dopamine blockade on lateral hypothalamic self-stimulation: evidence for both reward and motor deficits*. *Pharmacol Biochem Behav*, 1983. **18**(3): p. 433-42.
83. Gallistel, C.R., et al., *Does pimozide block the reinforcing effect of brain stimulation?* *Pharmacol Biochem Behav*, 1982. **17**: p. 769-782.
84. Yeomans, J.S., *The absolute refractory periods of self-stimulation neurons*. *Physiol Behav*, 1979. **22**(5): p. 911-9.
85. Yeomans, J.S., N.T. Maidment, and B.S. Bunney, *Excitability properties of medial forebrain bundle axons of A9 and A10 dopamine cells*. *Brain Res*, 1988. **450**(1-2): p. 86-93.
86. Moisan, J. and P.P. Rompre, *Electrophysiological evidence that a subset of midbrain dopamine neurons integrate the reward signal induced by electrical stimulation of the posterior mesencephalon*. *Brain Res*, 1998. **786**(1-2): p. 143-52.
87. Oades, R.D. and G.M. Halliday, *Ventral tegmental (A10) system: neurobiology. 1. Anatomy and connectivity*. *Brain Res*, 1987. **434**(2): p. 117-65.

88. Geisler, S. and D.S. Zahm, *Afferents of the Ventral Tegmental Area in the Rat-Anatomical Substratum for Integrative Functions*. The Journal of Comparative Neurology, 2005. **490**: p. 270-294.
89. Omelchenko, N. and S.R. Sesack, *Glutamate synaptic inputs to ventral tegmental area neurons in the rat derive primarily from subcortical sources*. Neuroscience, 2007. **146**(3): p. 1259-74.
90. Geisler, S., et al., *Glutamatergic Afferents of the Ventral Tegmental Area in the Rat*. The Journal of Neuroscience, 2007. **27**(21): p. 5730-5743.
91. Geisler, S. and M. Trimble, *The lateral habenula: no longer neglected*. CNS Spectr, 2008. **13**(6): p. 484-9.
92. Sutherland, R.J., *The dorsal diencephalic conduction system: a review of the anatomy and functions of the habenular complex*. Neurosci Biobehav Rev, 1982. **6**(1): p. 1-13.
93. Iwahori, N., *A Golgi study on the habenular nucleus of the cat*. J Comp Neurol, 1977. **72**(3): p. 319-44.
94. Nauta, W.J., *Hippocampal projections and related neural pathways to the midbrain in the cat*. Brain, 1958. **81**(3): p. 319-40.
95. Cragg, B.G., *The connections of the habenula in the rabbit*. Exp Neurol, 1961. **3**: p. 388-409.

96. Powell, E.W. and D.F. Hoelle, *Septotectal projections in the cat*. Exp Neurol, 1967. **18**(2): p. 177-83.
97. Andres, K.H., M. von Doring, and R.W. Veh, *Subnuclear organization of the rat habenular complexes*. J Comp Neurol, 1999. **407**(1): p. 130-50.
98. Geisler, S., K.H. Andres, and R.W. Veh, *Morphologic and cytochemical criteria for the identification and delineation of individual subnuclei within the lateral habenular complex of the rat*. J Comp Neurol, 2003. **458**(1): p. 78-97.
99. Houser, C.R., et al., *Organization and morphological characteristics of cholinergic neurons: an immunocytochemical study with a monoclonal antibody to choline acetyltransferase*. Brain Res, 1983. **266**(1): p. 97-119.
100. Cuello, A.C., et al., *Substance P containing and cholinergic projections from the habenula*. Brain Res, 1978. **149**(2): p. 413-29.
101. Brinschwitz, K., et al., *Glutamatergic axons from the lateral habenula mainly terminate on GABAergic neurons of the ventral midbrain*. Neuroscience, 2010.
102. Kim, U. and S.Y. Chang, *Dendritic morphology, local circuitry, and intrinsic electrophysiology of neurons in the rat medial and lateral habenular nuclei of the epithalamus*. J Comp Neurol, 2005. **483**(2): p. 236-50.
103. Kim, U., *Topographic commissural and descending projections of the habenula in the rat*. J Comp Neurol, 2009. **513**(2): p. 173-87.

104. Paxinos, G. and C. Watson, *The rat brain in stereotaxic coordinates*. 4th edition ed1998, San Diego: Academic Press.
105. Swanson, L.W. and W.M. Cowan, *The connections of the septal region in the rat*. J Comp Neurol, 1979. **186**(4): p. 621-55.
106. Krayniak, P.F., S. Weiner, and A. Siegel, *An analysis of the efferent connections of the septal area in the cat*. Brain Res, 1980. **189**(1): p. 15-29.
107. Conrad, L.C. and D.W. Pfaff, *Connections of the median and dorsal raphe nuclei in the rat: An autoradiograph and degeneration study*. J Comp Neurol, 1974. **156**: p. 179-206.
108. Gottesfeld, Z., *Origin and distribution of noradrenergic innervation in the habenula: a neurochemical study*. Brain Res, 1983. **275**(2): p. 299-304.
109. Phillipson, O.T. and C.J. Pycock, *Dopamine neurones of the ventral tegmentum project to both medial and lateral habenula. Some implications for habenular function*. Exp Brain Res, 1982. **45**(1-2): p. 89-94.
110. Kim, R., et al., *Projections of the globus pallidus and adjacent structures: an autoradiographic study in the monkey*. J Comp Neurol, 1976. **169**(3): p. 263-90.
111. Filion, M. and C. Harnois, *A comparison of projections of entopeduncular neurons to the thalamus, the midbrain and the habenula in the cat*. J Comp Neurol, 1978. **181**(4): p. 763-80.

112. Parent, A., S. Gravel, and R. Boucher, *The origin of forebrain afferents to the habenula in rat, cat and monkey*. Brain Res Bull, 1981. **6**(1): p. 23-38.
113. van der Kooy, D. and D.A. Carter, *The organization of the efferent projections and striatal afferents of the entopeduncular nucleus and adjacent areas in the rat*. Brain Res, 1981. **211**(1): p. 15-36.
114. Haber, S.N., et al., *Efferent connections of the ventral pallidum: evidence of a dual striato pallidofugal pathway*. J Comp Neurol, 1985. **235**(3): p. 322-35.
115. Gottesfeld, Z. and D.M. Jacobowitz, *Further evidence for GABAergic afferents to the lateral habenula*. Brain Res, 1978. **152**(3): p. 609-13.
116. Nagy, J.I., et al., *Evidence for a GABA-containing projection from the entopeduncular nucleus to the lateral habenula in the rat*. Brain Res, 1978. **145**(2): p. 360-4.
117. Kha, H.T., et al., *Study of projections from the entopeduncular nucleus to the thalamus of the rat*. J Comp Neurol, 2000. **426**(3): p. 366-77.
118. Moriizumi, T. and T. Hattori, *Choline acetyltransferase-immunoreactive neurons in the rat entopeduncular nucleus*. Neuroscience, 1992. **46**(3): p. 721-8.
119. Groenewegen, H.J., H.W. Berendse, and S.N. Haber, *Organization of the output of the ventral striatopallidal system in the rat: ventral pallidal efferents*. Neuroscience, 1993. **57**(1): p. 113-42.



120. Zahm, D.S., E. Williams, and C. Wohltmann, *Ventral striatopallidothalamic projection: IV. Relative involvements of neurochemically distinct subterritories in the ventral pallidum and adjacent parts of the rostroventral forebrain*. J Comp Neurol, 1996. **364**: p. 340-362.
121. Li, Y.Q., M. Takada, and N. Mizuno, *Demonstration of habenular neurons which receive afferent fibers from the nucleus accumbens and send their axons to the midbrain periaqueductal gray*. Neurosci Lett, 1993. **158**(1): p. 55-8.
122. Powell, E.W. and R.B. Leman, *Connections of the nucleus accumbens*. Brain Res, 1976. **105**(3): p. 389-403.
123. Swanson, L.W., *An autoradiographic study of the efferent connections of the preoptic region in the rat*. J Comp Neurol, 1976. **167**(2): p. 227-56.
124. Kowski, A.B., et al., *Differential projections from subfields in the lateral preoptic area to the lateral habenular complex of the rat*. J Comp Neurol, 2008. **507**(4): p. 1465-78.
125. Araki, M., P.L. McGeer, and E.G. McGeer, *Retrograde HRP tracing combined with a pharmacohistochemical method for GABA transaminase for the identification of presumptive GABAergic projections to the habenula*. Brain Res, 1984. **304**(2): p. 271-7.
126. Greatrex, R.M. and O.T. Phillipson, *Demonstration of synaptic input from prefrontal cortex to the habenula in the rat*. Brain Res, 1982. **238**(1): p. 192-7.

127. Phillipson, O.T. and A.C. Griffith, *The neurones of origin for the mesohabenular dopamine pathway*. Brain Res, 1980. **197**(1): p. 213-8.
128. Skagerberg, G., O. Lindvall, and A. Bjorklund, *Origin, course and termination of the mesohabenular dopamine pathway in the rat*. Brain Res, 1984. **307**(1-2): p. 99-108.
129. Marchand, E.R., J.N. Riley, and R.Y. Moore, *Interpeduncular nucleus afferents in the rat*. Brain Res, 1980. **193**(2): p. 339-52.
130. Contestabile, A., et al., *Topography of cholinergic and substance P pathways in the habenulo-interpeduncular system of the rat. An immunocytochemical and microchemical approach*. Neuroscience, 1987. **21**(1): p. 253-70.
131. Yamadori, T., *Efferent fibers of the habenula and stria medullaris thalami in rats*. Exp Neurol, 1969. **25**(4): p. 541-58.
132. Bunney, B.S. and G.K. Aghajanian, *The precise localization of nigral afferents in the rat as determined by a retrograde tracing technique*. Brain Res, 1976. **117**(3): p. 423-35.
133. Pasquier, D.A., et al., *Horseradish peroxidase tracing of the lateral habenular-midbrain raphe nuclei connections in the rat*. Brain Res Bull, 1976. **1**(5): p. 443-51.

134. Aghajanian, G.K. and R.Y. Wang, *Habenular and other midbrain raphe afferents demonstrated by a modified retrograde tracing technique*. Brain Res, 1977. **122**(2): p. 229-42.
135. Cornwall, J., J.D. Cooper, and O.T. Phillipson, *Afferent and efferent connections of the laterodorsal tegmental nucleus in the rat*. Brain Res Bull, 1990. **25**(2): p. 271-84.
136. Omelchenko, N., et al., *Lateral habenula projections to dopamine and GABA neurons in the rat ventral tegmental area*
- DeltaFosB accumulates in a GABAergic cell population in the posterior tail of the ventral tegmental area after psychostimulant treatment*
- Hypothalamic arousal regions are activated during modafinil-induced wakefulness*
- Uniform inhibition of dopamine neurons in the ventral tegmental area by aversive stimuli*
- The efferent projections of the rat lateral habenular nucleus revealed by the PHA-L anterograde tracing method*. Eur J Neurosci, 2009. **30**(7): p. 1239-50.
137. Jhou, T.C., et al., *The mesopontine rostromedial tegmental nucleus: A structure targeted by the lateral habenula that projects to the ventral tegmental area of Tsai and substantia nigra compacta*. J Comp Neurol, 2009. **513**(6): p. 566-96.
138. Kaufling, J., et al., *Afferents to the GABAergic tail of the ventral tegmental area in the rat*. J Comp Neurol, 2009. **513**(6): p. 597-621.

139. Scammell, T.E., et al., *Hypothalamic arousal regions are activated during modafinil-induced wakefulness*. J Neurosci, 2000. **20**(22): p. 8620-8.
140. Olson, V.G. and E.J. Nestler, *Topographical organization of GABAergic neurons within the ventral tegmental area of the rat*. Synapse, 2007. **61**: p. 87-95.
141. Jhou, T.C., et al., *The rostromedial tegmental nucleus (RMTg), a GABAergic afferent to midbrain dopamine neurons, encodes aversive stimuli and inhibits motor responses*. Neuron, 2009. **61**(5): p. 786-800.
142. Matsuda, Y. and K. Fujimura, *Action of habenular efferents on ventral tegmental area neurons studied in vitro*. Brain Res Bull, 1992. **28**(5): p. 743-9.
143. Lisoprawski, A., et al., *Selective activation of the mesocortico-frontal dopaminergic neurons induced by lesion of the habenula in the rat*. Brain Res, 1980. **183**(1): p. 229-34.
144. Nishikawa, T. and B. Scatton, *Inhibitory influence of GABA on central serotonergic transmission. Involvement of the habenulo-raphé pathways in the GABAergic inhibition of ascending cerebral serotonergic neurons*. Brain Res, 1985. **331**(1): p. 81-90.
145. Nishikawa, T., D. Fage, and B. Scatton, *Evidence for, and nature of, the tonic inhibitory influence of habenulo-interpeduncular pathways upon cerebral dopaminergic transmission in the rat*. Brain Res 1986. **373**: p. 324-336.

146. Lecourtier, L., A. Defrancesco, and B. Moghaddam, *Differential tonic influence of lateral habenula on prefrontal cortex and nucleus accumbens dopamine release*. Eur J Neurosci, 2008. **27**(7): p. 1755-62.
147. Sokoloff, L., et al., *The 14C deoxyglucose method for the measurement of local cerebral glucose utilization: theory, procedure and normal values in the conscious and anesthetized albino rat*. J Neurochem, 1977. **28**: p. 897-916.
148. Komisaruk, B.R., et al., *Combined c-fos and 14C-2-deoxyglucose method to differentiate site-specific excitation from disinhibition: analysis of maternal behavior in the rat*. Brain Res, 2000. **859**(2): p. 262-72.
149. Nudo, R.J. and R.B. Masterton, *Stimulation-induced [14C]2-deoxyglucose labeling of synaptic activity in the central auditory system*. J Comp Neurol, 1986. **245**(4): p. 553-65.
150. McCulloch, J., H.E. Savaki, and L. Sokoloff, *Influence of dopaminergic systems on the lateral habenular nucleus of the rat*. Brain Res, 1980. **194**(1): p. 117-24.
151. Grome, J.J. and J. McCulloch, *The effects of apomorphine upon local cerebral glucose utilization in conscious rats and in rats anesthetized with chloral hydrate*. J Neurochem, 1983. **40**(2): p. 569-76.

152. Beck, T., et al., *Alterations in regional energy metabolism in rat brain produced by small and by large doses of apomorphine: possible relations to autoreceptors*. Eur J Pharmacol, 1987. **139**(2): p. 139-46.
153. Morelli, M., et al., *Local cerebral glucose utilization after D1 receptor stimulation in 6-OHDA lesioned rats: effect of sensitization (priming) with a dopaminergic agonist*. Synapse, 1993. **13**(3): p. 264-9.
154. Porrino, L.J. and G. Lucignani, *Different patterns of local brain energy metabolism associated with high and low doses of methylphenidate. Relevance to its action in hyperactive children*. Biol Psychiatry, 1987. **22**(2): p. 126-38.
155. London, E.D., et al., *Effects of L-cocaine on local cerebral glucose utilization in the rat*. Neurosci Lett, 1986. **68**(1): p. 73-8.
156. Wechsler, L.R., H.E. Savaki, and L. Sokoloff, *Effects of d- and l-amphetamine on local cerebral glucose utilization in the conscious rat*. J Neurochem, 1979. **32**(1): p. 15-22.
157. Trugman, J.M., C.A. Hubbard, and J.P. Bennett, Jr., *Dose-related effects of continuous levodopa infusion in rats with unilateral lesions of the substantia nigra*. Brain Res, 1996. **725**(2): p. 177-83.
158. Pizzolato, G., T.T. Soncrant, and S.I. Rapoport, *Haloperidol and cerebral metabolism in the conscious rat: relation to pharmacokinetics*. J Neurochem, 1984. **43**(3): p. 724-32.

159. Wirtshafter, D., K.E. Asin, and M.R. Pitzer, *Dopamine agonists and stress produce different patterns of Fos-like immunoreactivity in the lateral habenula*. Brain Res, 1994. **633**(1-2): p. 21-6.
160. Sasaki, K., et al., *Habenular lesion attenuates methamphetamine-induced inhibition of dopamine neuronal activity in the substantia nigra pars compacta of rats*. Neurosci Lett, 1988. **86**(1): p. 67-71.
161. Sasaki, K., et al., *Involvement of the entopeduncular nucleus and the habenula in methamphetamine-induced inhibition of dopamine neurons in the substantia nigra of rats*. Brain Res Bull, 1990. **25**(1): p. 121-7.
162. Haber, S.N., J.L. Fudge, and N.R. McFarland, *Striatonigrostriatal pathways in primates form an ascending spiral from the shell to the dorsolateral striatum*. J Neurosci, 2000. **20**(6): p. 2369-82.
163. Modianos, D.T., J.C. Hitt, and J. Flexman, *Habenular lesions produce decrements in feminine, but not masculine, sexual behavior in rats*. Behav Biol, 1974. **10**(1): p. 75-87.
164. Modianos, D.T., J.C. hitt, and H.B. Popolow, *Habenular lesions and feminine sexual behavior of ovariectomized rats: diminished responsiveness to the synergistic effects of estrogen and progesterone*. J Comp Physiol Psychol, 1975. **89**(3): p. 231-7.

165. Rodgers, C.H. and V.M. Schneider, *Facilitatory influences on mating behavior in the female rat affected by lesions of the habenula or the basolateral amygdaloid regions*. *Psychoneuroendocrinology*, 1979. **4**(3): p. 237-44.
166. Matthews-Felton, T., et al., *Lateral habenula neurons are necessary for the hormonal onset of maternal behavior and for the display of postpartum estrus in naturally parturient female rats*. *Behav Neurosci*, 1995. **109**(6): p. 1172-88.
167. Felton, T.M., et al., *Intact neurons of the lateral habenular nucleus are necessary for the nonhormonal, pup-mediated display of maternal behavior in sensitized virgin female rats*. *Behav Neurosci*, 1998. **112**(6): p. 1458-65.
168. Corodimas, K.P., et al., *Neurons in the lateral subdivision of the habenular complex mediate the hormonal onset of maternal behavior in rats*. *Behav Neurosci*, 1993. **107**(5): p. 827-43.
169. Morissette, M.C. and S.M. Boye, *Electrolytic lesions of the habenula attenuate brain stimulation reward*. *Behav Brain Res*, 2008. **187**(1): p. 17-26.
170. Lecourtier, L. and P.H. Kelly, *Bilateral lesions of the habenula induce attentional disturbances in rats*. *Neuropsychopharmacology*, 2005. **30**(3): p. 484-96.
171. Robbins, T.W., *The 5-choice serial reaction time task: behavioural pharmacology and functional neurochemistry*. *Psychopharmacology (Berl)*, 2002. **163**(3-4): p. 362-80.



172. Heldt, S.A. and K.J. Ressler, *Lesions of the habenula produce stress- and dopamine-dependent alterations in prepulse inhibition and locomotion*. Brain Res, 2006. **1073-1074**: p. 229-39.
173. Wickens, A.P. and E.W. Thornton, *Circling behaviour induced by apomorphine after lesions of the habenula*. Exp Brain Res, 1996. **109**(1): p. 17-21.
174. Koshikawa, N., *Role of the nucleus accumbens and the striatum in the production of turning behaviour in intact rats*. Rev Neurosci, 1994. **5**(4): p. 331-46.
175. Sellings, L.H.L. and P.B. Clarke, *Segregation of amphetamine reward and locomotor stimulation between nucleus accumbens medial shell and core*. J Neurosci, 2003. **23**(15): p. 6295-6303.
176. Wise, R.A. and E. Munn, *Effects of repeated amphetamine injections on lateral brain stimulation reward and subsequent locomotion*. Behav Brain Res, 1993. **55**: p. 195-201.
177. Olds, J., *Hypothalamic substrates of reward*. Physiol Rev, 1962. **42**: p. 554-604.
178. Gallistel, C.R., *Electrical Self-Stimulation and Its Theoretical Implications*. Psychol Bull, 1964. **61**: p. 23-34.
179. Gallistel, C.R., P. Shizgal, and J.S. Yeomans, *A portrait of the substrate for self-stimulation*. Psychol Rev, 1981. **88**(3): p. 228-73.

180. Edmonds, D.E. and C.R. Gallistel, *Parametric analysis of brain stimulation reward in the rat: III. Effect of performance variables on the reward summation function*. J Comp Physiol Psychol, 1974. **87**(5): p. 876-883.
181. Miliaressis, E., et al., *The curve-shift paradigm in self-stimulation*. Physiol Behav, 1986. **37**(1): p. 85-91.
182. Wise, R.A., *Addictive drugs and brain stimulation reward*. Annu Rev Neurosci, 1996. **19**: p. 319-40.
183. Mengual, E., et al., *Thalamic distribution of zinc-rich terminal fields and neurons of origin in the rat*. Neuroscience, 2001. **102**(4): p. 863-84.
184. Zinkand, W., et al., *Ibotenic acid mediates neurotoxicity and phosphoinositide hydrolysis by independent receptor mechanisms*. Molecular and Chemical Neuropathology, 1992. **16**(1-2): p. 1-10.
185. Erselius, R. and A. Wree, *Ultrastructure of axons in stereotaxically placed ibotenic lesions of the hippocampus in the adult rat. Evidence for demyelination and degeneration of dispersed axons of passage*. J Hirnforsch, 1991. **32**(2): p. 139-148.
186. Wishaw, I., S. Pellis, and V. Pellis, *A behavioral study of the contributions of cells and fibers of passage in the red nucleus of the rat to postural righting, skilled movements, and learning*. Behav Brain Res, 1992. **52**(1): p. 29-44.

187. Ranaldi, R. and R.J. Beninger, *The effects of systemic and intracerebral injections of D1 and D2 agonists on brain stimulation reward*. Brain Res, 1994. **651**(1-2): p. 283-92.
188. Murphy, C.A., et al., *Lesion of the habenular efferent pathway produces anxiety and locomotor hyperactivity in rats: a comparison of the effects of neonatal and adult lesions*. Behav Brain Res, 1996. **81**(1-2): p. 43-52.
189. Di Giovanni, G., E. Esposito, and V. Di Matteo, *Role of serotonin in central dopamine dysfunction*. CNS Neurosci Ther, 2010. **16**(3): p. 179-94.
190. Lecourtier, L., et al., *Habenula lesions alter synaptic plasticity within the fimbria-accumbens pathway in the rat*. Neuroscience, 2006. **141**(2): p. 1025-32.
191. Beurrier, C. and R.C. Malenka, *Enhanced inhibition of synaptic transmission by dopamine in the nucleus accumbens during behavioral sensitization to cocaine*. J Neurosci, 2002. **22**(14): p. 5817-22.
192. Nicola, S.M., S.B. Kambian, and R.C. Malenka, *Psychostimulants depress excitatory synaptic transmission in the nucleus accumbens via presynaptic D1-like dopamine receptors*. J Neurosci, 1996. **16**(5): p. 1591-604.
193. Vezina, P., *Sensitization of midbrain dopamine neuron reactivity and the self-administration of psychomotor stimulant drugs*. Neurosci Biobehav Rev, 2004. **27**(8): p. 827-39.

194. Hosokawa, S., et al., *Local cerebral glucose utilization altered in rats with unilateral electrolytic striatal lesions and modification by apomorphine*. Brain Res, 1984. **324**(1): p. 59-68.
195. Brown, L.L. and L.I. Wolfson, *A dopamine-sensitive striatal efferent system mapped with [<sup>14</sup>C]deoxyglucose in the rat*. Brain Res, 1983. **261**(2): p. 213-29.
196. Kretschmer, B.D., *Functional aspects of the ventral pallidum*. Amino Acids, 2000. **19**(1): p. 201-10.
197. Austin, M.C. and P.W. Kalivas, *Enkephalinergic and GABAergic modulation of motor activity in the ventral pallidum*. J Pharmacol Exp Ther, 1990. **252**(3): p. 1370-7.
198. Johnson, S.W. and R.A. North, *Opioids excite dopamine neurons by hyperpolarization of local interneurons*. J Neurosci, 1992. **12**: p. 483-488.
199. Duchesne, V. and S. Boye. *Dissociation of the rewarding and locomotor stimulant properties of nicotine in an animal model of schizophrenia*. in *Society for Research on Nicotine and Tobacco Annual Meeting*. 2010. Baltimore, MA.
200. Mirenowicz, J. and W. Schultz, *Preferential activation of midbrain dopamine neurons by appetitive rather than aversive stimuli*. Nature, 1996. **379**(6564): p. 449-51.

201. Hernandez, G. and P. Shizgal, *Dynamic changes in dopamine tone during self-stimulation of the ventral tegmental area in rats*. Behav Brain Res, 2009. **198**(1): p. 91-7.
202. Wang, Y., et al., *Lack of effect of habenula lesion on heroin self-administration*. Neurosci Lett, 2009.
203. Friedman, A., et al., *Electrical stimulation of the lateral habenula produces enduring inhibitory effect on cocaine seeking behavior*. Neuropharmacology, 2010. **59**(6): p. 452-9.
204. Friedman, A., et al., *Electrical stimulation of the lateral habenula produces an inhibitory effect on sucrose self-administration*. Neuropharmacology, 2010. **60**(2-3): p. 381-7.
205. Hikosaka, O., *The habenula: from stress evasion to value-based decision-making*. Nat Rev Neurosci, 2010. **11**(7): p. 503-13.
206. Matsumoto, M. and O. Hikosaka, *Two types of dopamine neuron distinctly convey positive and negative motivational signals*. Nature, 2009. **459**(7248): p. 837-41.
207. Schultz, W., *Predictive reward signal of dopamine neurons*. J Neurophysiol, 1998. **80**(1): p. 1-27.
208. Kimura, M., T. Satoh, and N. Matsumoto, *What does the habenula tell dopamine neurons?* Nat Neurosci, 2007. **10**(6): p. 677-8.

209. Boye, S.M., R.J. Grant, and P.B. Clarke, *Disruption of dopaminergic neurotransmission in nucleus accumbens core inhibits the locomotor stimulant effects of nicotine and D-amphetamine in rats*. *Neuropharmacology*, 2001. **40**(6): p. 792-805.