

Chapitre 2 : Étude des effets comportementaux induits par des psychostimulants

Dans ce chapitre, nous allons présenter les différentes expériences réalisées avec deux psychostimulants couramment utilisés, à savoir la cocaïne et l'amphétamine. Nous rappellerons brièvement leur pharmacologie respective ainsi que leurs effets chez l'humain.

Nous aborderons ensuite les phénomènes de sensibilisation comportementale et de renforcement en définissant les mécanismes qui les sous-tendent, à savoir les aires cérébrales impliquées ainsi que la neurotransmission sous-jacente.

1. Les psychostimulants

1.1. La pharmacodynamique

Le mécanisme d'action de la **cocaïne**, un alcaloïde, consiste à inhiber la recapture de plusieurs monoamines (dopamine, sérotonine et noradrénaline) dans la fente pré-synaptique. La cocaïne agit en bloquant le transporteur des monoamines qui se situe dans le cytoplasme intracellulaire du neurone pré-synaptique et, par conséquent, augmente la disponibilité de celles-ci au niveau synaptique dans le cerveau (Figure 11). Un plus grand nombre de récepteurs post-synaptiques sont alors excités et la transmission de l'influx nerveux est accrue. Cet afflux de dopamine est associé avec un effet euphorisant très important (*flash*). En cas d'arrêt de consommation après un usage important et prolongé, le mécanisme de recapture va fonctionner à plein régime et abaisser les taux de dopamine en dessous du niveau habituel (Lakoski, Galloway & White, 1992).

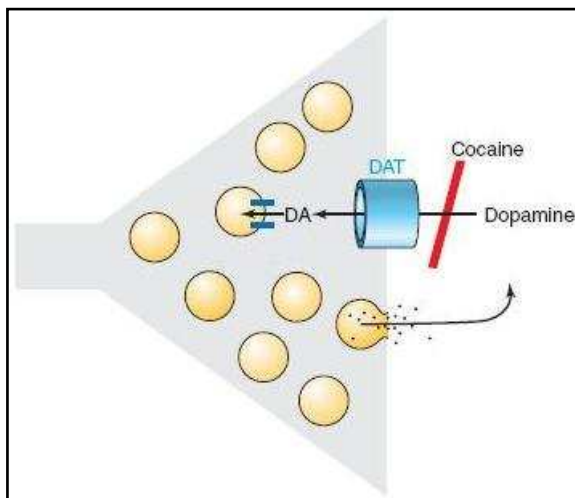


Figure 11. Représentation du mécanisme de la cocaïne, basé sur le blocage du transporteur à la dopamine (DAT) (Hyman, Malenka & Nestler, 2006, fig. 3, p. 572).

Le mécanisme d'action de l'**amphétamine**, un autre agoniste indirect des catécholamines, repose sur sa capacité à se lier aux transporteurs de différentes monoamines, telles que la dopamine (DA), la noradrénaline et la sérotonine, et d'en augmenter les taux au niveau extracellulaire. Contrairement à la cocaïne, l'amphétamine n'agit pas comme un ligand, mais ralentit plutôt la recapture de la dopamine via un mécanisme secondaire consistant à phosphoryler le transporteur à la dopamine (DAT) (Sulzer *et al.*, 2005).

De manière plus précise, l'activité de l'amphétamine implique plusieurs étapes essentielles (Figure 12). Tout d'abord, l'amphétamine va pénétrer le neurone via les DAT et s'y diffuser. Ensuite, elle va s'introduire dans les vésicules contenant les stocks intracellulaires de dopamine via le transporteur vésiculaire de monoamines 2 (VMAT2). Cette action entraîne la libération des stocks dopaminergiques dans le cytoplasme et, par conséquent, l'augmentation de la concentration dopaminergique intracellulaire (Sulzer *et al.*, 1995; Rothman & Baumann, 2006).

L'amphétamine interagit également avec le DAT. En effet, en présence d'amphétamine, le DAT (et le NET) fonctionne de manière inversée en rejetant massivement la dopamine au niveau de l'espace synaptique, au lieu de la recapter de l'espace extracellulaire vers l'espace intracellulaire. De plus, l'amphétamine exerce une action inhibitrice sur les monoamines oxydase (MAO) et ainsi, diminue le métabolisme intracellulaire de dopamine (Horn, 1973; Johnson *et al.*, 2005; Kahlig *et al.*, 2005; Raiteri, 1977).

En résumé, en plus de moduler la recapture de la dopamine, l'amphétamine stimule également sa libération au niveau synaptique. Ce mécanisme prévaut également pour la noradrénaline et, dans une moindre mesure, la sérotonine (Sulzer *et al.*, 2005).

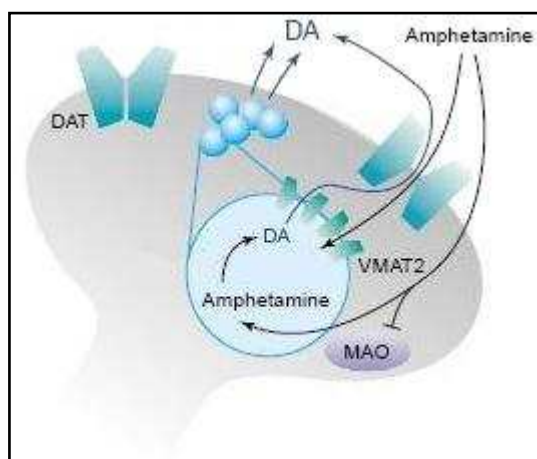


Figure 12. Modèle du mécanisme d'action de l'amphétamine sur la dopamine au niveau de la terminaison nerveuse (Gainetdinov, Sotnikova & Caron, 2002, fig. 1, p. 370).

1.2. La pharmacocinétique

La **cocaïne** peut être fumée (*crack*) ou absorbée par voie orale, intranasale ou encore, par intraveineuse. Lorsque la cocaïne est absorbée par voie intraveineuse, le consommateur ressent un effet euphorisant immédiat (*flash*). Par voie nasale, cet effet apparaît après vingt à trente minutes (Julien, 2001; Lakoski *et al.*, 1992).

L'**amphétamine** se présente généralement sous forme de poudre blanche, mais peut également être conditionnée sous forme de gélules, de comprimés ou de cristaux. Il existe différentes façons de la consommer : elle peut soit être ingérée, injectée en intraveineuse ou inhalée. Son élimination de l'organisme s'effectue via le métabolisme rénal et hépatique (Hartman, 1988; Julien, 2001).

1.3. Les conséquences sur l'organisme

A des doses modérées, la **cocaïne** diminue l'appétit, le besoin de sommeil et produit une sensation d'euphorie, de bien-être et de confiance en soi. A des doses plus élevées, la drogue induit, comme chez l'animal, des stéréotypies comprenant des comportements répétitifs ou continus de rangement, de lavement, ainsi que la répétition persistante de mots ou de phrases. Aux doses les plus élevées, la cocaïne engendre des psychoses caractérisées par d'intenses hallucinations et de la paranoïa, similaires aux symptômes positifs de la schizophrénie. Lorsque la consommation est interrompue, le faible taux de dopamine dans le cerveau produit une extrême fatigue, des changements d'humeur, voire la dépression (Hartman, 1988; Julien, 200; Lakoski *et al.*, 1992).

L'**amphétamine**, quant à elle, accélère l'activité du système nerveux et stimule l'humeur. Elle possède également des effets anorexigènes et est utilisée comme traitement chez les enfants hyperactifs. Le nom « amphétamine » provient d'un de ses noms chimiques : α -méthyl-phényléthanamine. L'amphétamine est utilisée comme drogue ou comme dopant, par exemple pour accroître la productivité ou comme anti-fatigue (Hartman, 1988; Julien, 2001).

La prise d'amphétamine provoque de nombreux effets à court et long terme. A court terme, l'amphétamine agit notamment sur la fréquence cardiaque et respiratoire (tachycardie, dilatation des bronches) et augmente également la pression sanguine. A cause de la vasodilatation, la circulation sanguine vers les muscles est réduite. Les pupilles se dilatent et une crispation des mâchoires s'installe. L'amphétamine provoque également des changements au niveau de la régulation thermique du corps, telle que l'hyperthermie et la transpiration. Une fois que les effets de l'amphétamine s'estompent, il est possible d'observer des crises de tétanie et d'angoisse, des insomnies et un état dépressif (Julien, 2001; Lakoski *et al.*, 1992; Warburton, 1975).

A long terme, la prise d'amphétamine ravage l'organisme, qui s'en retrouve amaigri et très affaibli, notamment via une immunodépression ou encore une décalcification osseuse. Divers troubles se développent, tels que des troubles cardio-vasculaires (hypertension), troubles du sommeil, de l'humeur (nervosité, irritabilité, anxiété) et psychiques (psychose, paranoïa). L'usage régulier entraîne une dépendance psychologique accrue qui se transforme en syndrome de sevrage si la consommation est arrêtée trop brutalement (Julien, 2001; Lakoski *et al.*, 1992; Warburton, 1975).

Malheureusement, l'amphétamine traverse la barrière placentaire et provoque de nombreux dégâts tératogènes. Sa consommation durant la grossesse peut notamment mener à des avortements spontanés, des ruptures placentaires ou encore, des retards de croissance intra-utérine (Julien, 2001).

2. La sensibilisation comportementale et le renforcement

2.1. Effets de l'administration aiguë de psychostimulant sur le comportement

L'injection aiguë de psychostimulants produit une courbe dose-effet biphasique typique chez les rongeurs : injectés à de faibles doses, ils stimulent l'activité locomotrice et l'exploration, tandis qu'à fortes doses, ils provoquent des comportements stéréotypés et compulsifs, tels que le toilettage, sans augmentation ni réduction systématique de la locomotion (Tirelli, Laviola & Adriani, 2003a).

Ces actions sont le résultat de l'augmentation de l'activation dopaminergique centrale et sont sous-tendues par des récepteurs DA distincts. En effet, il semble que les récepteurs D₁ seraient plus impliqués dans les changements de l'activité locomotion, tandis que les récepteurs D₂ seraient plus en rapport avec les comportements stéréotypiques (Ushijima, Carino & Horita, 1995; Xu *et al.*, 1994).

L'élévation de la locomotion serait provoquée, du moins en partie, par l'activation de projections dopaminergiques mésolimbique à partir de l'aire tegmentale ventrale jusqu'au noyau accumbens et les stéréotypies résulteraient de l'activation de projections dopaminergiques nigrostriatales à partir de la substance noire au noyau caudé (Creese & Iversen, 1975; Kelly *et al.*, 1975). L'hyperactivité locomotrice chez les rongeurs peut être considérée comme l'homologue de l'euphorie et l'excitation ressentie chez les humains (Wise & Bozarth, 1987). De plus, l'activité compulsive stéréotypée peut être considérée comme les symptômes psychotiques de la schizophrénie induite chez l'homme par de fortes doses de psychostimulants (Sams-Dodd, 1999).

2.2. Effets de l'administration répétée de psychostimulant sur le comportement

Chez les rongeurs, une augmentation progressive et persistante de l'activité locomotrice spontanée est observée suite à l'administration répétée et intermittente de psychostimulants, tels que l'amphétamine et la cocaïne (Stewart & Badiani, 1993; Robinson & Becker, 1986). Ce phénomène peut également être observé avec les opiacés (Vezina *et al.*, 1987) ou encore l'éthanol (Didone *et al.*, 2008). Le phénomène de sensibilisation renvoie donc à l'intensification de la réponse comportementale suite à l'administration successive d'une même quantité de drogue.

Cette sensibilisation augmenterait progressivement les propriétés renforçantes des drogues qui provoquent l'envie de les consommer (*craving*) (Robinson & Berridge, 1993; Kalivas *et al.*, 1998). Le phénomène de sensibilisation peut durer plusieurs mois, voire jusqu'à plusieurs années, chez les rongeurs et chez l'humain, suggérant que les psychostimulants modifient de manière persistante le fonctionnement cérébral (Nestler & Aghajanian, 1997; White & Kalivas, 1998).

D'après la théorie de la sensibilisation motivationnelle (*incentive sensitization theory of addiction*) proposée par Robinson et Berridge en 1993, la sensibilisation psychomotrice impliquerait des changements à long terme au niveau de l'organisation des systèmes cérébraux qui régulent les phénomènes de récompense et de motivation. Ainsi, ces circuits deviendraient hypersensibles aux drogues et aux stimuli qui y sont associés, engendrant une motivation excessive à consommer ces drogues.

Par la suite, cette théorie a été appuyée par une étude montrant une augmentation du nombre de dendrites des neurones de la partie *shell* du noyau accumbens ou des cellules pyramidales situées dans le cortex préfrontal (Robinson & Kolb, 1999).

2.3. Substrats neuronaux de la sensibilisation et du renforcement

Il est postulé que les effets stimulants et renforçants des psychostimulants résulteraient de leur capacité à augmenter les concentrations extracellulaires de dopamine dans certaines aires cérébrales, telles que le striatum ou le noyau accumbens (NAc) (Di Chiara 1998; Koob & Bloom 1988; Wise 1998; Wise & Bozarth 1987). En effet, l'ampleur de l'activation psychomotrice et celle de la réponse dopaminergique dans ces régions sont hautement corrélées (Budygin *et al.*, 2000; Garris *et al.*, 2003; Sabeti, Gerhardt & Zahner, 2002).

Brièvement, les principaux systèmes dopaminergiques (DA) du mésencéphale peuvent être regroupés en trois catégories. Ces neurones DA se situent le long de projections reliant les neurones de l'aire tegmentale ventrale (VTA) et ceux de la substance noire. Ces trois groupes sont repris sous les appellations de systèmes DA mésolimbique, mésocortical et nigrostrié, et possèdent chacun un rôle spécifique au sein du système nerveux central. Par exemple, le système DA nigrostrié régule le système moteur extrapyramidal, et les systèmes mésolimbique et mésocortical sont impliqués dans la gestion des systèmes de récompense, de renforcement et de motivation (Yang & Shieh, 2005).

Concrètement, le circuit qui est impliqué dans les propriétés renforçantes des stimuli naturels (tels que la nourriture ou le sexe) et des drogues d'abus est composé de projections DA partant de la VTA et de la substance noire qui projettent vers plusieurs structures du système limbique (NAc, l'amygdale, l'hippocampe dorsal), plusieurs aires corticales (cortex préfrontal, gyrus cingulaire) et vers le striatum (Figure 13) (Feltenstein & See, 2008; Hyman, Malenka & Nestler, 2006).

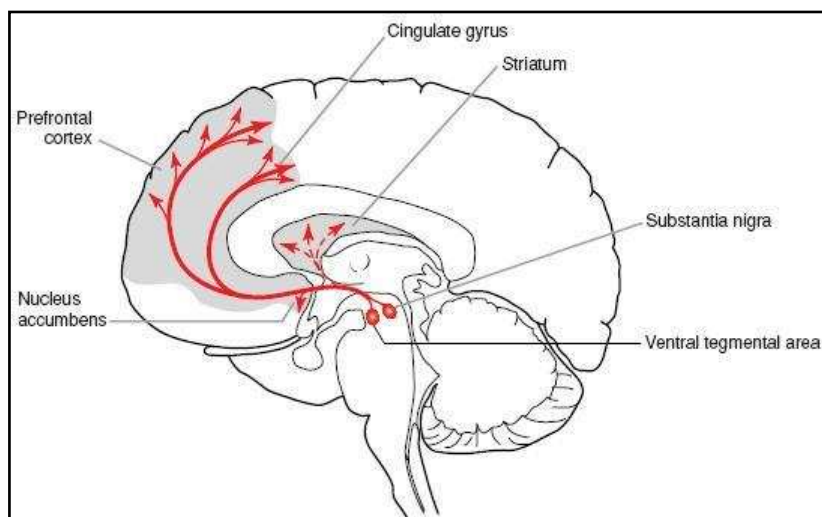


Figure 13. Représentation des projections DA émergeant de l'aire tegmentale ventrale et de la substance noire vers les structures limbiques et corticales (tiré de Hyman, Malenka & Nestler, 2006, fig. 2, p. 571).

Il apparaît que les différentes structures cérébrales desservies par ce circuit DA jouent des rôles différents dans le phénomène de dépendance (Feltenstein & See, 2008). Par exemple, le NAc est impliqué dans les effets renforçants primaires des drogues d'abus (Di Chiara, 2002). L'amygdale et l'hippocampe jouent un rôle essentiel dans l'apprentissage conditionné qui résulte du processus d'addiction (Rogers & See, 2007; See, 2005). En effet, dans le cadre de l'apprentissage de la peur conditionnée, l'amygdale sous-tend l'association entre les stimuli discrets et la sensation ressentie (ici, le plaisir procuré par la drogue) et l'hippocampe dorsal est responsable de l'apprentissage des stimuli qui composent le contexte d'administration de la drogue (Fuchs *et al.*, 2005, 2007).

D'un autre côté, le cortex préfrontal et le gyrus cingulaire régulent les réponses émotionnelles, le contrôle cognitif ainsi que les fonctions exécutives (Volkow *et al.*, 1993). En effet, avec la répétition de l'exposition à des drogues d'abus, s'opère des adaptations au niveau cellulaire des voies glutamatergiques reliant le cortex préfrontal au NAc. Ce mécanisme contribue à maintenir les comportements de dépendance, comme la diminution du contrôle cognitif ainsi que l'hypersensibilité aux stimuli associés à la prise de drogue (Kalivas & Volkow, 2005). Ainsi, la sensibilisation comportementale se produit donc parce que ces changements au niveau de la neurotransmission altèrent le mécanisme de contrôle de façon telle qu'une plus grande réponse comportementale est produite par un même stimulus pharmacologique. De plus, la stimulation électrique répétée du cortex préfrontal induit le développement d'une sensibilisation comportementale (Schenk & Snow, 1994), tandis que des lésions excitotoxiques sur cette même région l'en empêche (Pierce *et al.*, 1998; Tzschentke & Schmidt, 1998b, 2000).

Enfin, la consolidation du répertoire comportemental efficace dans l'obtention des renforcements dépend du striatum (Vanderschuren, Di Ciano & Everitt, 2005).

2.4. Neurotransmission sous-tendant la sensibilisation et le renforcement

2.4.1. L'hypothèse alternative au rôle du DAT

Il est établi que l'interaction des psychostimulants avec le transporteur à la dopamine (DAT) permet d'augmenter la concentration de dopamine au niveau synaptique et cette action serait à la source des propriétés renforçantes de ces drogues, telles que l'amphétamine ou la cocaïne (Budygin *et al.*, 2004).

Nonobstant, le rôle essentiel du DAT dans le renforcement des psychostimulants a été remis en cause par différentes études montrant que des souris dépourvues génétiquement du DAT continuaient à s'auto-administrer de la cocaïne (Rocha *et al.*, 1998a) et présentaient toujours une préférence conditionnée de lieu (CPP) pour la cocaïne ou l'amphétamine, accompagnée d'une augmentation extracellulaire de DA dans le NAc (Budygin *et al.*, 2004; Carboni *et al.*, 2001; Hall, Li *et al.*, 2002; Sora *et al.*, 2001). En effet, que l'activité dopaminergique soit bloquée pharmacologiquement ou par une lésion ou encore par l'inactivation génétique de la tyrosine hydroxylase, les animaux continuent cependant à présenter des réponses de renforcement et de préférence (Berridge & Robinson, 1998; Cannon & Palmiter, 2003; Robinson *et al.*, 2005).

Ces résultats suggèrent que d'autres mécanismes sous-tendent les effets renforçants des psychostimulants. Une action sérotoninergique a été postulée car ce système de neurotransmetteur apparaît être essentiel dans les réponses de renforcement en général (Müller *et al.*, 2007). Des études neuroanatomiques ont mis en évidence une haute densité de fibres 5-HT immuno-réactives au sein de la VTA (Di Giovanni *et al.*, 2008 pour une synthèse sur le sujet). De plus, les effets renforçants de la cocaïne et de l'amphétamine peuvent être augmentés grâce à une réduction partielle des voies sérotoninergiques cérébrales (Fletcher, Korth & Chambers, 1999; Roberts *et al.*, 1994), et inversement, l'augmentation de l'activité 5-HT via l'administration d'agonistes peut les atténuer (Czoty, Ginsburg & Howell, 2002; Fantegrossi *et al.*, 2002; Howell & Byrd, 1995). De même, les récepteurs 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} et 5-HT₂ modulent également les effets des deux psychostimulants (Castanon *et al.*, 2000; Müller *et al.*, 2007; Neumaier *et al.*, 2002; Nomikos & Spyraiki, 1988).

Ce système de neurotransmetteur semble également moduler les réponses comportementales des animaux présentant une diminution du fonctionnement du DAT, (Mateo *et al.*, 2004; Rocha *et al.*, 1998a). Par exemple, la fluoxétine, un antagoniste du SERT, augmente les concentrations DA dans le NAc chez les KO DAT et produit également une réponse de renforcement à la cocaïne chez ces souris (Mateo *et al.*, 2004; Sora *et al.*, 2001). Le renforcement induit par la cocaïne est également intact chez les KO SERT (Sora *et al.*, 1998). Néanmoins, une absence totale de préférence conditionnée de lieu (CPP) suite à l'administration de cocaïne chez des doubles KO DAT/SERT a été observée (Hall *et al.*, 2002; Sora *et al.*, 2001). Ces résultats corroborent l'hypothèse sérotoninergique et suggèrent que le SERT sous-tendrait les propriétés aversives qui peuvent résulter de la consommation de cocaïne (Hall *et al.*, 2002).

En ce qui concerne l'amphétamine, Budygin et collègues (2004) ont mis en évidence que l'amphétamine continuait à augmenter la libération DA dans le NAc des souris KO DAT et ont postulé que cela était dû à l'activation des récepteurs 5-HT, dans la mesure où le prétraitement avec un antagoniste des récepteurs 5-HT_{1A} (WAY-100635) empêchait le développement d'un CPP chez ces souris.

Il apparaît donc qu'une relation fonctionnelle entre les neurones DA et 5-HT existe au sein du système DA mésolimbique (Di Matteo *et al.*, 1999, 2002; McMahon, Filip & Cunningham, 2001). Cependant, un rôle concernant le transporteur à la norépinéphrine (NET) a également été postulé. En effet, plusieurs études ont illustré les interactions entre les neurones DA et NE à travers les récepteurs adrénergiques α_1 (Carboni *et al.*, 2001; Grenhoff & Svensson, 1993; Paladini *et al.*, 2001). Par exemple, les souris déficientes en récepteurs α_1 -b ne présentent pas de réponse locomotrice ni de renforcement, que ce soit à la cocaïne ou l'amphétamine (Auclair *et al.*, 2002; Drouin *et al.*, 2002; voir Sofuoglu & Sewell, 2009 pour une synthèse sur le sujet).

En résumé, il existe donc de nombreuses interactions entre les systèmes DA, 5-HT et NE qui s'opèrent suite à l'administration de psychostimulants, et d'autres études sont encore nécessaires afin de cerner complètement le rôle et l'importance de chaque système de monoamine dans les processus de renforcement (Gainetdinov, Sotnikova & Caron, 2002; Reith, Li & Yan, 1997).

2.4.2. La neurotransmission glutamatergique

Les changements fonctionnels et adaptatifs observés au niveau du système DA mésolimbique suite à l'administration répétée de psychostimulants s'accompagnent d'une sensibilité plus importante de ce système au glutamate (Rao & Finkbeiner, 2007; Tzschentke & Schmidt, 2003). Il a été démontré que l'induction d'une sensibilisation comportementale aux psychostimulants dépendait de l'activation des récepteurs NMDA logés dans la VTA, qui optimiserait la libération de dopamine dans le NAc (Kalivas, 2004; Vanderschuren & Kalivas, 2000) (Figure 14).

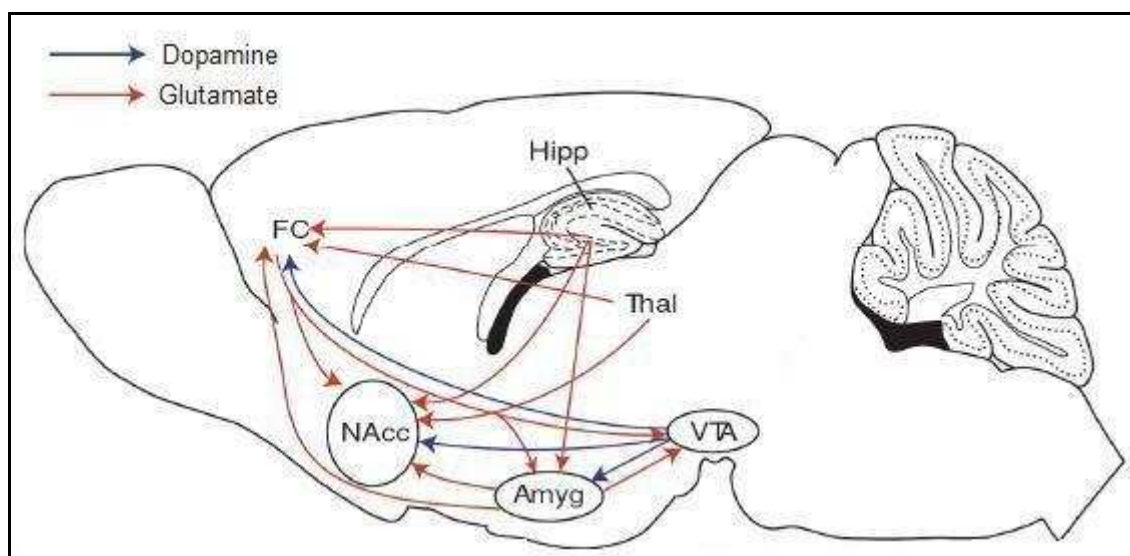


Figure 14. Coupe sagittale chez le rat représentant les interactions neuroanatomiques entre les projections glutamatergiques et le système DA mésolimbique. Les corps cellulaires DA émergent de la VTA reçoivent des projections de glutamate en provenance de l'amygdale (Amyg) et du cortex frontal (FC). Le NAc, quant à lui, reçoit des projections de glutamate de l'amygdale et du FC, ainsi que de l'hippocampe (Hipp) et du thalamus (Thal). L'amygdale et le FC s'innervent réciproquement, en plus des projections provenant du thalamus et de l'hippocampe (Gass & Olive, 2008, fig. 3, p. 83).

Au niveau du NAc justement, il a été démontré que l'exposition répétée à la cocaïne engendrait une augmentation sensibilisée des taux extracellulaires de glutamate (Pierce *et al.*, 1996; Reid & Berger, 1996). De plus, l'administration systémique d'antagonistes NMDA atténue le renforcement de la cocaïne via l'auto-administration (Blokhina *et al.*, 2005; Hyytia, Backstrom & Liljequist, 1999; Pulvirenti, Balducci & Koob, 1997) ainsi que l'acquisition et/ou l'expression d'un CPP (Kotlinska & Biala, 2000; Maldonado *et al.*, 2007; Papp, Gruca & Willner, 2002).

De plus, le blocage de ces récepteurs au niveau de la VTA empêche le développement d'un CPP à la cocaïne (Harris & Aston-Jones, 2003). Des études de micro-injection ont mis en évidence que la capacité des antagonistes des récepteurs glutamatergiques de pouvoir réduire les propriétés renforçantes de la cocaïne serait en partie sous-tendue par les récepteurs NMDA situés dans le NAc et le striatum dorsal (Cornish, Duffy & Kalivas, 1999; Di Ciano & Everitt, 2001; Vanderschuren, Di Ciano & Everitt, 2005).

En ce qui concerne les récepteurs glutamatergiques proprement dit, il apparaît que, suite à l'exposition répétée à la cocaïne, l'expression des récepteurs GluR1 et NR1 augmente au sein de la VTA, et de l'hippocampe pour les GluR5 (Churchill *et al.*, 1999; Fitzgerald *et al.*, 1996; Loftis & Janowsky, 2002; Lu *et al.*, 2003a). Une augmentation de la phosphorylation des GluR1 dans le cortex préfrontal a également été démontrée (Zhang *et al.*, 2007). Par contre, l'expression des autres récepteurs glutamatergiques, tels que NR2A/B, GluR2/3 ou GluR6/7, ne semble pas être altérée (Churchill *et al.*, 1999; Lu *et al.*, 2003a).

Le glutamate joue également un rôle important dans l'addiction à l'amphétamine. Plusieurs études ont montré que le développement d'un CPP à l'amphétamine pouvait être atténué par l'administration de différentes sortes d'antagoniste, telles que l'inhibiteur de la libération de glutamate (riluzole) (Tzschenke & Schmidt, 1998a), l'activateur du transporteur de glutamate (MS-153) (Mead *et al.*, 2005) ou encore l'injection d'un antagoniste AMPA dans le NAc (Layer, Uretsky & Wallace, 1993). De plus, l'administration d'un antagoniste aux récepteurs mGluR5 (MPEP) atténue (Mcgeehan & Olive, 2003), voire supprime (Herzig *et al.*, 2005), l'établissement d'un CPP à l'amphétamine.

Par contre, une étude a montré qu'un antagonisme aux récepteurs mGluR2/3, qui facilite la transmission glutamatergique, perturbe l'établissement d'un CPP lorsque l'amphétamine est injectée dans le NAc (Gerdjikov & Beninger, 2006). Ces résultats suggèrent qu'une transmission glutamatergique excessive peut également altérer la communication neuronale nécessaire à l'amphétamine pour établir un CPP.

2.5. La sensibilisation contextuelle

De nombreuses études ont montré que les circonstances d'administration de la drogue peuvent fortement moduler le développement de la sensibilisation (Badiani *et al.*, 1995; Browman *et al.*, 1998a, 1998b; Hinson & Poulos, 1981; Post *et al.*, 1992; Stewart & Vezina, 1991). Ces indices contextuels peuvent être externes, comme l'environnement physique et/ou social présent lors des injections, ou internes, comme l'état de l'animal ressenti lors de l'administration de la drogue. En effet, il a été montré que des animaux traités chroniquement avec un psychostimulant dans un environnement A et testé pour l'expression de la sensibilisation dans un environnement B présentaient des scores locomoteurs moins élevés que les animaux continuellement testés dans l'environnement B (Badiani *et al.*, 1995; Carey & Gui, 1998; Hinson & Poulos, 1981; Stewart & Badiani, 1993; Stewart & Vezina, 1991).

De la même manière, certaines études ont mis en évidence que l'état interne ressenti par l'animal à cause de la drogue constituait un indice contextuel nécessaire pour que s'exprime la préférence de lieu conditionnée (Bespalov *et al.*, 1999; Kim, Siegel & Patenall, 1999). Ainsi, Dockstader & van der Kooy (2001) ont montré que le CPP à la morphine s'exprimait chez des souris 129/SvJ uniquement si elles étaient injectées avant la session test avec la même dose que celle administrée durant la phase de conditionnement.

Une autre méthode pour détecter la sensibilisation contextuelle consiste à mesurer ce que l'on appelle la **réponse conditionnée**. Ce concept renvoie au fait que les indices associés à la prise de drogue peuvent éliciter une augmentation de l'activité locomotrice en l'absence de l'administration du psychotrope (Anagnostaras & Robinson, 1996). Elle est habituellement révélée dans l'environnement test en remplaçant le psychotrope par du soluté salin après que la sensibilisation se soit développée.

2.5.1. La modélisation du concept

Le modèle de la sensibilisation qui a rencontré le plus grand consensus intègre l'influence à la fois du contexte d'administration répétée de la drogue (Hinson & Poulos, 1981; Post *et al.*, 1992; Tilson & Rech, 1973) et des adaptations neurobiologiques produites par l'action pharmacologique directe de la drogue sur un substrat neuronal spécifique (Anagnostaras & Robinson, 1996; Kuczenski *et al.*, 1982). Ainsi, la drogue induit une sensibilisation neuronale dont l'expression est modulée par des stimuli contextuels qui seront associés à l'administration de cette drogue (Browman *et al.*, 1998a; Pert *et al.*, 1990; Stewart & Vezina, 1988; Robinson *et al.*, 1998).

Cette hypothèse est intéressante parce qu'elle permet de rendre compte des cas de sensibilisation indépendante du contexte, dans le sens où les animaux testés dans un environnement différent de celui où la sensibilisation s'est développée ne montrent pas de sensibilisation contextuelle non pas parce que la substance n'a pas induit de sensibilisation neuronale, mais bien parce que cet environnement test n'a pas permis à la réponse sensibilisée de se manifester (Anagnostaras & Robinson, 1996).

Ce modèle permet également de modéliser la rechute chez l'humain suite à la réexposition aux stimuli contextuels qui ont été associés avec la prise de drogue (Bossert *et al.*, 2005; Robinson & Berridge, 1993).

3. Hypothèses de travail

Plusieurs études ont montré que l'axe MCH/MCHR1 module la prise de nourriture ainsi que la balance énergétique (Borowsky *et al.*, 2002; Nahon, 1994; Saper *et al.*, 2002; Takekawa *et al.*, 2002). De plus, la présence de fibres issues du LH contenant de la MCH et d'ARN messager de MCHR1 a été détectée dans des structures mésolimbiques, telles que la VTA ou le NAc (Hervieu *et al.*, 2000; Saito *et al.*, 2001). Ces structures sont connues pour leur importance dans la régulation des réponses comportementales aux drogues d'abus (Di Chiara, 2002; Vanderschuren & Kalivas, 2000), ainsi que dans le renforcement alimentaire (Kelley & Berridge, 2002).

De plus, d'autres peptides impliqués dans la régulation de la prise alimentaire sont également exprimés dans le NAc et la VTA et sont connus pour leurs effets sur les drogues d'abus, notamment via des modèles génétiques knock-out (Figure 15). Par exemple, les neurones à orexine (de Lecea *et al.*, 1998), un autre peptide produit par des neurones situés dans le LH, répondent à l'amphétamine (DiLeone *et al.*, 2003) ainsi qu'à la morphine (Geogescu *et al.*, 2003).

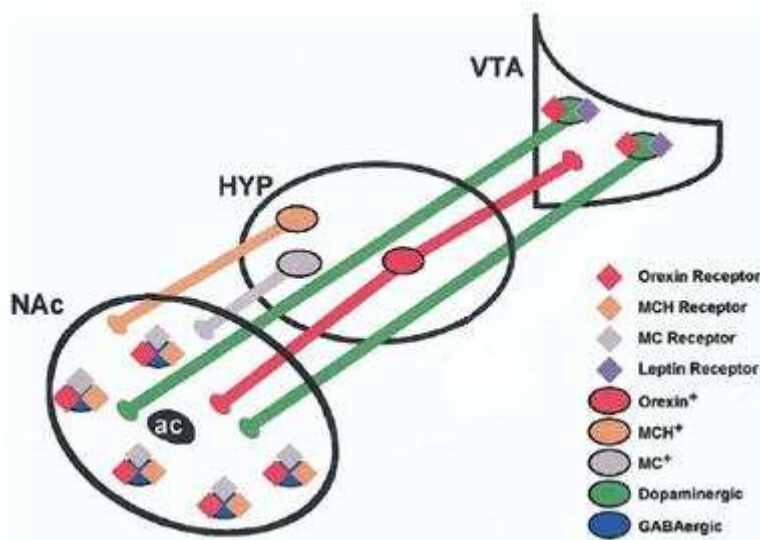


Figure 15. Innervations de la VTA et du NAc par les peptides hypothalamiques régulateurs de la prise alimentaire. L'orexine, exprimée dans l'hypothalamus (HYP) latéral, projette à la fois vers le NAc et la VTA. La MCH et la mélanocortine (MC) ne projettent que vers le NAc. La leptine, issues des masses graisseuses périphériques, agit également sur ses récepteurs dans la VTA (Nestler, 2006, fig. 4, p. 1156).

Par conséquent, en reliant l'hypothalamus latéral avec le système mésolimbique, il a été postulé que l'axe MCH/MCHR1 pourrait moduler l'effet de stimuli renforçants, comme les drogues d'abus (DiLeone, Georgescu & Nestler, 2003; Saper *et al.*, 2002).

L'étude de Smith et collègues (2005) a été la première à tester cette hypothèse chez les WT et KO MCHR1. Ils ont démontré une hypersensibilité locomotrice chez les KO MCHR1 à la suite d'une seule injection d'amphétamine (2 et 3 mg/kg) et d'un agoniste D₁ (SKF38393). Ils ont également mis en évidence une régulation accrue des récepteurs D₁ et D₂ dans le NAc et la VTA et un taux de liaison aux NET plus élevé dans le NAc et le tube olfactif. Une diminution du taux de liaison aux SERT a également été observée dans le NAc. Ces résultats suggèrent que les récepteurs MCHR1 exerceraient une action inhibitrice sur l'activité des monoamines du circuit mésocorticolimbique.

Sur base de ces résultats, nous avons testé les animaux sous différentes doses de cocaïne et d'amphétamine dans des activomètres ainsi que dans le paradigme de préférence de lieu conditionné, en postulant que l'inactivation des MCHR1 augmenterait la sensibilité aux drogues d'abus.

4. Expériences de sensibilisation comportementale

4.1. Matériel et protocole

Brièvement, ces expériences ont été réalisées à l'aide d'activomètres équipés de cellules photoélectriques, qui permettent de mesurer l'activité locomotrice de chaque animal individuellement (pour une description détaillée, voir Tyhon *et al.*, 2006).

Bien que ces expériences diffèrent au niveau de la voie d'administration (intrapéritonéale versus sous-cutanée) et au niveau de la substance injectée (cocaïne versus amphétamine), le protocole choisi reste globalement le même et se déroule en quatre phases.

La première de ces phases est la phase de **pré-exposition** à l'appareil (aussi appelée phase d'habituation) durant laquelle tous les animaux sont exposés aux activomètres sous soluté salin. Cette phase permet de mesurer le niveau d'activité basal des deux génotypes afin de constituer des groupes homogènes, et indirectement le niveau d'anxiété naturel des animaux face à l'exploration d'un nouvel environnement.

Ensuite, vient la phase d'**administration chronique** de la drogue (conditionnement), qui s'étend sur plusieurs jours consécutifs. Les résultats obtenus lors du premier jour d'injection permettent de mesurer l'effet aigu de la drogue. L'amplitude de cette réponse est mise en évidence grâce au calcul d'un score d'augmentation (*increase score*). Le caractère répétitif du traitement a pour but de générer une sensibilisation comportementale, dont le développement est comparé entre les génotypes et objectivé à l'aide du calcul des pentes de régression individuelles (*slopes*). Le calcul des deux indices sera détaillé lors de la présentation des résultats.

Vingt-quatre heures après le dernier jour d'acquisition, l'ensemble des animaux est testé sous l'influence de la drogue, même les groupes ayant reçu du soluté salin depuis le début (groupe contrôle). Ce test a pour but d'objectiver l'**expression de la sensibilisation**.

Pour terminer, le jour suivant, un test placebo est effectué durant lequel tous les animaux reçoivent une injection de soluté salin. Le but de ce test est de mesurer la **réponse conditionnée contextuelle**, c'est-à-dire la sensibilisation à l'environnement dans lequel la drogue a été administrée. Cet effet est observé lorsque les animaux conditionnés avec la drogue présentent une activité locomotrice supérieure à celle des groupes contrôles, malgré qu'ils soient injectés avec un placebo.

4.2. Analyses statistiques

Lors de la première phase de l'expérience (pré-exposition à l'appareil), les données sont regroupées par génotype. En effet, cette première phase a pour but de détecter d'éventuelles différences dans la réponse à la nouveauté entre les deux génotypes. Ces données sont ensuite analysées avec une ANOVA en mesures répétées (2 génotypes x 6 intervalles). Celle-ci est effectuée sur le décours temporel de la session afin d'observer le déroulement de l'activité locomotrice par tranches de cinq minutes.

Le lendemain, la moitié des animaux reçoivent une injection de cocaïne dont la dose dépend du groupe expérimental auquel ils appartiennent. Les données comportementales sont analysées par dose (6 ou 12 mg/kg) en comparant les génotypes entre eux. Une ANOVA double (2 génotypes x 2 groupes) est effectuée sur les données locomotrices récoltées sur la durée totale de la session. Un score d'augmentation est également calculé (appelé *increase score*). Il s'agit de la différence entre l'activité locomotrice mesurée le jour précédent (phase de pré-exposition) et celle mesurée le premier jour d'injection. Ce score est traité statistiquement avec la même ANOVA double (2 génotypes x 2 groupes).

Après l'analyse de l'effet aigu de la cocaïne, l'effet de l'administration répétée de la drogue est examiné. Les scores des différents groupes sont analysés avec une ANOVA en mesures répétées (2 génotypes x 2 traitements x 9 sessions), qui permet, d'une part, de comparer les sessions entre elles pour un groupe donné (première versus dernière pour le groupe X) et, d'autre part, de comparer les groupes entre eux pour une session donnée (groupe X versus Y au jour 1).

Afin de représenter qualitativement l'évolution du score de chaque souris au fil des sessions de conditionnement (augmentation, diminution ou stagnation), on utilise les taux moyens de sensibilisation des différents groupes. Ces taux sont représentés par la moyenne des coefficients de régression des sujets de chaque groupe. Ces coefficients sont calculés à partir des pentes de régression linéaire individuelles prédisant le score locomoteur de l'animal en fonction du jour de la session (Crombag, Badiani & Robinson, 1996; Tirelli, Tambour & Michel, 2003b). En d'autres termes, une souris sensibilisée présentera un score locomoteur qui augmente au fil du temps. Cette augmentation se reflètera par un coefficient de régression positif et significativement différent de zéro (analyse avec un t de Student). A contrario, une souris non sensibilisée présentera un coefficient de régression qui ne diffère pas de zéro, voire négatif. La mesure des pentes de régressions individuelles représente donc un outil qualitatif plutôt qu'une modélisation statistique. Par la suite, on calcule les moyennes qui forment les pentes de chaque groupe expérimental et on les compare entre elles avec une ANOVA double (2 génotypes x 2 traitements).

Après les neuf sessions consécutives d'injection de cocaïne, l'ensemble des animaux testés reçoit une injection i.p. de cocaïne (12 mg/kg) afin de tester la présence d'un éventuel effet sensibilisé. Les données récoltées sont présentées graphiquement sous deux formes pour chaque génotype et dose de cocaïne séparément. D'une part, il y a le décours temporel qui est analysé avec une ANOVA en mesures répétées (2 traitements x 6 intervalles) et, d'autre part, il y a les moyennes marginales de l'effet principal du traitement qui sont traitées avec une ANOVA simple. L'hypothèse a priori est que les groupes présentant une sensibilisation comportementale à la fin du traitement chronique produiront des scores plus élevés que les groupes non sensibilisés lors de ce test de sensibilisation.

Enfin, le dernier jour, l'ensemble des animaux testés reçoit une injection i.p. de soluté salin dans le but d'évaluer l'expression d'une éventuelle réponse conditionnée. Les données récoltées sont présentées et analysées de la même manière que les données du test de sensibilisation. L'hypothèse, a priori, est que les groupes ayant été conditionnés avec la cocaïne produisent des scores plus élevés que leurs groupes contrôles respectifs, qui ont reçu du soluté salin durant le traitement chronique.

4.3. Expérience n°1 : la cocaïne administrée par voie intrapéritonéale

Nous avons testé l'effet de plusieurs doses de cocaïne sur l'activité locomotrice des WT et KO MCHR1 et mesuré le développement d'une sensibilisation (voir Tyhon *et al.* (2006) dans la partie Annexes).

1. Résultats

Les effets de l'exposition à un nouvel environnement (à savoir, les activomètres) sur l'activité locomotrice exploratoire des WT et KO MCHR1 sont représentés sur la figure 16. Il apparaît que les KO affichent un niveau d'activité locomotrice significativement plus élevé que celui des WT sur les 30 minutes de sessions, bien que les deux génotypes soient relativement plus actifs sur les 10 premières minutes et montrent une courbe d'habituation similaire (effet principal du génotype représenté sur la partie droite de la figure 16: ($F_{(1,78)}=19,88$; $P<0,0001$).

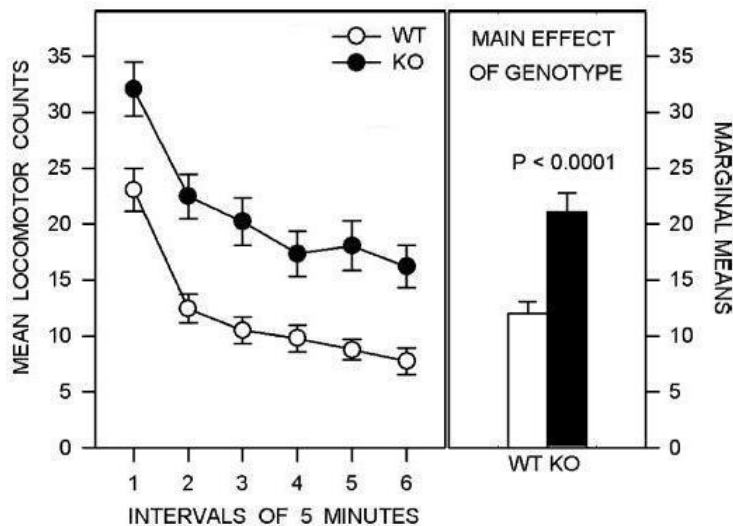


Figure 16. Activité locomotrice moyenne (\pm ESM) induite par l'exposition à un nouvel environnement chez les WT et KO MCHR1 durant 30 minutes sous soluté salin. Le graphique de gauche représente le déroulement temporel de la session et celui de droite, les moyennes marginales de l'effet principal du génotype. L'effectif total de ce graphique est de N=40 car les scores des animaux des deux sous-expériences (6 et 12 mg/kg) ont été collapés par génotype (n=20) (Tyhon *et al.*, 2006, fig. 1, p. 96).

Le jour suivant la phase de pré-exposition, la moitié des animaux reçoit une injection de cocaïne. Il apparaît que l'injection aiguë de 6 ou 12 mg/kg de cocaïne produit une augmentation significative de l'activité locomotrice, qui est comparable entre les génotypes (ANOVA double : effet principal du traitement pour 6 mg/kg: $F_{(1,36)}=18,55$; $P<0,0002$, et pour 12 mg/kg: $F_{(1,36)}=26,22$; $P<0,0001$) (figure 17, panels A et C). De plus, l'augmentation des scores locomoteurs entre la phase de pré-exposition et la première injection de cocaïne ne diffère pas entre les génotypes, quelle que soit la dose utilisée (*increase score*, panels B et D) (ANOVA double : effet principal du traitement pour 6 mg/kg: $F_{(1,36)}=8,21$; $P<0,0005$, et pour 12 mg/kg: $F_{(1,36)}=26,31$; $P<0,0001$). De plus, la dose de 6 mg/kg n'induit pas cette augmentation de manière significative ($P<0,077$, t de Student).

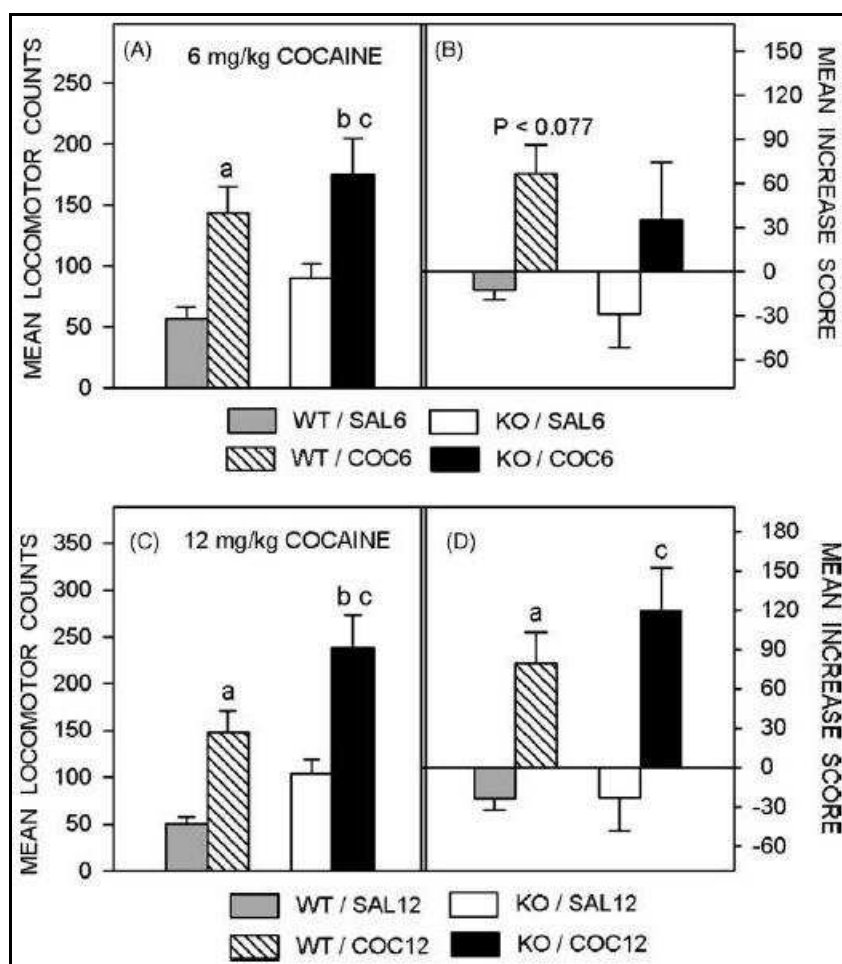


Figure 17. Activité psychomotrice (\pm ESM) induite par une injection i.p. aiguë de cocaïne à 6 mg/kg (panel A) ou 12 mg/kg (panel C) chez les WT et KO MCHR1 ($n=10$). Les panels B et D représentent l'augmentation relative des scores locomoteurs par rapport à la session de pré-exposition sous salin effectuée la veille. Différence significative à $P<0,05$: **a**, différence avec le groupes salin correspondant chez les WT; **b**, différence entre les génotypes pour les groupes ayant reçu la même dose de cocaïne ; **c**, différence avec le groupe salin correspondant chez les KO (Tyhon *et al.*, 2006, fig. 2, p. 97).

La figure 18 (panels A et C) reprend les scores locomoteurs obtenus durant les neuf sessions d'administration de cocaïne (6 et 12 mg/kg, 30 minutes). Les panels B et D représentent les taux moyens de sensibilisation des différents groupes.

L'ANOVA en mesures répétées réalisée sur l'ensemble des neuf sessions montre que, pour la dose de 6 mg/kg, aucune sensibilisation comportementale ne se développe, et ce, quel que soit le génotype envisagé (panel A). Ce résultat est corroboré par le calcul des coefficients de régression moyens (ANOVA double), dont aucun n'est significativement différent de zéro (panel B).

Par contre, les mêmes analyses statistiques effectuées sur les données de 12 mg/kg de cocaïne mettent clairement en évidence une sensibilisation comportementale marquée chez les WT et l'absence totale de cet effet chez les KO, qui restent à un niveau constant de stimulation au fil des sessions (interaction triple : génotype x traitement x session $F_{(8,288)}=4,14$; $P<0,001$) (panel C). L'analyse de la moyenne des pentes de régressions individuelles vient confirmer le développement de la sensibilisation chez les WT, car il apparaît qu'elle est significativement différente de zéro (coefficient de régression moyen = 21.15 ; $r^2=0,16$; $t(88)=4,06$; $P<0,0002$) et, de plus, qu'elle diffère des autres groupes ($F_{(1,36)}=8,58$; $P<0,006$, panel D).

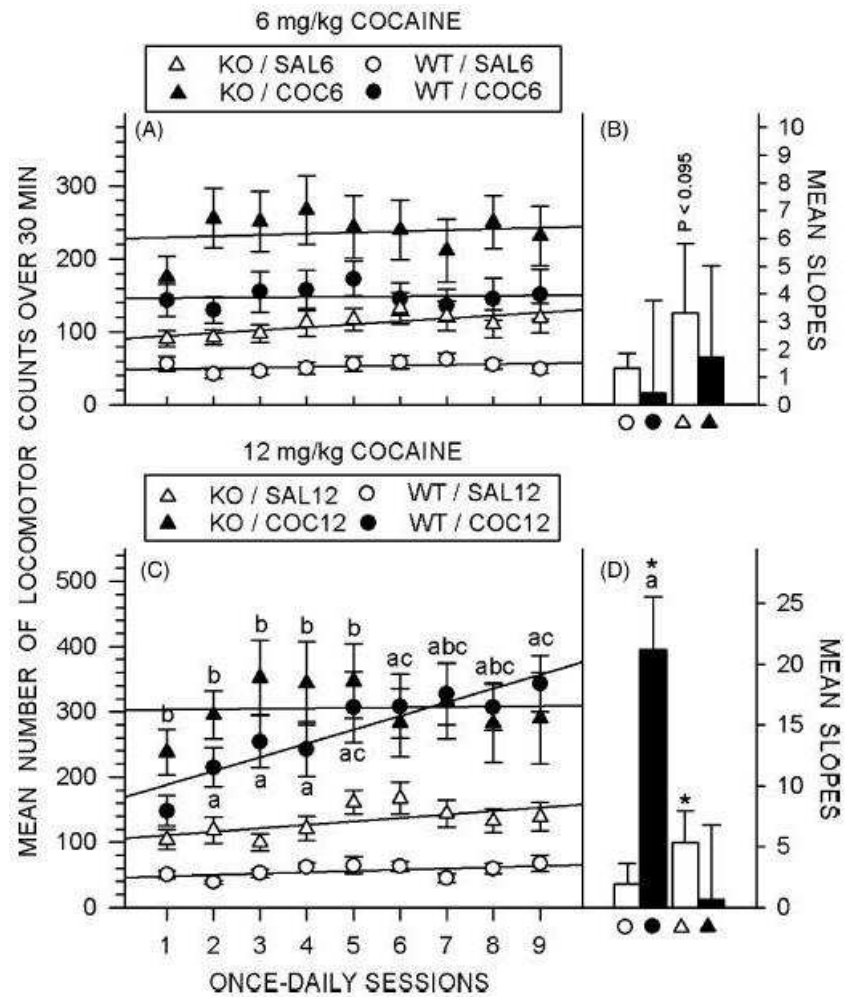


Figure 18. Activité locomotrice moyenne (\pm ESM) induite par les injections i.p. répétées de cocaïne à 6 mg/kg (panel A) ou 12 mg/kg (panel C) chez les WT et KO MCHR1 (n=10). Les panels B et D représentent les taux de sensibilisation moyens. Différence significative à $P < 0,05$: **a**, différence avec le groupe salin correspondant chez les WT; **b**, différence avec le groupe salin correspondant chez les KO; **c**, différence par rapport à la première session d'administration chez un même groupe (ANOVA 2x2x9 pour le traitement chronique et ANOVA 2x2 pour les *slopes*); (*) valeur significativement différente de zéro (test t de Student) (Tyhon *et al.*, 2006, fig. 3, p. 98).

Après les neuf sessions consécutives d'injection de cocaïne, l'ensemble des animaux testés a reçu une injection i.p. de cocaïne (12 mg/kg) afin de tester la présence d'un éventuel effet sensibilisé (figure 19). Pour les groupes conditionnés avec la dose de 6 mg/kg (panels A et B), aucun effet sensibilisé ne ressort, quel que soit le génotype envisagé.

En ce qui concerne la dose de 12 mg/kg (panels C et D), les WT montrent un effet sensibilisé robuste qui se marque tout au long de la session de 30 minutes (interaction double traitement x intervalle : $F_{(1,18)}=23,35$; $P < 0,0002$) et qui est mis en évidence par un effet principal du traitement (insert panel C : $F_{(1,18)}=40,33$; $P < 0,0001$).

Par contre, les KO conditionnés avec cette même dose de cocaïne ne présentent rien d'autre qu'une habitude de l'activité locomotrice, sans se différencier de leur groupe contrôle (panel D : interaction double traitement x intervalle : $F_{(1,18)}=7,57$; $P<0,015$).

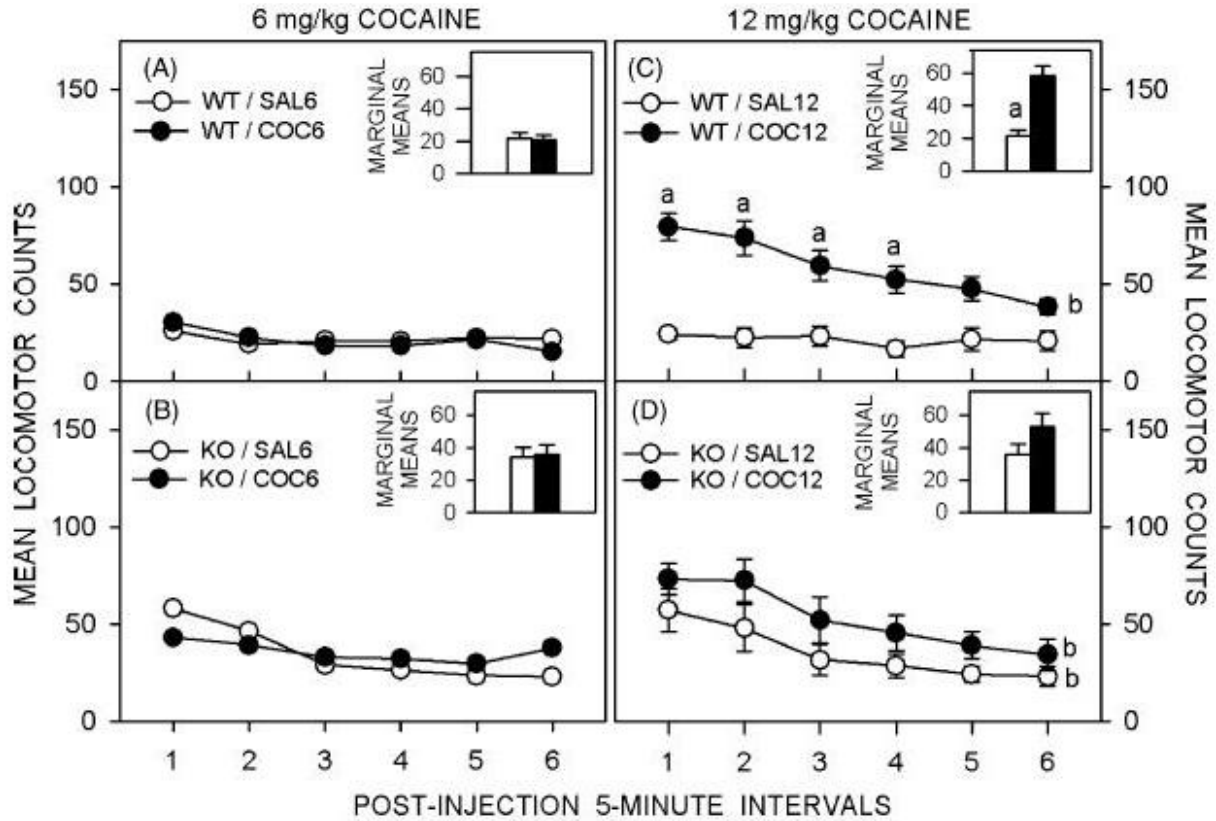


Figure 19. Scores locomoteurs moyens (\pm ESM) induits par une injection i.p. de cocaïne (12 mg/kg pour tous les groupes) 24h après la dernière session du traitement chronique avec 6 mg/kg (panels A et B) ou 12 mg/kg (panels C et D) chez les WT et KO MCHR1 (n=10). Les inserts montrent les effets principaux du traitement (saline versus cocaïne, moyenne marginale) pour chaque génotype et dose séparément. Différence significative à $P<0,05$: **a**, différence avec le groupe salin correspondant; **b**, différence avec les scores obtenus lors du premier intervalle de 5 minutes (ANOVA 2x6 pour le dérours temporel et ANOVA simple pour les inserts) (Tyhon *et al.*, 2006, fig. 4, p. 99).

De manière similaire aux résultats obtenus pour le test de sensibilisation, aucun effet conditionné significatif n'est observable chez les groupes ayant reçu chroniquement 6 mg/kg de cocaïne (figure 20, panels A et B). Pour la dose de 12 mg/kg, seuls les WT présentent un effet conditionné précis, principalement observé au début de la session (interaction double traitement x intervalle : $F_{(1,18)}=7,00$; $P<0,020$, et effet principal du traitement : $F_{(1,18)}=7,54$; $P<0,020$) (panels C et D).

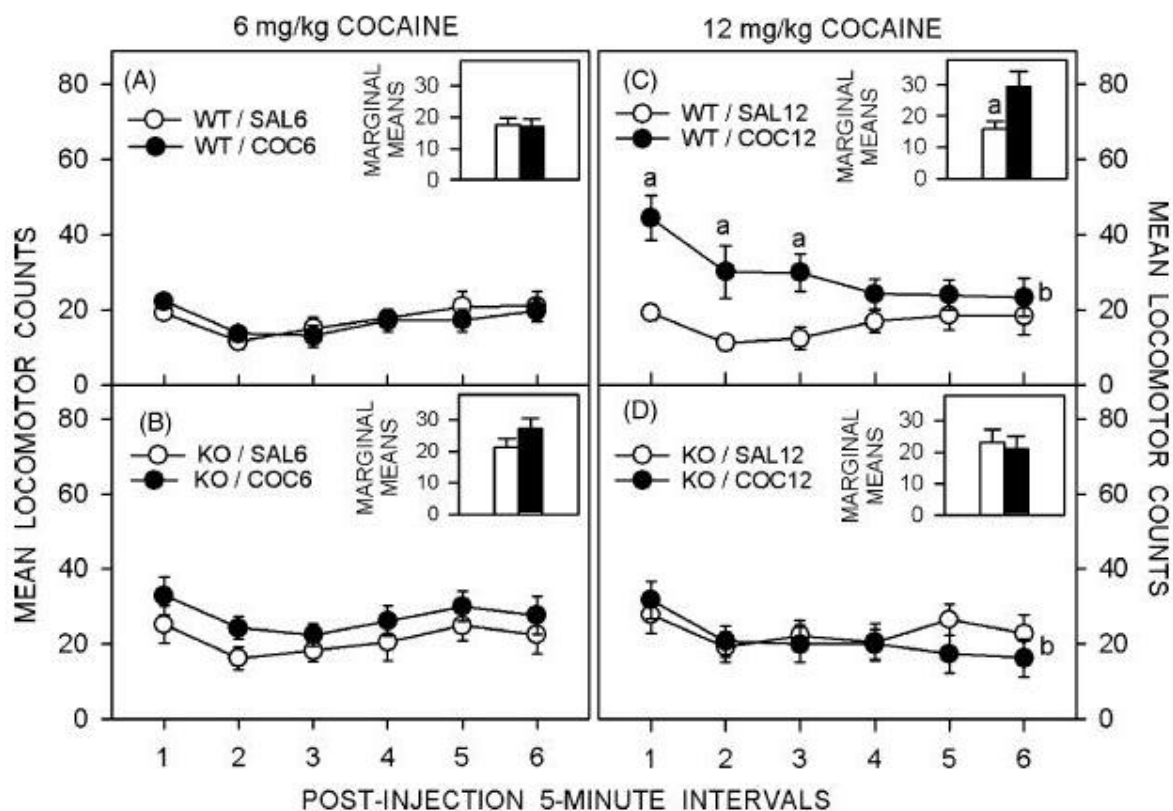


Figure 20. Scores locomoteurs moyens (\pm ESM) induits par une injection i.p. de soluté salin 48h après la dernière session du traitement chronique avec 6 mg/kg (panels A et B) ou 12 mg/kg (panels C et D) chez les WT et KO MCHR1 (n=10). Les inserts montrent les effets principaux du traitement (saline versus cocaïne, moyenne marginale) pour chaque génotype et dose séparément. Différence significative à $P < 0,05$: **a**, différence avec le groupe salin correspondant; **b**, différence avec les scores obtenus lors du premier intervalle de 5 minutes (ANOVA 2x6 pour le décours temporel et ANOVA simple pour les inserts) (Tyhon *et al.*, 2006, fig. 5, p. 99).

2. Discussion

Les résultats de cette première expérience avec deux doses de cocaïne injectées en i.p. nous ont permis de mettre en évidence plusieurs observations :

- ✓ Lorsqu'ils sont placés dans un environnement inconnu, les KO présentent un score locomoteur de base beaucoup plus élevé que les WT ;
- ✓ Lors de la première injection de cocaïne, l'augmentation relative de l'activité locomotrice est comparable chez les deux génotypes, quelle que soit la dose employée ;
- ✓ La répétition des injections de 6 mg/kg de cocaïne n'aboutit pas au développement d'une sensibilisation comportementale chez aucun des génotypes. A contrario, le traitement chronique avec la dose de 12 mg/kg engendre une sensibilisation comportementale marquée chez les WT, mais pas chez les KO.

- ✓ L'expression de la sensibilisation chez les WT conditionnés avec 12 mg/kg de cocaïne est attestée par le test de sensibilisation et le test placebo.

Une récente étude appuie nos résultats dans la mesure où leurs KO MCHR1 ne présentent pas non plus de sensibilisation comportementale à une dose de 12 mg/kg de cocaïne (Chung *et al.*, 2009). Contrairement à notre étude, il est démontré que l'injection i.c.v. potentialise l'effet stimulant des doses de 6 et 12 mg/kg de cocaïne. Cette disparité peut être expliquée par la différence des fonds génétiques utilisés dans la création des KO¹ (fond pur C57BL/6J chez Chung versus fond mixte C57BL/6J x 129/SvJ chez nous).

3. Conclusions

Ces résultats ne corroborent pas l'hypothèse avancée par Smith et collègues en 2005 selon laquelle la MCH exercerait une action inhibitrice sur l'activité des monoamines appartenant au système mésocorticolimbique. De fait, les KO MCHR1 ne présentent absolument pas d'hypersensibilité à la cocaïne par rapport aux WT, que ce soit lors de la première injection ou durant le traitement chronique.

Ainsi, il apparaît clairement que l'axe MCH/MCHR1 joue un rôle essentiel (et non inhibiteur) dans les réponses comportementales inhérentes à l'administration de cocaïne.

¹ Nous reviendrons sur cette thématique de manière plus détaillée dans la discussion générale de ce chapitre.

4.4. Expérience n°2 : la cocaïne administrée par voie sous-cutanée

Le protocole de cette expérience (non publiée) est identique à celui de l'expérience présentée précédemment, excepté le fait que la cocaïne est injectée par voie sous-cutanée (s.c.) et non plus en intrapéritonéal. Ce paramètre a été choisi sur base de plusieurs études de sensibilisation comportementale avec différentes doses de cocaïne effectuées au sein de notre laboratoire sur des souris de souche C57BL/6J (Michel & Tirelli, 2002a, 2002b; Michel, Tambour & Tirelli, 2003).

Dans un souci d'alléger la présentation des résultats, les effets de l'exposition à la nouveauté sur l'activité locomotrice exploratoire des WT et KO MCHR1 ainsi que ceux de l'injection aiguë de 6 ou 12 mg/kg de cocaïne ne seront pas représentés graphiquement, mais simplement expliqués.

1. Résultats

Lors de la phase de pré-exposition, les analyses ne mettent pas en évidence un niveau locomoteur significativement plus élevé chez les KO par rapport aux WT (ANOVA simple : effet principal du génotype non significatif : $F_{(1,126)}=1,46$; $P=0,22$). Les deux génotypes présentent une habitude des scores locomoteurs, avec une diminution significative de la locomotion entre le début et la fin de la session (ANOVA en mesures répétées : effet principal de la session : $F_{(1,126)}=348,2$; $P<0,0001$).

L'injection aiguë de 6 mg/kg de cocaïne produit une augmentation significative de l'activité locomotrice qui est comparable entre les génotypes (ANOVA double : effet principal du traitement: $F_{(1,60)}=19,05$; $P<0,0001$) (figure 21, panel B).

En ce qui concerne le traitement répété sur neuf jours consécutifs, une sensibilisation comportementale se développe chez les WT, mais pas chez les KO (panel A) (ANOVA en mesures répétées (2x2x9) : effet principal du traitement : $F_{(1,60)}=21,72$; $P<0,0001$ et de la session : $F_{(1,60)}=7,09$; $P=0,009$).

Nonobstant, l'ampleur de cette sensibilisation ne semble pas être suffisamment prononcée pour ressortir significativement au niveau des pentes de régression (figure 21, panel C) (ANOVA double : aucun effet significatif). En effet, aucune pente de régression ne diffère l'une de l'autre, qu'il s'agisse des groupes salins ou cocaïne.

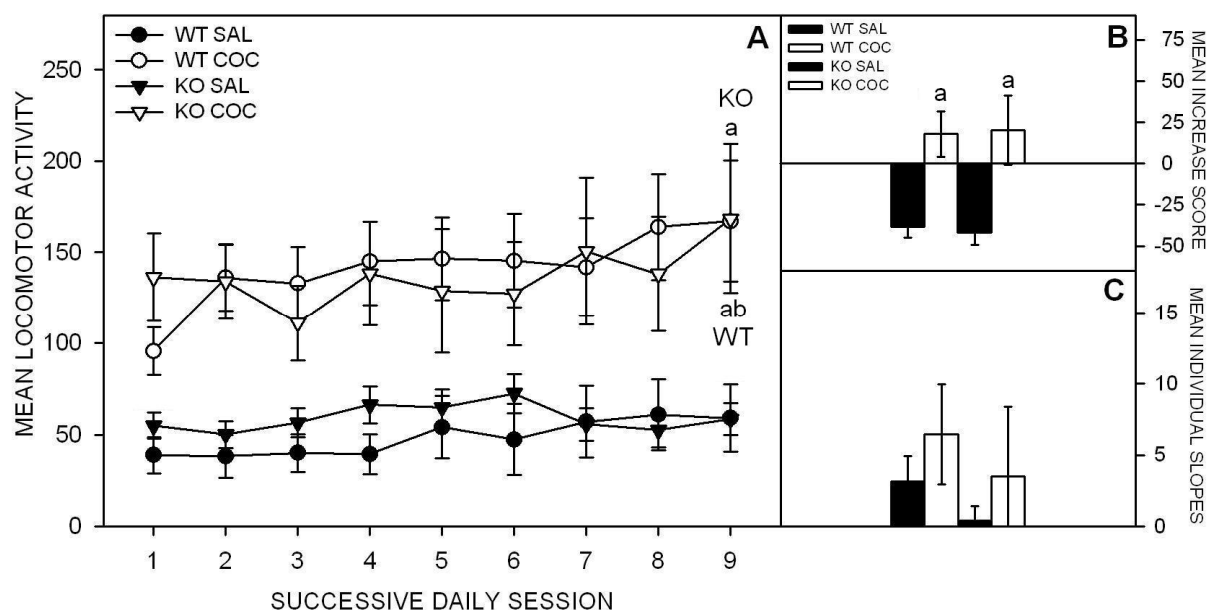


Figure 21. Activité locomotrice moyenne (\pm ESM) induite par les injections s.c. répétées de cocaïne à 6 mg/kg chez les WT et KO MCHR1 ($n=16$, panel A). Le panel B (*mean increase score*) représente l'augmentation moyenne de la locomotion suite à l'injection aiguë de cocaïne (différence entre le jour de pré-exposition et le jour 1). Le panel C (*mean individual slopes*) représente le taux de sensibilisation moyen. Différence significative à $P<0,05$: **a**, différence avec le groupe salin correspondant; **b**, différence par rapport à la première session d'administration chez les WT (données non publiées).

Lorsqu'une dose de 12 mg/kg est injectée par voie sous-cutanée pour la première fois, une augmentation de la locomotion se produit et ce, de manière plus marquée chez les KO MCHR1 (figure 22, panel B) (ANOVA double : effet principal du traitement: $F_{(1,60)}=31,44$; $P<0,0001$).

Lorsque les injections sont répétées sur un total de neuf jours, une sensibilisation comportementale se développe de manière quasi-linéaire chez les deux génotypes (panels A et C) (ANOVA en mesures répétées (2x2x9) : effet principal du traitement : $F_{(1,60)}=43,97$; $P<0,0001$ et de la session : $F_{(1,60)}=29,22$; $P<0,0001$ et interaction traitement x session : $F_{(1,60)}=219,35$; $P<0,0001$ et ANOVA double pour les *slopes* : effet principal du traitement : $F_{(1,60)}=8,41$; $P=0,005$). Une analyse des pentes de régression sur les quatre premières sessions du traitement chronique ne permet pas de différencier non plus les deux génotypes (ANOVA double : effet principal du traitement: $F_{(1,60)}=21,81$; $P<0,0001$).

Cependant, une différence apparaît entre eux en ce qui concerne le seuil de stimulation locomoteur. De fait, que ce soit le premier ou le dernier jour de traitement, les KO présentent un seuil de stimulation locomoteur plus élevé que celui des WT (panels A et B, différence « c » chez les KO).

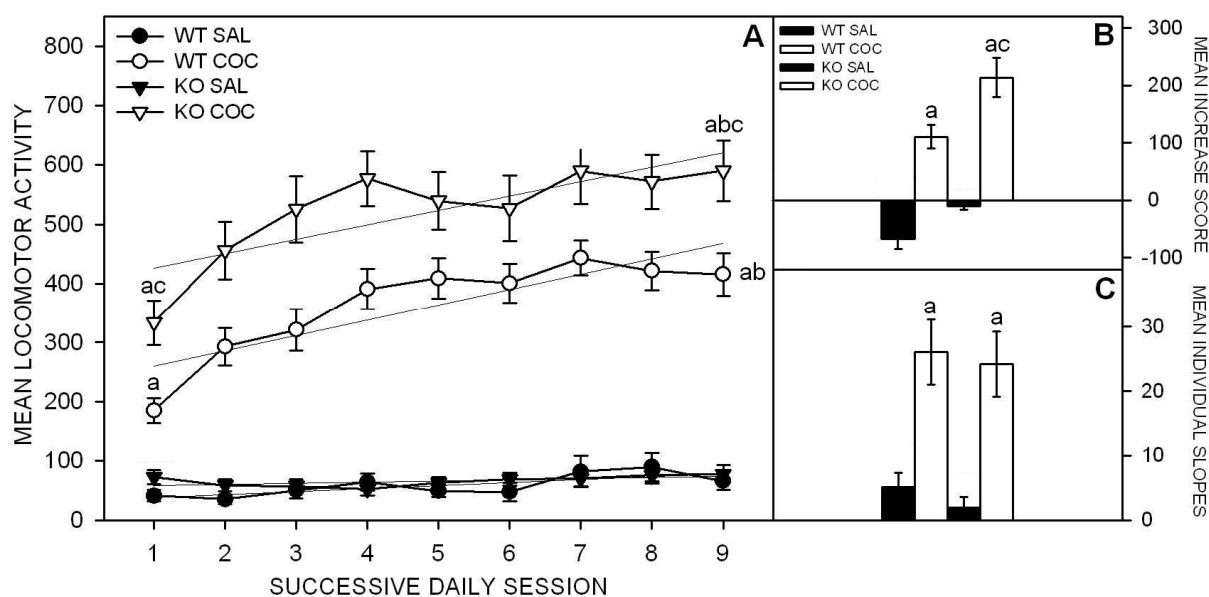


Figure 22. Activité locomotrice moyenne (\pm ESM) induite par les injections s.c. répétées de cocaïne à 12 mg/kg (panel A) chez les WT et KO MCHR1 (n=16). Le panel B (*mean increase score*) représente l'augmentation moyenne de la locomotion suite à l'injection aiguë de cocaïne (différence entre jour de pré-exposition et jour 1). Le panel C (*mean individual slopes*) représente le taux de sensibilisation moyen (également représenté sous forme de droite linéaire dans le panel A). Différence significative à $P<0,05$: **a**, différence avec le groupe salin correspondant; **b**, différence par rapport à la première session d'administration; **c**, différence entre les génotypes ayant reçu la cocaïne (données non publiées).

Une fois le traitement chronique terminé, l'ensemble des animaux reçoivent une injection de cocaïne (groupes contrôles y compris). Les résultats locomoteurs sont représentés par génotype et par dose séparément (Figure 23).

Les données relatives au décours temporel de la session sont illustrées sur les graphiques principaux et ont été analysées avec des ANOVAs en mesures répétées (2 groupes x 6 intervalles de temps). Les données locomotrices totales enregistrées sur les 30 minutes de sessions sont représentées par les inserts situés à l'intérieur de chacun des graphiques principaux et sont analysées avec des ANOVAs simples.

Avec la dose de 6 mg/kg (panels A et B), les résultats statistiques montrent que les WT du groupe « cocaïne » sont légèrement stimulées en fin de session par rapport à leur groupe contrôle (panel A) (effet principal du traitement : $F_{(1,150)}=1,99$; $P=0,02$). Ces résultats sont confirmés par les moyennes marginales ($F_{(1,30)}=5,98$; $P=0,023$). En ce qui concerne les KO, aucun effet significatif n'est relevé, que ce soit pour le décours temporel ou les moyennes totales.

Lorsque la dose de 12 mg/kg est injectée (panels C et D), le même pattern de résultats est observé pour les deux génotypes, à savoir une stimulation locomotrice continue dès le début de la session pour les groupes « cocaïne » (ANOVA en mesures répétées, pour les **WT** : effet principal du traitement : $F_{(1,30)}=54,2$; $P<0,0001$ et de la session : $F_{(5,150)}=4,75$; $P<0,001$ et interaction traitement x session : $F_{(5,150)}=4,71$; $P<0,001$ et pour les **KO** : effet principal du traitement : $F_{(1,30)}=67,1$; $P<0,0001$ et de la session : $F_{(5,150)}=8,87$; $P<0,0001$ et interaction traitement x session : $F_{(5,150)}=3,55$; $P<0,001$). La locomotion totale est également plus importante chez les groupes « cocaïne » (ANOVA simple, pour les **WT** : $F_{(1,30)}=54,24$; $P<0,0001$ et pour les **KO** : $F_{(1,30)}=67,1$; $P<0,0001$). Une comparaison a posteriori entre les génotypes ayant été conditionnés avec 12 mg/kg de cocaïne indique que la locomotion totale des KO est plus élevée que celle des WT lors de ce test de sensibilisation (ANOVA simple : $F_{(1,30)}=9,17$; $P<0,005$).

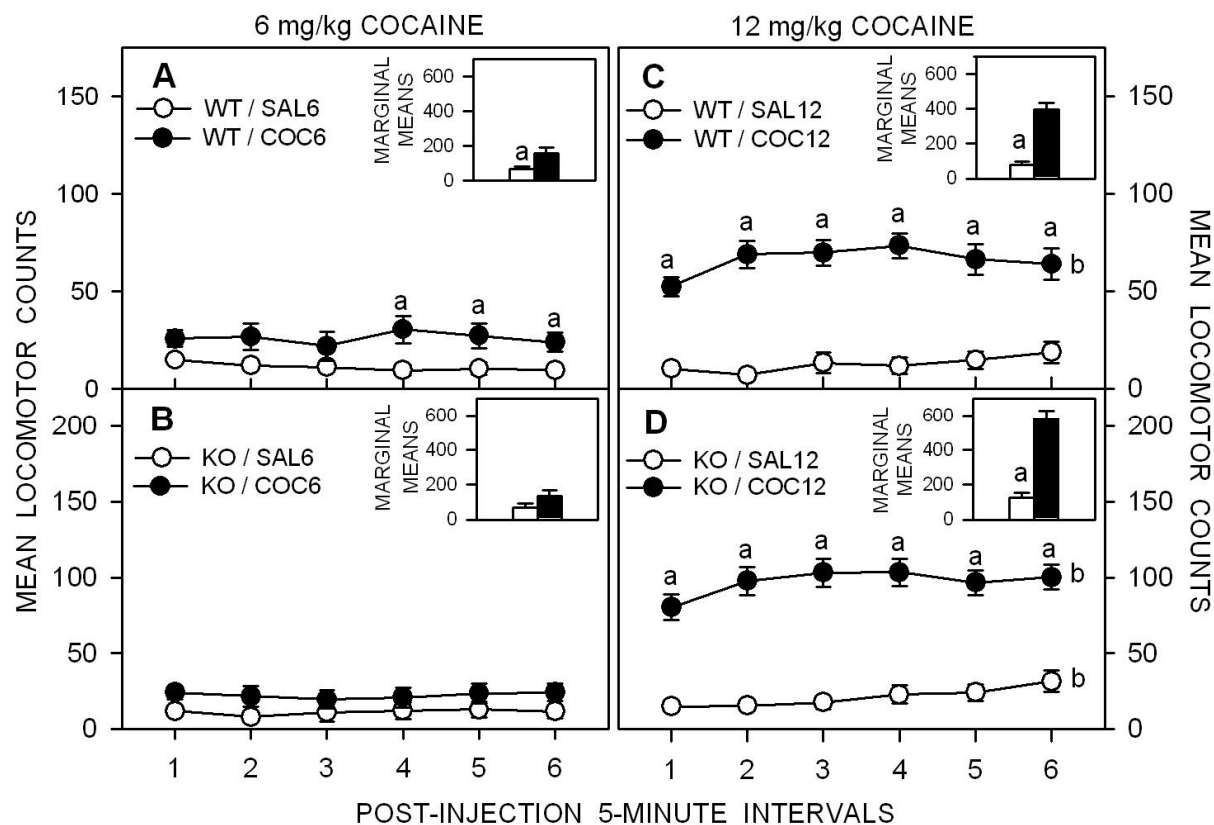


Figure 23. Scores locomoteurs moyens (\pm ESM) induits par une injection s.c. de cocaïne (6 ou 12 mg/kg pour les groupes « cocaïne » et « salin ») 24h après la dernière session du traitement chronique avec 6 mg/kg (panels A et B) ou 12 mg/kg (panels C et D) chez les WT et KO MCHR1 (n=16). Les inserts montrent les effets principaux du traitement (saline versus cocaïne, moyenne marginale) pour chaque génotype et dose séparément. Différence significative à $P < 0,05$: **a**, différence avec le groupe salin; **b**, différence avec les scores obtenus lors du premier intervalle de 5 minutes (données non publiées).

En résumé, il ressort que, pour la dose de 6 mg/kg, les WT précédemment conditionnés à la cocaïne expriment une sensibilisation comportementale, mais pas les KO. Ces résultats peuvent s'expliquer par le fait que le groupe salin chez les KO ait été plus stimulé par la dose de cocaïne que le groupe salin WT, empêchant la mise en évidence d'une différence avec le groupe « cocaïne » chez les KO.

A contrario, la dose de 12 mg/kg injectée en s.c. permet l'expression de la sensibilisation chez les deux génotypes, et ce, de manière plus marquée chez le groupe « cocaïne » KO.

Le lendemain, les différents groupes sont tous testés sous soluté salin (Figure 24). Les résultats obtenus diffèrent légèrement de ceux obtenus la veille lors du test de sensibilisation. Les graphiques A et B représentent les scores locomoteurs moyens obtenus pour les groupes précédemment traités avec 6 mg/kg de cocaïne. Les WT présentent une réponse conditionnée légère, mais significative, tandis que les KO exhibent une réponse conditionnée plus marquée par rapport à leur groupe contrôle (ANOVA en mesures répétées, pour les **WT** : interaction traitement x session : $F_{(5,150)}=2,01$; $P=0,08$ et pour les **KO** : effet principal du traitement : $F_{(1,30)}=8,65$; $P=0,006$ et de la session : $F_{(5,150)}=2,5$; $P=0,03$. ANOVA simple pour les **WT** : $F_{(1,30)}=6,29$; $P=0,017$ et pour les **KO** : $F_{(1,30)}=7,08$; $P=0,012$).

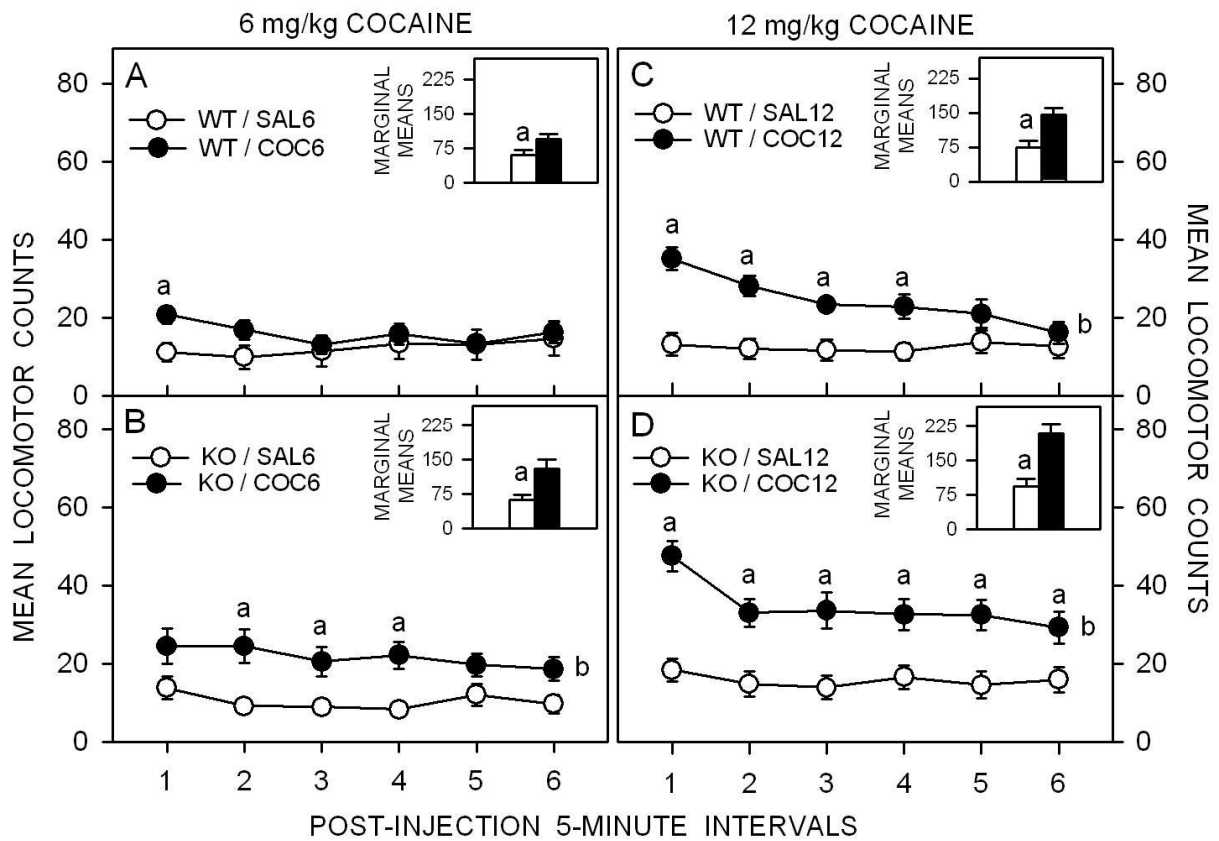


Figure 24. Scores locomoteurs moyens (\pm ESM) induits par une injection s.c. de soluté salin 48h après la dernière session du traitement chronique avec 6 mg/kg (panels A et B) ou 12 mg/kg (panels C et D) chez les WT et KO MCHR1 (n=16). Les inserts montrent les effets principaux du traitement (saline versus cocaïne, moyenne marginale) pour chaque génotype et dose séparément. Différence significative à $P<0,05$: **a**, différence avec le groupe saline; **b**, différence avec les scores obtenus lors du premier intervalle de 5 minutes (données non publiées).

Pour les groupes conditionnés avec 12 mg/kg (panels C et D de la figure 24), les deux génotypes montrent une réponse conditionnée marquée, à savoir un score locomoteur moyen plus élevé que celui des groupes contrôles correspondant (ANOVA en mesures répétées, pour les **WT** : effet principal du traitement : $F_{(1,30)}=12,3$; $P=0,0014$ et de la session : $F_{(5,150)}=9,6$; $P<0,0001$ et interaction traitement x session : $F_{(5,150)}=9,17$; $P<0,0001$ et pour les **KO** : effet principal du traitement : $F_{(1,30)}=19,3$; $P=0,0001$ et de la session : $F_{(5,150)}=6,76$; $P<0,0001$ et interaction traitement x session : $F_{(5,150)}=3,3$; $P=0,007$).

En ce qui concerne les inserts, les analyses confirment que les deux génotypes ayant été conditionnés avec la cocaïne sont plus stimulés que leur groupe contrôle respectif (ANOVA simple pour les **WT** : $F_{(1,30)}=12,3$; $P=0,0014$ et pour les **KO** : $F_{(1,30)}=19,38$; $P=0,00012$) et ce, de manière plus marquée chez les KO MCHR1 (ANOVA simple comparant les scores locomoteurs totaux des WT et KO des groupes « cocaïne » : $F_{(1,30)}=6,4$; $P=0,016$).

En résumé, il apparaît que le conditionnement avec la dose plus élevée de 12 mg/kg de cocaïne produise chez les WT une réponse conditionnée plus importante que le conditionnement avec 6 mg/kg. Chez les KO, les deux doses induisent un effet conditionné, même s'il est plus faible pour la dose de 6 mg/kg. Cet effet pourrait être expliqué par le fait que les scores locomoteurs du groupe salin dans l'expérience avec 6 mg/kg soient retombés à un seuil plus bas (par rapport à la veille sous cocaïne), permettant la mise en évidence d'une différence avec le groupe « cocaïne ».

2. Discussion

Cette expérience avec la cocaïne injectée en s.c. nous a permis d'observer que :

- ✓ Lors de la première injection de cocaïne, l'augmentation relative de l'activité locomotrice est comparable chez les deux génotypes pour 6 mg/kg, mais pas pour 12 mg/kg où les KO sont nettement plus stimulés que les WT;
- ✓ La répétition des injections de 6 mg/kg de cocaïne aboutit au développement d'une faible sensibilisation comportementale chez les WT uniquement. A contrario, le traitement chronique avec la dose de 12 mg/kg engendre une sensibilisation comportementale marquée chez deux génotypes, avec un seuil de stimulation en moyenne plus élevé chez les KO.

- ✓ L'expression de la sensibilisation est attestée par le test de sensibilisation et le test placebo chez les deux génotypes conditionnés avec 12 mg/kg de cocaïne et ce, de manière plus marquée chez les KO.
- ✓ Pour les groupes traités chroniquement avec 6 mg/kg, l'expression de la sensibilisation comportementale se produit faiblement chez les WT. Chez les KO, au contraire, la fluctuation des scores du groupe salin, selon qu'il est testé sous cocaïne ou non, ne permet pas différencier les deux groupes KO pour le test de sensibilisation, mais bien pour le test sous soluté salin.

Les résultats de cette étude mettent en évidence que les KO MCHR1 sont nettement plus stimulés lorsque la cocaïne est injectée par voie sous-cutanée par rapport à la voie intrapéritonéale. Cette différence se remarque également chez les WT, mais dans une moindre mesure, pour le traitement chronique avec 6 mg/kg. En effet, une faible sensibilisation s'est développée à la fin de celui-ci, alors qu'aucun effet n'était observé dans l'expérience précédente (Tyhon *et al.*, 2006).

Cette différence de réactivité à la cocaïne selon le mode d'administration peut s'expliquer par une absorption plus lente de la substance en sous-cutané. De fait, il a été montré que la demi-vie plasmatique de la cocaïne injectée en s.c. dans l'organisme était plus longue que lors d'une administration en i.p. (Durazzo *et al.*, 1994; Nayak *et al.*, 1976).

Ainsi, la différence de stimulation locomotrice observée entre les génotypes pour la dose la plus élevée de cocaïne pourrait être sous-tendue par une activation prolongée du système dopaminergique due à une diffusion plus lente de la drogue dans l'organisme.

3. Conclusions

Il apparaît donc nécessaire d'avoir une activation suffisamment longue du système DA pour que l'absence du récepteur 1 à la MCH produise des effets locomoteurs marqués. Ainsi, l'axe MCH/MCHR1 semble diminuer cette activation dopaminergique, ce qui se traduit ici par une stimulation locomotrice observable, mais moins élevée.

4.5. Expérience n°3 : l'amphétamine administrée par voie intrapéritonéale

Au vu de l'expérience avec la cocaïne administrée en sous-cutané, il apparaît qu'une stimulation prolongée du système DA permet de mettre en évidence un effet de l'absence des MCHR1. Dans l'étude de Smith et collègues (2005), un autre agoniste DA est employé, à savoir l'amphétamine, et les auteurs concluent à une hypersensibilité DA chez les KO MCHR1. Nous avons donc testé les effets locomoteurs de D-amphétamine chez les KO, en utilisant plusieurs doses proches de celles de l'étude de Smith (voir Tyhon *et al.* (2008a) dans la partie Annexes).

1. Matériel et protocole

Dans une première expérience, les souris ont été traitées durant cinq jours consécutifs avec du soluté salin, 1.5 ou 3 mg/kg de D-amphétamine (n=10). Dans une seconde expérience, une dose de 2.25 mg/kg de D-amphétamine a été administrée pendant dix jours consécutifs (n=14). Le lendemain du dixième jour d'injection, les animaux ont été testés sous soluté salin dans le but d'évaluer la réponse conditionnée.

Dans le cadre des deux expériences, les scores locomoteurs ont été mesurés quotidiennement sur des sessions de 70 minutes après l'injection de l'amphétamine. Les souris étaient préalablement exposées au contexte durant 15 minutes.

2. Analyses statistiques

Les résultats de cette étude sont présentés sous deux formes. Tout d'abord, il y a les effets psychomoteurs aigus des différentes doses qui ont été analysés avec des ANOVAs à mesures répétées (2 génotypes x 3 doses x 14 intervalles de 5 minutes pour l'expérience n°1 et 2 génotypes x 2 doses x 14 intervalles de 5 minutes pour l'expérience n°2).

Ensuite, viennent les données relatives au développement de la sensibilisation locomotrice durant le traitement chronique de cinq (expérience n°1) ou dix jours (expérience n°2). Chaque session représente le total de l'activité locomotrice observée durant les 70 minutes post-injection. Ces données ont à nouveau été analysées avec une ANOVA en mesures répétées (pour l'expérience n°1 : 2 génotypes x 3 doses x 5 sessions et pour l'expérience n°2 : 2 génotypes x 2 doses x 10 sessions). Les pentes de régression individuelles ont également été calculées sur l'ensemble des (5 ou 10) sessions ainsi qu'un delta score.

Ce score delta représente la différence entre le total des scores locomoteurs obtenus le premier et le dernier jour de conditionnement et permet de mesurer l'amplitude finale de la sensibilisation. Les éventuelles différences entre les génotypes ou les doses pour ces deux indices ont été analysées via des ANOVAs doubles (2 génotypes x 2 ou 3 doses selon l'expérience).

3. Résultats

La figure 25 représente l'effet de la première injection de 1.5 et 3 mg/kg de D-amphétamine sur l'activité locomotrice des WT et KO MCHR1. Comme observé dans le panel A, la dose de 3 mg/kg produit une augmentation marquée de l'activité locomotrice après 20 minutes chez les KO par rapport aux scores des WT qui n'évolueront plus et auront plutôt tendance à diminuer à partir de 30 minutes (interaction triple génotype x dose x intervalle : $F_{(26,546)}=6,31$; $P<0,0001$). Cette différence se retrouve si l'on considère les valeurs moyennes totales de chacun des groupes sur les 70 minutes de session (interaction génotype x dose : $F_{(2,42)}=6,99$; $P<0,0025$) (panel B). En ce qui concerne la dose plus faible de 1.5 mg/kg, elle ne semble pas être suffisamment stimulante pour produire une augmentation significative de la locomotion chez aucun des deux génotypes étudiés.

Le décours temporel des scores locomoteurs suite à l'injection aiguë de 2.25 mg/kg de D-amphétamine est représenté à la figure 26 (panel A). Contrairement à la dose de 1.5 mg/kg, les deux génotypes sont significativement stimulés (effet principal du traitement : $F_{(1,52)}=28,65$; $P<0,0001$). Cependant, cette augmentation de l'activité locomotrice se produit de manière similaire, sans différencier les deux génotypes (scores totaux du panel B).

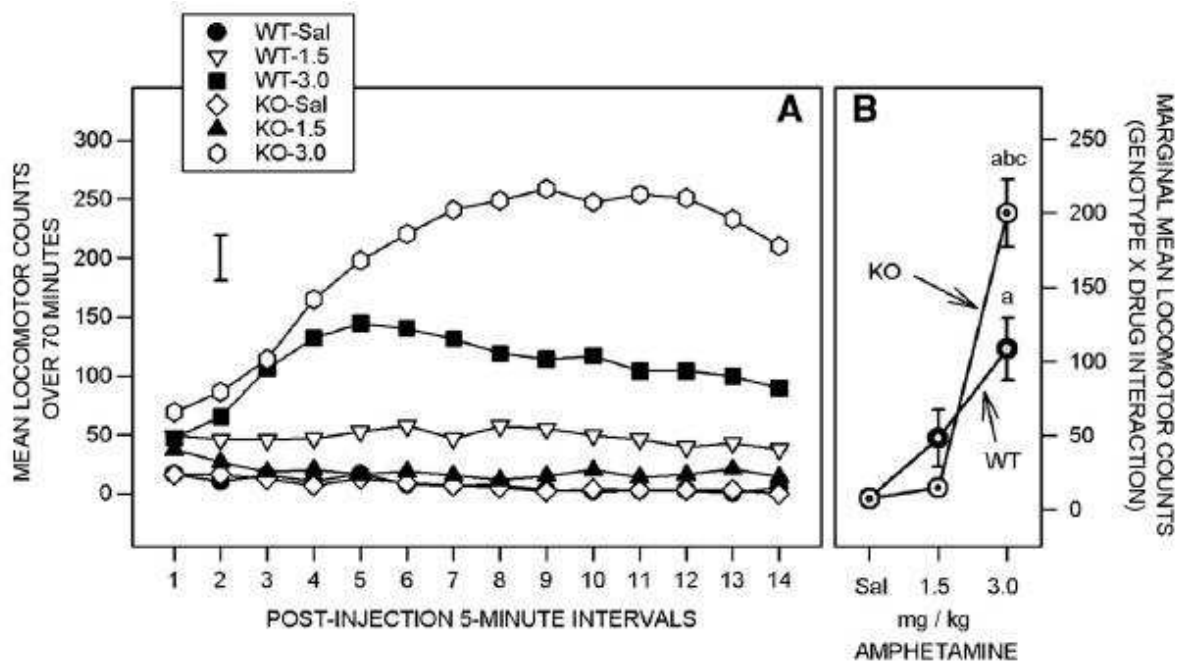


Figure 25. Activité psychomotrice moyenne induite par une injection i.p. aiguë de D-amphétamine à 1.5 et 3 mg/kg chez les WT et KO MCHR1 (n=10). Le panel A représente le dérours temporel des 70 minutes de session (\pm ESM totaux). Le panel B représente la moyenne des scores locomoteurs de chaque groupe (\pm ESM). Différence significative à $P < 0,05$: **a**, différence avec le groupes salin correspondant ; **b**, différence avec le groupe ayant reçu 1.5 mg/kg correspondant ; **c**, différence entre les groupes ayant reçu 3 mg/kg (Tyhon *et al.*, 2008a, fig. 1, p. 449).

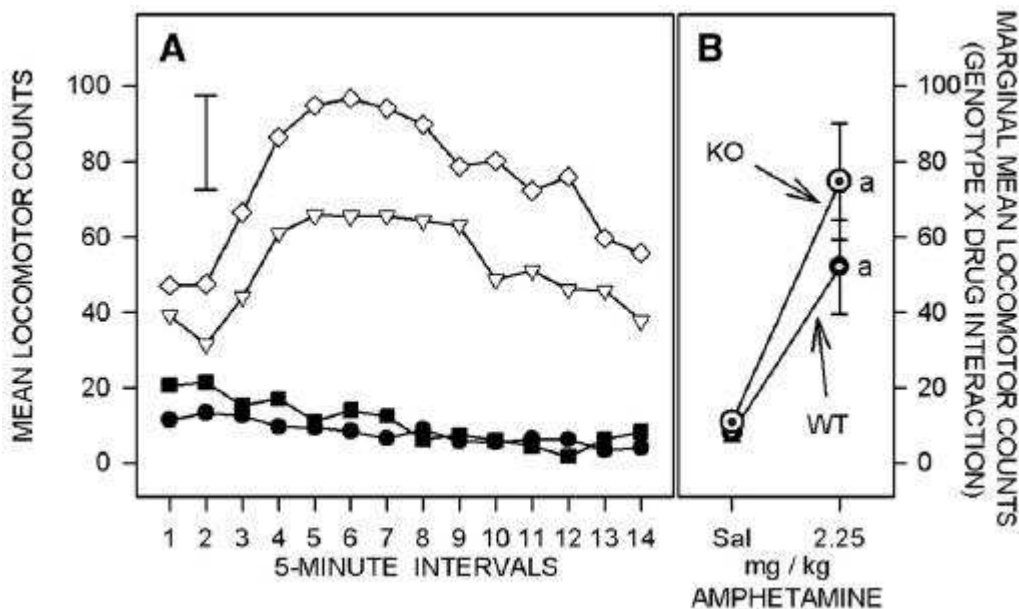


Figure 26. Activité psychomotrice moyenne induite par une injection i.p. aiguë de D-amphétamine à 2.25 mg/kg chez les WT et KO MCHR1 (n=14). Le panel A représente le dérours temporel des 70 minutes de session (\pm ESM totaux). Le panel B représente la moyenne des scores locomoteurs de chaque groupe (\pm ESM). Différence significative à $P < 0,05$: **a**, différence avec le groupe salin correspondant (Tyhon *et al.*, 2008a, fig. 3, p. 450).

Le développement de la sensibilisation locomotrice est représenté à la figure 27. Il apparaît clairement que les deux doses utilisées (1.5 et 3 mg/kg) produisent, au bout des cinq injections journalières, une augmentation significative de la locomotion chez les deux génotypes (effets principaux de la dose : $F_{(4,216)}=12,28$; $P<0,0001$, et de la session : $F_{(4,54)}=4,31$; $P<0,020$, interaction génotype x dose : $F_{(4,216)}=28,65$; $P<0,0001$) (panel A). Ces résultats sont appuyés par les comparaisons planifiées effectuées entre les valeurs de la première et de la dernière session pour chacun des groupes (valeurs P sur le graphique).

En ce qui concerne le taux et l'amplitude de ces courbes de sensibilisation (panels B et C), il apparaît qu'elles sont significativement plus grandes que celles des groupes contrôles, mais ne diffèrent pas entre les génotypes (effet principal de la dose pour les deltas scores : $F_{(2,42)}=27,25$; $P<0,0001$, et pour les *slopes* : $F_{(2,42)}=13,67$; $P<0,0001$). Des comparaisons planifiées au sein de chaque génotype ont mis en évidence que le taux et l'amplitude de la sensibilisation étaient dose-dépendants chez les WT, mais pas chez les KO.

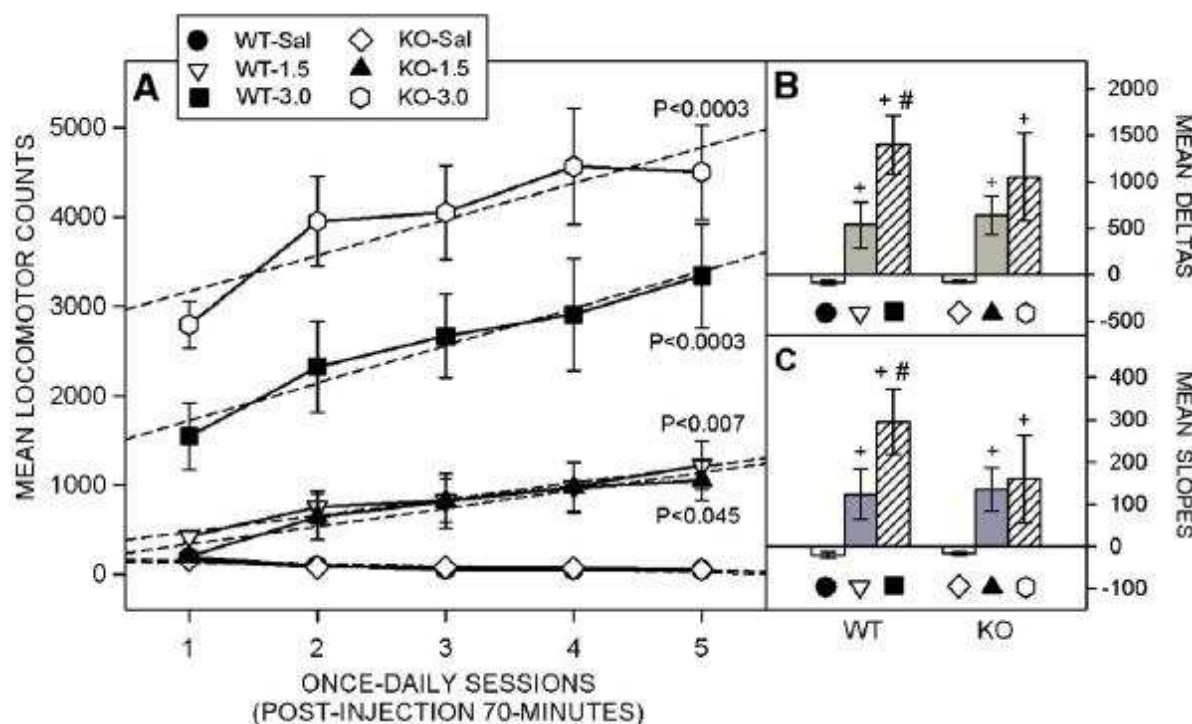


Figure 27. Activité psychomotrice moyenne (\pm ESM) induite par cinq injections de D-amphétamine à 1.5 et 3mg/kg chez les WT et KO MCHR1 (n=10) (panel A). Le panel B représente l'augmentation moyenne relative de l'activité locomotrice de chacun des six groupes expérimentaux (scores delta \pm ESM). Le panel C représente les taux moyens de sensibilisation de chaque groupe (*slopes* \pm ESM). Les différentes valeurs P inscrites sur le graphique renvoient aux comparaisons planifiées entre les scores de la première et de la dernière session. Différence significative à $P<0,05$: (+) différence significative avec le groupe salin correspondant ; (#) différence significative avec le groupe correspondant ayant reçu 1.5 mg/kg (Tyhon *et al.*, 2008a, fig. 2, p. 449).

Pour le traitement chronique avec 2.25 mg/kg de D-amphétamine (figure 28, panel A), une sensibilisation comportementale robuste se développe au fil des sessions, mais de manière similaire chez les deux génotypes (effets principaux du traitement : $F_{(1,52)}=68,87$; $P<0,0001$, et de la session : $F_{(4,216)}=12,28$; $P<0,0001$; interaction traitement x session : $F_{(9,468)}=9,13$; $P<0,0001$). Les comparaisons planifiées effectuées sur les données révèlent que les valeurs du dixième jour d'injection diffèrent significativement de celles de la première session (valeurs P sur le graphique). De plus, les analyses effectuées sur les données des deltas scores et des *slopes* indiquent que les animaux traités avec la drogue diffèrent de manière significative de leurs groupes contrôles respectifs, mais pas entre eux (effet principal du traitement pour les deltas scores : $F_{(1,52)}=26,02$; $P<0,0001$, et pour les *slopes* : $F_{(1,52)}=21,98$; $P<0,0001$).

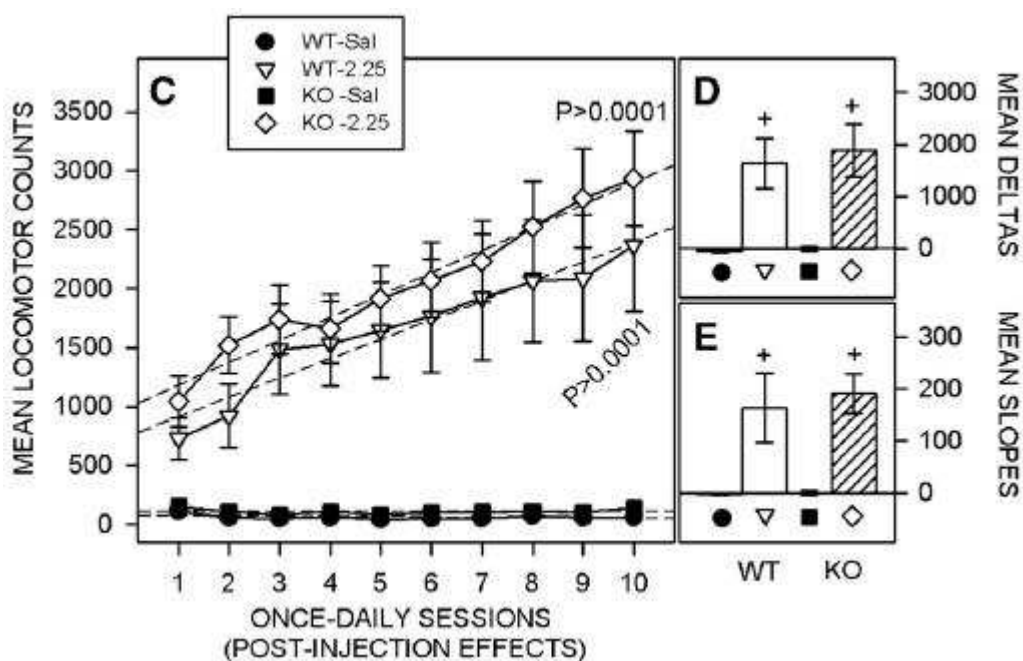


Figure 28. Activité psychomotrice moyenne (\pm ESM) induite par dix injections de D-amphétamine à 2.25 mg/kg chez les WT et KO MCHR1 ($n=14$) (panel C). Le panel D représente l'augmentation moyenne relative de l'activité locomotrice (scores delta \pm ESM). Le panel E représente les taux moyens de sensibilisation de chaque groupe (*slopes* \pm ESM). Les différentes valeurs P inscrites sur le graphique renvoient aux comparaisons planifiées entre les scores de la première et de la dernière session. Différence significative à $P<0,05$: (+) différence significative avec le groupe salin correspondant (Tyhon *et al.*, 2008a, fig. 3, p. 450).

Le lendemain du dernier jour de traitement chronique avec 2.25 mg/kg (jour 11), l'ensemble des animaux testés ont été injectés avec du soluté salin afin d'évaluer la présence d'une éventuelle activité conditionnée (figure 29, décours temporel aux panels A et C et activité totale aux panels B et D).

Les différentes analyses effectuées ont révélé une différence entre les prétraitements (salin versus amphétamine, effet principal : $F_{(1,52)}=11,72$; $P<0.002$), qui se manifeste quasi durant la totalité de la session (interaction traitement x session : $F_{(13,676)}=2,39$; $P<0.004$). Ces résultats suggèrent qu'une activité locomotrice conditionnée est présente chez les deux génotypes, qui ne diffèrent pas entre eux (panels A et C). Ces résultats sont corroborés par les analyses effectuées sur l'activité locomotrice totale (effets principaux du génotype : $F_{(1,52)}=4,72$; $P<0.035$, et du traitement : $F_{(1,52)}=23,12$; $P<0.0001$), indiquant qu'au sein de chaque génotype, le groupe prétraité avec l'amphétamine présente une réponse locomotrice plus élevée que le groupe ayant reçu du salin sur l'ensemble de la session (panels B et D).

Une autre comparaison statistique a également été effectuée impliquant les scores locomoteurs totaux et ceux des groupes contrôles correspondants obtenus lors de la première session du traitement chronique (ANOVA double : 2 génotypes x 2 jours de test – colonne hachurée des panels B et D). Cette comparaison avec des scores induits par l'effet de nouveauté du contexte a pour but de déterminer si l'activité locomotrice mesurée au onzième jour résulte d'un manque d'habituation au contexte ou pas (Keppel & Wickens, 2004). Dans ce cas-ci, l'activité mesurée le onzième jour de l'expérience constitue réellement une réponse conditionnée car, les scores entre les deux sessions diffèrent de manière significative (effet principal du prétraitement : $F_{(1,52)}=12,26$; $P<0.001$).

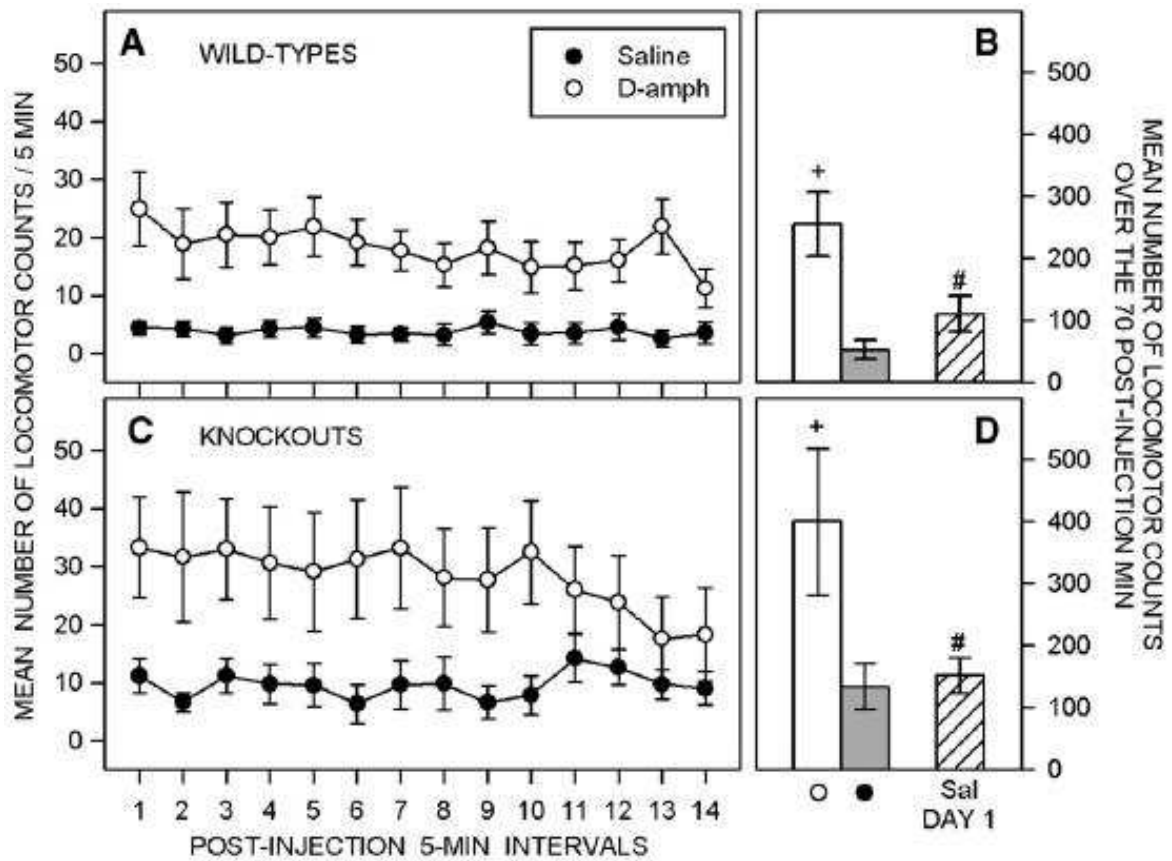


Figure 29. Activité locomotrice conditionnée (\pm ESM) sous salin mesurée le lendemain de la dixième injection de 2.25 mg/kg de D-amphétamine chez les WT (panels A et B) et KO MCHR1 (panels C et D) ($n=14$). Les panels A et C représentent le déroulé temporel de l'activité conditionnée (14 intervalles de 5 minutes, post-injection). Les panels B et D représentent le total de l'activité locomotrice sur l'entièreté de la session (70 minutes). La colonne hachurée indique les résultats locomoteurs du groupe salin obtenus lors de la première session du traitement chronique. Différence significative à $P < 0,05$: (+) différence significative avec le groupe salin correspondant; (#) différence significative avec le groupe prétraité avec la D-amphétamine (Tyhon *et al.*, 2008a, fig. 4, p. 451).

4. Discussion

Les résultats de cette étude réalisée sous amphétamine nous ont permis d'aboutir à plusieurs constatations:

- ✓ Seule la dose de 3 mg/kg produit une augmentation locomotrice plus marquée chez les KO MCHR1 lors de la première injection (les deux autres doses produisent une stimulation plus faible qui ne différencie pas les génotypes) ;
- ✓ La répétition des injections permet le développement d'une sensibilisation comportementale chez les deux génotypes, quelle que soit la dose employée (1.5, 2.25 ou 3 mg/kg), dont le taux et l'amplitude sont comparables. Néanmoins, la sensibilisation induite par la dose de 3 mg/kg s'effectue à un niveau de stimulation locomoteur plus élevé chez les KO MCHR1 ;
- ✓ Une fois le traitement chronique avec 2.25 mg/kg terminé, les deux génotypes présentent une activité locomotrice conditionnée significative.

Les effets psychomoteurs aigus observés chez les KO MCHR1 confirment en partie ceux reportés par Smith et collègues en 2005 (Figure 30). En effet, dans les deux études, les scores locomoteurs augmentent plus fortement chez les KO par rapport aux WT pour la dose de 3 mg/kg d'amphétamine. Par contre, pour les doses plus faibles (2 mg/kg chez Smith et 2.25 mg/kg dans cette étude-ci), les résultats obtenus diffèrent. Dans notre étude, les deux génotypes sont stimulés par l'injection de 2.25 mg/kg. Smith, par contre, observe une différence de stimulation entre ses génotypes à partir de la dose 2 mg/kg, différence qui résulte en partie de l'absence totale de stimulation locomotrice chez ses WT.

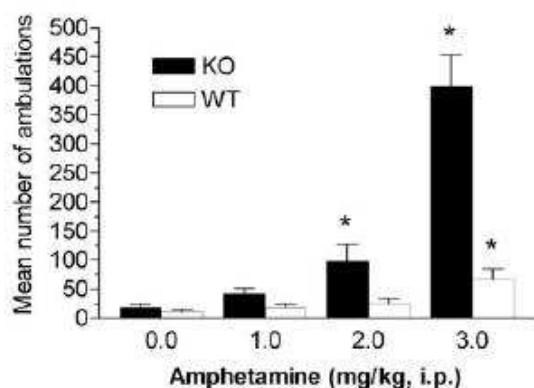


Figure 30. Effets locomoteurs moyens (+ ESM) suite à l'injection aiguë de D-amphétamine chez des WT et KO MCHR1 (n=9-10) sur une durée totale de 60 minutes. (*) P<0,05 par rapport aux valeurs du groupe contrôle correspondant (Smith *et al.*, 2005, fig. 3, p. 917).

La différence de réactivité à l'amphétamine entre les KO des différentes études (Tyhon *et al.* (2008a) versus Smith *et al.* (2005, 2008)) peut s'expliquer par le fond génétique utilisé dans la création de KO MCHR1. En effet, les KO de Smith proviennent d'un croisement entre les fonds génétiques 129S6/SvEv et C57BL/6J, alors que les KO de toutes nos recherches sont créés à partir du croisement entre les fonds 129X1/SvJ et C57BL/6J. Les deux souches de 129 sont connues pour réagir différemment aux effets stimulants et renforçants des psychostimulants, les 129S6 réagissant plus faiblement¹ (Paulus *et al.*, 1999; Ralph, Paulus & Geyer, 2001; Thomsen & Caine, 2006). Ainsi donc, le croisement génétique choisi pour la création des KO testés dans les études de Smith faciliterait l'établissement d'une différence marquée entre les génotypes, tandis que le choix du fond parental 129X1, moins hypoactif, ne permet pas d'établir des différences extrêmes entre WT et KO. D'ailleurs, ces derniers présentent peut-être une potentialisation moins importante de l'activité des récepteurs DA (Smith *et al.*, 2005).

Lorsque les différentes études sont à nouveau comparées, il apparaît aussi très nettement que l'influence des récepteurs à la MCH n'est pas équivalente selon que de la cocaïne ou de l'amphétamine est injectée. Cette dichotomie au niveau de la sensibilité locomotrice observée chez les KO MCHR1 pourrait résulter des différences inhérentes aux mécanismes d'action des deux substances. De fait, l'action de la cocaïne est essentiellement basée sur le blocage de la recapture de DA (et la 5-HT dans une moindre mesure) alors que celle de l'amphétamine est nettement plus orientée sur la libération et la recapture de DA et NE (Frantz, Stouffer & Parsons, 2000; Julien, 2001; Jones *et al.*, 1998; Rothman & Baumann, 2003; Schad, Justice & Holtzman, 1995). Il a été démontré que le génotype mutant possède plusieurs altérations au niveau du transport des monoamines dans le NAc, telles qu'une augmentation du taux de liaison au NET et une diminution pour le SERT, ce qui pourrait expliquer les différences de comportement (Smith *et al.*, 2005).

De plus, il a récemment été montré que l'application MCH augmentait la décharge électrique de neurones DA uniquement en présence d'agonistes D₁ et D₂ (Chung *et al.*, 2009). Il est donc possible que, pour être activée, la MCH ait besoin d'une « décharge » de dopamine qui peut être fournie plus facilement par l'injection d'amphétamine.

¹ Cette thématique sera abordée de manière plus approfondie dans la partie « Discussion générale » de ce chapitre.

Enfin, une récente étude a illustré que des souris déficientes en récepteurs NMDA ne présentaient pas (non plus) d'hyperactivité à la suite d'une injection aiguë de cocaïne, alors que leur sensibilité à l'amphétamine n'est pas altérée (Ramsey *et al.*, 2008). Pour conclure, il est fort probable que les effets comportementaux induit par la cocaïne chez nos KO MCHR1 soient distincts de ceux provoqués par l'amphétamine.

5. Conclusions

Nos résultats ne corroborent pas l'hypothèse d'hypersensibilité dopaminergique des KO MCHR1, du moins, avec la cocaïne. En effet, il est clair que les récepteurs à la MCH n'exercent pas d'action inhibitrice sur l'activité des monoamines du système mésocorticolimbique dans la mesure où les KO MCHR1 ne développent pas de sensibilisation locomotrice.

Néanmoins, nos résultats permettent de nuancer la proposition de Smith dans le sens où, malgré les incohérences dues aux différents fonds génétiques utilisés, l'action inhibitrice des MCHR1 serait spécifique à certaines drogues, à savoir l'amphétamine, et à certaines doses.

5. Expérience de renforcement

5.1. La paradigme de préférence de lieu conditionné (CPP)

Brièvement, ce paradigme consiste à exposer l'animal à deux environnements neutres qui diffèrent entre eux par de nombreuses caractéristiques, telles que la couleur ou la texture du sol. Un des deux compartiments sera associé à l'administration d'une drogue d'abus qui possède des propriétés renforçantes (comme par exemple, les psychostimulants, la nicotine ou les opiacés). Selon les principes de conditionnement classique, si un animal passe significativement plus de temps dans le compartiment associé précédemment à la drogue par rapport au compartiment associé au soluté salin, une préférence conditionnée de lieu est établie. A contrario, si la drogue est aversives (par exemple, le lithium chloride ou même de fortes doses de psychostimulants), l'animal passera significativement moins de temps dans le compartiment de l'appareil associé avec la prise de cette drogue et on parle alors d'aversion de lieu conditionnée (*conditioned place aversion*, CPA) (pour des synthèses de la littérature, voir Sanchis-Segura & Spanagel (2006) et Tzschentke (2007)).

L'avantage du CPP est que les animaux n'ont pas besoin de subir d'intervention chirurgicale, comme par exemple, pour l'auto-administration, et peut être établi avec un minimum de pairages et de faibles doses de drogues (Bardo & Bevins, 2000; Brabant, Quertemont & Tirelli, 2005). De plus, ce paradigme offre l'avantage de pouvoir mesurer l'activité locomotrice durant les sessions d'administration de la drogue, permettant ainsi d'évaluer le développement éventuel d'une sensibilisation comportementale au fil des sessions.

Nonobstant, ce modèle possède également certaines limitations, telles qu'un effet potentiel de la nouveauté le jour du test (vu que les animaux n'ont accès à l'entièreté de l'appareil que le premier jour d'expérience puis sont confinés dans un des deux compartiments jusqu'au jour du test). De plus, ce paradigme ne permet pas de mettre en place facilement des courbes doses-effets et ainsi, de répondre à certaines questions pharmacologiques. Il pose le problème de la préférence spontanée de l'animal pour un des deux compartiments et enfin, il n'a été appliqué que chez les rongeurs (Bardo & Bevins, 2000).

5.2. Matériel

Le test de préférence de lieu conditionnée pour souris provient de chez TSE (Technical & Scientific Equipment GmbH ; Place Preference System, modèle 257000-Mau). Chaque box de préférence de lieu conditionnée (*Conditioned Place Preference*, CPP) est composé de trois compartiments. Le compartiment central (13.5 x 6.7 x 20 cm) sépare les deux compartiments principaux (16.5 x 13.5 x 2 cm) et est composé de parois et d'un sol gris. Ce compartiment est neutre au niveau de la stimulation visuelle et tactile. Les deux compartiments principaux sont constitués de stimuli visuels et tactiles différents, l'un (compartiment A) est composé de parois striées noires et blanches et d'un sol avec des carrés pointillés (0.05 x 0.05 cm par carré) et l'autre (compartiment B) comprend une paroi blanche et un sol avec des carrés ondulés (0.2 x 0.2 cm par carré). Les parois représentent ainsi les stimuli visuels et les sols, les stimuli tactiles. Il y a 8 appareils de préférence de lieu au total et chaque appareil est isolé dans un box (67 x 39x 38 cm), éclairé et maintenu à température constante ($21 \pm 2^{\circ}\text{C}$).

Tous les appareils sont reliés à un ordinateur, permettant ainsi l'enregistrement de l'activité locomotrice et du temps passé dans chaque compartiment grâce à un programme (Software Pachege « Place Preference » pour Windows 95/98 et NT, modèle 257000-S). Les données sont collectées grâce à des cellules photoélectriques disposées autour des 3 compartiments (11 pour les compartiments principaux et 4 pour le compartiment central).

5.3. Expérience n°4 : le renforcement induit par la cocaïne et l'amphétamine

1. Protocole

L'expérience est composée de 3 phases : une phase d'habituation (Jour 1), une phase de conditionnement (Jours 2 à 9) et d'un test de préférence de lieu (Jour 10). Chaque exposition à l'appareil dure 20 minutes pour les expériences avec la cocaïne et 40 minutes pour celles avec l'amphétamine (voir Tyhon *et al.* (2008b) dans la partie Annexes).

Les groupes expérimentaux sont fonction du génotype, de la substance et de la dose injectée. Ainsi, les souris sont injectées en i.p. avec soit du salin, de la cocaïne (1, 2, 4 ou 8 mg/kg) ou de l'amphétamine (0.375, 0.75, 1.5 ou 3 mg/kg) selon le groupe expérimental auquel elles appartiennent.

Lors du jour d'habituation, toutes les souris reçoivent du salin et sont placées dans le compartiment central qui donne accès aux deux autres compartiments et cela, durant 20 ou 40 minutes selon la substance qui sera injectée le lendemain. Cette phase permet aux souris, d'une part, de visiter l'appareil, réduisant ainsi l'effet de nouveauté et d'autre part, de constituer des groupes équivalents au niveau de la préférence innée des animaux pour un des deux compartiments. En effet, le lendemain de cette phase de pré-exposition, les animaux sont recevront la drogue dans le compartiment qu'ils préfèrent le moins.

Ce type de protocole est dit « biaisé » car le choix du compartiment qui sera associé à la drogue n'est pas fait de manière aléatoire. Néanmoins, cette procédure a été validée pour de nombreuses substances chez les rongeurs (Bardo & Bevins, 2000; Calcagnetti & Schechter, 1993; Cunningham *et al.*, 2003). En effet, si un animal reçoit la drogue dans compartiment pour lequel il a déjà une préférence spontanée, le fait qu'il y passe plus de temps le jour du test ne permettra pas de déterminer si ce comportement est dû au fait que la drogue est renforçante ou parce que l'animal a une préférence naturelle pour ce compartiment (Seale & Carney, 1991).

Ceux qui n'appartiennent pas au groupe contrôle reçoivent la première injection de drogue et ainsi de suite, un jour sur deux, jusqu'à avoir reçu quatre injections au total. Les groupes contrôles reçoivent du soluté salin durant toute la durée de l'expérience. Les données relatives aux jours où l'injection de soluté salin remplace celle de drogue ne sont pas montrées.

Ce schéma d'alternance est conçu sur plusieurs jours (ici 8 jours au total) afin de permettre à l'animal de former une association entre les caractéristiques physiques qui composent le compartiment (couleur, texture) et les effets subjectifs ressentis avec la drogue. Ce conditionnement chronique intermittent permet également d'observer le développement éventuel d'une sensibilisation comportementale. Dans le cadre de cette étude, l'hypothèse de base est que les KO MCHR1 devraient être stimulées plus fortement que les WT, en tout cas pour des doses faibles d'amphétamine (Smith *et al.*, 2005, 2008).

Le test de préférence de lieu est réalisé 24h après la dernière session de conditionnement et a la même durée que les sessions précédentes. De façon similaire à la phase d'habituation, toutes les souris sont injectées avec du soluté salin et sont ensuite placées dans le compartiment central, ayant libre accès aux autres compartiments. Ce test permettait de déterminer si les souris sont renforcées par la substance via la mesure du temps passé dans le compartiment associé à la drogue durant la phase de conditionnement.

2. Analyses statistiques

Lors de la phase de pré-exposition à l'appareil, les animaux ont accès aux trois compartiments qui le composent. Les données relatives au temps passé dans les deux compartiments principaux sont analysées à l'aide d'une ANOVA à mesures répétées (2 génotypes x 2 compartiments). L'activité locomotrice totale observée sur l'entièreté de la session est également comparée entre les génotypes avec une ANOVA simple.

Le lendemain débute la phase de conditionnement avec injection de la drogue (cocaïne ou amphétamine) un jour sur deux. Les autres jours, c'est du soluté salin qui est administré. Les données locomotrices sont regroupées par doses (faibles versus fortes) et par génotypes. Elles sont analysées avec des ANOVA en mesures répétées (3 groupes x 4 sessions) afin d'objectiver le développement d'une sensibilisation comportementale. De plus, les pentes de régression individuelles ont été calculées. Ces moyennes sont analysées avec des t de Student unilatéraux afin de déterminer si elles sont positives et différentes de zéro, reflétant dans ce cas la présence d'une sensibilisation locomotrice.

Le lendemain de la dernière session de traitement chronique, la session de test est effectuée. A cet effet, l'ensemble des animaux est injecté avec du soluté salin et a accès aux trois compartiments de l'appareil. Ce test a pour but de mesurer le temps passé par l'animal dans chaque compartiment, avec un intérêt plus particulier pour les compartiments principaux. Un animal renforcé passera significativement plus de temps dans le compartiment qui aura été associé avec l'administration de drogue. Les effets potentiellement renforçants des deux psychostimulants ont été mesurés en termes du nombre de secondes passées dans le compartiment associé à la drogue. Ils ont été analysés avec des ANOVAs doubles (2 génotypes x 3 doses).

Un autre indice a également été calculé, à savoir le score delta. Ce dernier est obtenu à partir de la soustraction du temps passé dans le compartiment associé à la drogue le jour du test **moins** le temps passé dans le même compartiment durant la phase de pré-exposition. En d'autres termes, une comparaison du temps passé dans le compartiment associé à la drogue est effectuée avant et après la phase de conditionnement. Ainsi, un animal qui passera significativement plus de temps dans ce compartiment le jour du test par rapport à la phase d'habituation aura un score delta positif et élevé, reflétant une réponse de renforcement chez cet animal. A l'inverse, un animal non renforcé, comme par exemple, ceux du groupe salin, aura un score delta proche de zéro, voire négatif, car il ne passera pas plus de temps dans un compartiment ou l'autre entre les deux sessions. Il a également été analysé avec des ANOVAs doubles (2 génotypes x 3 doses).

3. Résultats

La phase de pré-exposition à l'appareil met en évidence une préférence spontanée chez l'ensemble des animaux pour le compartiment strié, plus sombre (N=168 pour l'expérience avec la cocaïne et N=192 pour celle avec l'amphétamine) (Figure 31, panels A et C). Ces résultats montrent un effet principal du compartiment (expérience cocaïne : $F_{(1,166)}=68.29$; $P<0.0001$ – expérience amphétamine : $F_{(1,190)}=51.37$; $P<0.0001$).

En ce qui concerne l'activité locomotrice, nous retrouvons les résultats paradoxaux soulignés dans la littérature (panels B et D). En effet, les KO MCHR1 sont légèrement plus actifs que les WT pour l'ensemble des expériences « cocaïne » ($F_{(1,166)}=6.18$; $P=0.013$), alors que cette augmentation n'est pas statistiquement significative pour l'ensemble des expériences « amphétamine » ($F_{(1,190)}=2.47$; $P=0.11$).

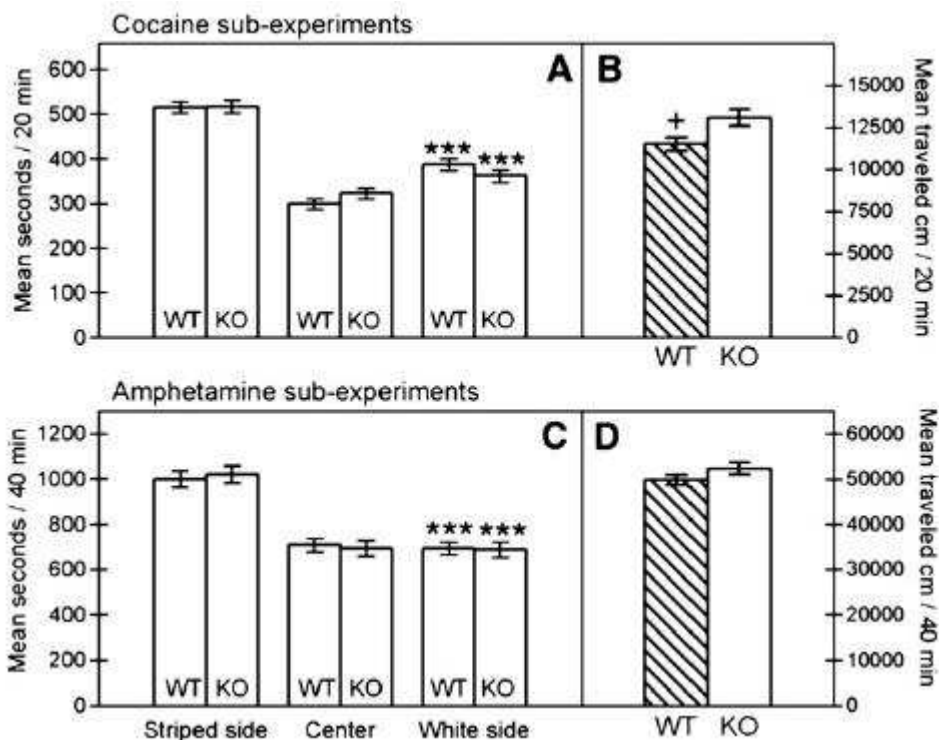


Figure 31. Session de pré-exposition sous soluté salin durant laquelle la préférence relative (\pm ESM) pour chacun des trois compartiments de l'appareil (panels A et C) est évalué chez les WT et KO MCHR1, ainsi que l'activité locomotrice moyenne totale (\pm ESM) observée durant la session (panels B et D). Cette session se déroule 24h avant les sessions de conditionnement avec la drogue, à savoir la cocaïne (n=84/génotype) et l'amphétamine (n=96/génotype). Différence statistique significative à $P < 0.05$. (***) : différence sign. entre les valeurs du compartiment strié (Striped side) et du compartiment blanc (White side) à $P < 0.001$; (+) : différence sign. entre les valeurs locomotrices moyennes des deux génotypes à $P < 0.015$ (Tyhon *et al.*, 2008b, fig. 1, p. 74).

En ce qui concerne la cocaïne, les injections intermittentes de faibles doses, telles que 1 et 2 mg/kg (Figure 32, panels A et B) ne permettent pas le développement d'une sensibilisation comportementale chez aucun des génotypes. L'effet aigu de ces injections sur l'activité locomotrice n'est même pas observé. Le traitement chronique avec une dose de 8 mg/kg, mais pas 4 mg/kg (panels C et D), provoque une stimulation locomotrice durant les quatre sessions. Cependant, cette activation ne diffère pas entre les génotypes et n'aboutit pas à une sensibilisation comportementale, dans la mesure où les scores de la dernière session ne sont pas plus élevés que ceux de la première session.

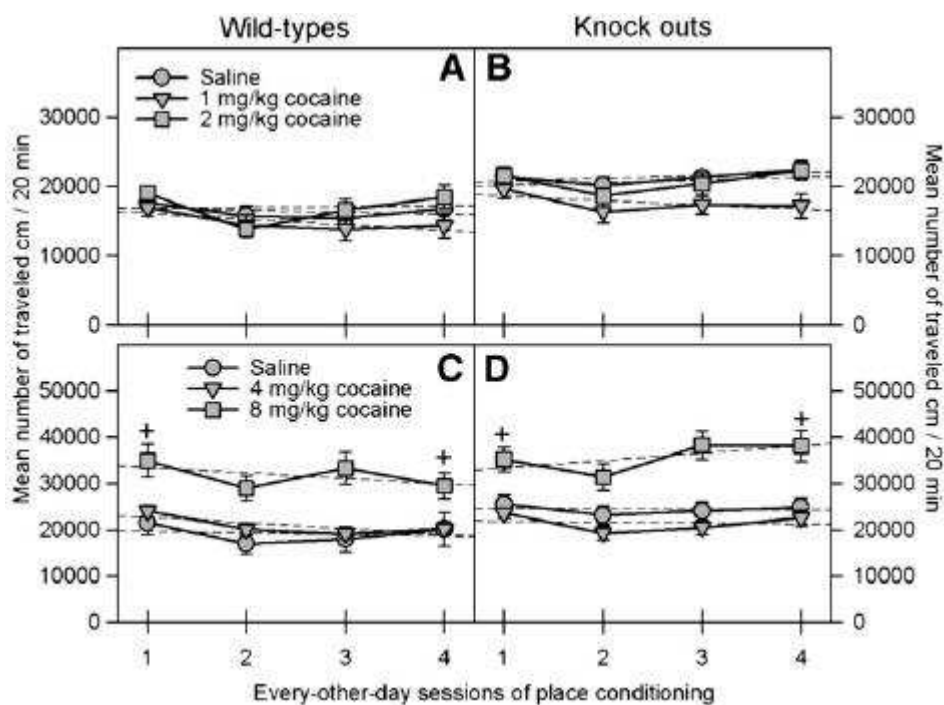


Figure 32. Effets psychomoteurs (\pm ESM) induits par quatre injections de différentes doses de cocaïne effectuées un jour sur deux chez les WT (panels A et C) et les KO MCHR1 (panels B et D). Les panels A et B représentent les doses faibles de cocaïne et les panels C et D, les doses fortes ($n=14$ /groupe). Différence statistique significative à $P<0.05$. (+) : valeur significativement plus grande que celle du groupe salin pour la première ou la quatrième session à $P<0.001$ (Tyhon *et al.*, 2008b, fig. 4, p. 76).

Lorsque de faibles doses d'amphétamine sont administrées, comme 0.375 et 0.75 mg/kg, les WT ne montrent aucun signe de stimulation, à court et à long terme (Figure 33, panel A). Par contre, du côté des KO, la dose 0.75 mg/kg engendre une légère, mais néanmoins significative, sensibilisation locomotrice (***) sur le panel B). Malgré la stimulation locomotrice produite par la dose 0.375 mg/kg, elle n'aboutit pas au développement d'une sensibilisation.

Pour les doses plus fortes, 1.5 et 3 mg/kg, les WT comme les KO (panels C et panel D, respectivement) présentent tous les deux une sensibilisation comportementale nette, avec un niveau de stimulation locomotrice plus élevé pour la dose 3 mg/kg et ce, dès la première injection.

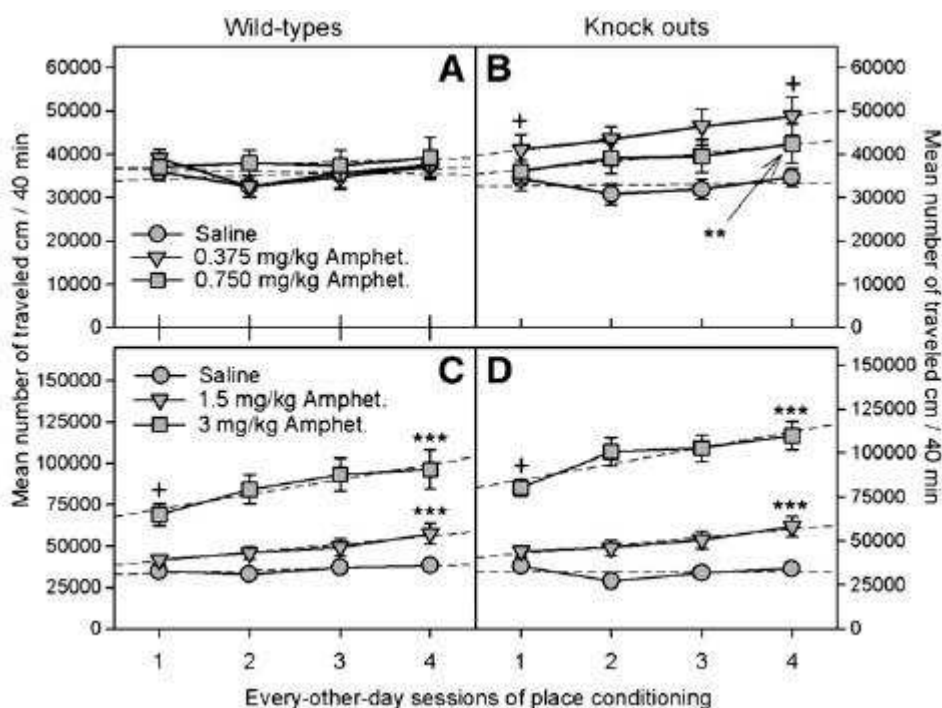


Figure 33. Effets psychomoteurs (\pm ESM) induits par quatre injections de différentes doses d'amphétamine effectuées un jour sur deux chez les WT (panels A et C) et les KO MCHR1 (panels B et D). Les panels A et B représentent les doses faibles d'amphétamine et les panels C et D, les doses fortes ($n=16$ /groupe). Différence statistique significative à $P<0.05$. (+) : valeur significativement plus grande que celle du groupe salin pour la première ou la dernière session à $P<0.01$ minimum. (**) ou (***) : valeurs significativement plus grandes que celles de la première session pour chaque groupe séparément et significativement différentes de celles du groupe salin à la quatrième session, avec $P<0.01$ ou $P<0.001$ respectivement (Tyhon *et al.*, 2008b, fig. 5, p. 76).

Sur les figures 32 et 33, les pentes de régression de chacun des groupes sont représentées par les lignes en pointillés qui suivent l'évolution des données brutes. Les pentes de régression relatives à l'administration d'amphétamine sont représentées par des points symbolisant la valeur de chaque moyenne avec leurs écarts-types (Figure 34). Après analyse des pentes de régression moyenne, il ressort que les WT ne présentent une telle réponse que pour les doses les plus élevées d'amphétamine ($t_{(15)}=3.11$ pour 1.5mg/kg et $t_{(15)}=3.87$ pour 3mg/kg, avec $P<0.008$ au minimum). Par contre, les KO MCHR1 exhibent une sensibilisation comportementale pour chacune des doses testées ($t_{(15)}=2.18$ pour 0.375 mg/kg, $t_{(15)}=4.03$ pour 0.750 mg/kg, $t_{(15)}=3.56$ pour 1.5 mg/kg et $t_{(15)}=4.35$ pour 3 mg/kg avec $P<0.045$ jusque $P<0.001$). Cette analyse permet de mettre en lumière la susceptibilité légèrement plus importante des KO à développer une sensibilisation pour les doses faibles d'amphétamine, à savoir 0.375 mg/kg et, plus particulièrement 0.750 mg/kg.

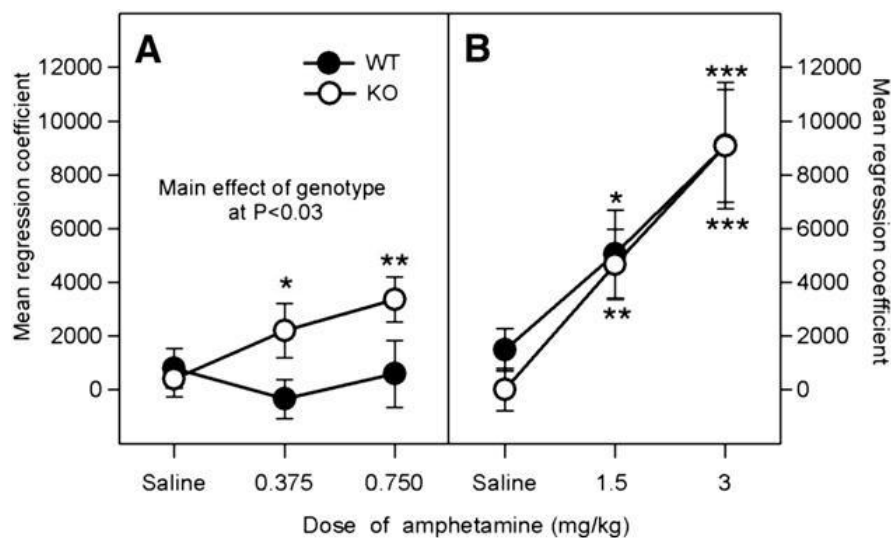


Figure 34. Comparaison entre les WT et les KO MCHR1 selon la valeur moyenne de leurs pentes de régression individuelle (\pm ESM), calculées sur base des scores locomoteurs induits par quatre injections de doses faibles (panel A) et fortes (panel B) d'amphétamine ($n=16$ /groupe). Différence statistique significative à $P<0.05$. (+) : valeur significativement plus grande que celle du groupe salin pour la première ou la dernière session à $P<0.01$ minimum. (*), (**) ou (***) : valeurs significativement plus grandes que celles du groupe salin correspondant, avec $P<0.05$, $P<0.01$ ou $P<0.001$ respectivement (Tyhon *et al.*, 2008b, fig. 6, p. 77).

Le lendemain de la dernière session de conditionnement, la session test est effectuée sous soluté salin. Les panels A et B de la figure 35 représentent les résultats récoltés lors l'expérience avec la cocaïne et les panels C et D, lors de l'expérience avec l'amphétamine.

Une préférence de lieu conditionné est clairement induite par toutes les doses de cocaïne, excepté celle de 1 mg/kg et ce, de manière comparable entre les génotypes. Ces résultats sont appuyés par l'absence d'un effet principal du génotype et de l'interaction génotype x dose et la présence d'un effet principal de la dose robuste (1 et 2 mg/kg : $F_{(2,78)}=8.95$; $P<0.001$, 4 et 8 mg/kg : $F_{(2,78)}=35.58$; $P<0.001$). En comparaison, les résultats de l'expérience réalisée avec l'amphétamine le jour du test (panels C et D) montrent que toutes les doses provoquent une préférence de lieu conditionné comparable entre les génotypes et les doses. Les résultats indiquent un effet principal de la dose, sans aucun autre résultat significatif (0.375 et 0.750 mg/kg : $F_{(2,90)}=9.19$; $P<0.001$, 1.5 et 3 mg/kg : $F_{(2,90)}=13.59$; $P<0.001$).

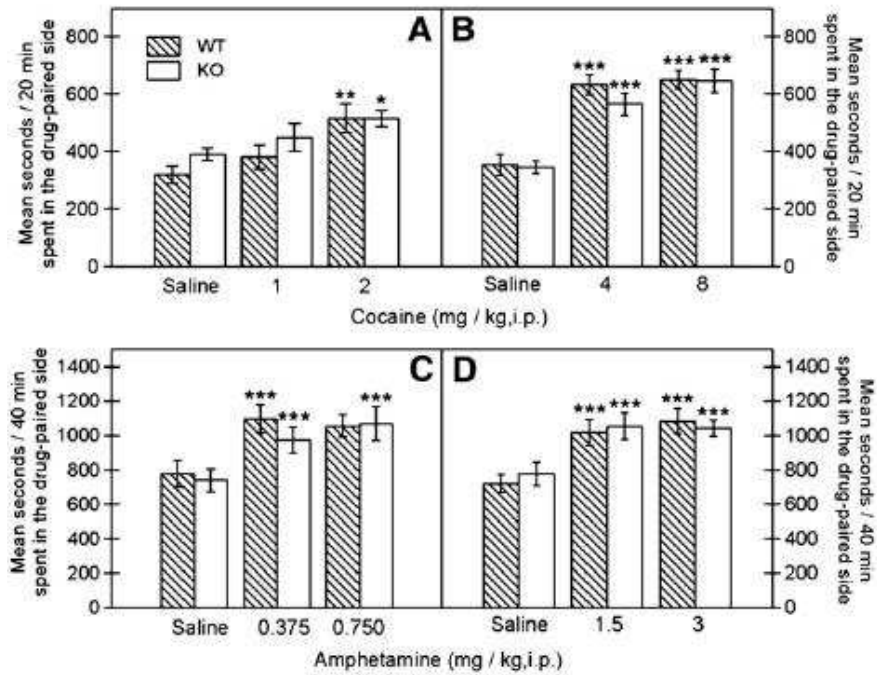


Figure 35. Préférence de lieu conditionnée induite par des doses de cocaïne (panels A et B, n=14) ou d'amphétamine (panels C et D, n=16) chez les WT et les KO MCHR1. La préférence est exprimée en termes de temps moyen (\pm ESM) passé dans le compartiment associé à la drogue durant la session de test. Différence statistique significative à $P < 0.05$. (*), (**) ou (***) : valeurs significativement plus grandes que celles du groupe contrôle correspondant pour chaque génotype séparément avec $P < 0.05$, $P < 0.01$ ou $P < 0.001$ respectivement (Tyhon *et al.*, 2008b, fig. 2, p. 75).

De manière similaire au graphique reprenant les données brutes, les scores deltas calculés pour l'expérience avec la cocaïne sont représentés aux panels A et B de la figure 36 et ceux de l'expérience avec l'amphétamine figurent dans les panels C et D. Les faibles doses de cocaïne induisent difficilement (2 mg/kg), voire pas du tout (1 mg/kg), d'augmentation de la préférence pour le compartiment associé à la drogue. Cela implique que ces doses ne sont pas suffisamment renforçantes. A contrario, les doses de 4 et 8 mg/kg produisent une préférence marquée, dont l'intensité a tendance à augmenter selon la dose (panel B). Néanmoins, aucune différence n'est relevée entre les génotypes, ce qui est sous-tendu par un effet principal de la dose (1 et 2 mg/kg : $F_{(2,78)}=7.42$; $P < 0.001$, 4 et 8 mg/kg : $F_{(2,78)}=34.67$; $P < 0.001$).

En ce qui concerne les expériences réalisées avec l'amphétamine (panels C et D), l'ensemble des doses testées induisent une préférence comparable, sans différence entre les génotypes. Aucun autre effet statistique ne sort des ANOVAs doubles (2 génotypes x 3 doses), mis à part un effet principal de la dose (0.375 et 0.750 mg/kg : $F_{(2,90)}=16.84$; $P<0.001$, 1.5 et 3 mg/kg : $F_{(2,90)}=9.9$; $P<0.001$).

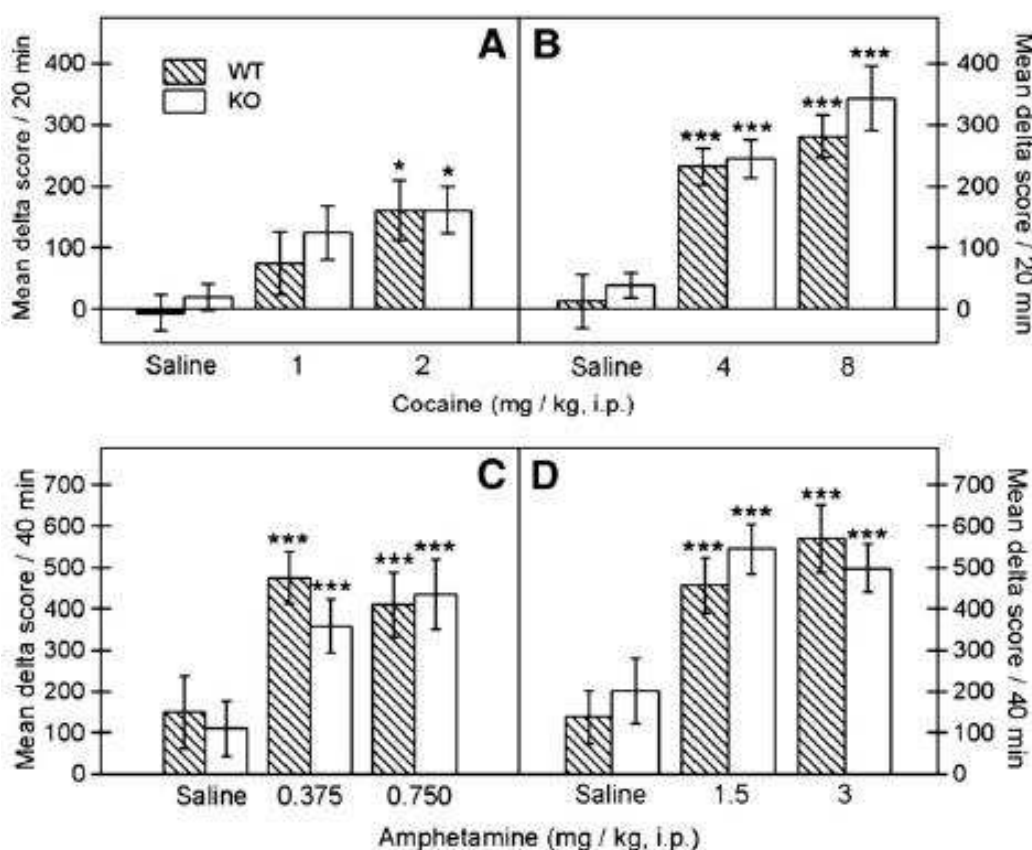


Figure 36. Préférence de lieu conditionnée induite par des doses faibles et modérées de cocaïne (panels A et B, n=14) ou d'amphétamine (panels C et D, n=16) chez les WT et les KO MCHR1. La préférence est exprimée en termes de score delta (\pm ESM) qui représente la différence entre le temps passé dans le compartiment associé à la drogue durant la session de test et celle de pré-exposition. Différence statistique significative à $P<0.05$. (*) ou (***) : valeurs significativement plus grandes que celles du groupe contrôle correspondant pour chaque génotype séparément avec $P<0.05$ ou $P<0.001$ respectivement (Tyhon *et al.*, 2008b, fig. 3, p. 75).

4. Discussion

Les résultats de cette étude dans le CPP mettent en évidence plusieurs observations :

- ✓ L'hyperactivité naturelle des KO MCHR1 face à un nouvel environnement dépendrait de la durée des sessions ;
- ✓ Les KO MCHR1 présentent une sensibilité locomotrice plus marquée pour les doses faibles d'amphétamine par rapport aux WT, les doses fortes produisant une sensibilisation comportementale dont l'ampleur est comparable entre les génotypes ;
- ✓ Les KO MCHR1 sont renforcés autant par différentes doses de cocaïne que d'amphétamine et ce, dans la même mesure que les WT, à l'exception de la plus faible dose de cocaïne, 1 mg/kg.

Il apparaît que l'hyperactivité spontanée chez les KO MCHR1 soit dépendantes à la fois du cycle circadien, mais également, de la durée des sessions. Cette disparité pourrait s'expliquer par la différence de durée des sessions pour chaque type d'expérience (20 vs 40 minutes pour les expériences « cocaïne » et « amphétamine », respectivement). De fait, lors des expériences précédentes avec l'amphétamine (Tyhon *et al.*, 2008a), les groupes salin KO MCHR1 ne présentaient pas d'hyperlocomotion sur une session de 70 minutes, tandis que dans la phase de pré-exposition dans l'expérience de sensibilisation à la cocaïne, les KO MCHR1 étaient nettement plus actives que les WT sur une durée plus courte (20 minutes) (Tyhon *et al.*, 2006). De manière générale, les différents tests locomoteurs mettant en évidence une hyperactivité chez les KO MCHR1 ont été effectués soit durant la nuit (Astrand *et al.*, 2004; Marsh *et al.*, 2002; Zhou *et al.*, 2005), soit durant la période claire, mais sur de courtes durées (5 minutes pour Lalonde & Qian (2007) et 20 minutes chez Tyhon *et al.* (2006 et 2008b). Paradoxalement, les tests locomoteurs de Smith (2005, 2008) duraient tous 60 minutes et l'hyperactivité des KO MCHR1 n'est pas observée les deux fois.

Les différents résultats qui ressortent de cette étude ne corroborent absolument pas les prédictions selon lesquelles les KO MCHR1, de par leur dérégulation dopaminergique, auraient dû présenter une plus grande sensibilité aux psychostimulants que les WT. En effet, les effets renforçants et stimulants des psychostimulants seraient sous-tendus par les récepteurs D₁ (Kalivas, Sorg & Hooks, 1993; Kuhar, Ritz & Boja, 1991; Pierce, Duffy & Kalivas, 1995; Pierce & Kumaresan, 2006; Wise, 1998).

Les résultats locomoteurs de l'expérience avec les différentes doses de **cocaïne** concordent avec ceux précédemment obtenus, à savoir l'absence de développement d'une sensibilisation locomotrice à des doses inférieures à 12 mg/kg de cocaïne (Tyhon *et al.*, 2006). Malgré un effet à 12 mg/kg chez les WT, il apparaît que des doses inférieures à 12 mg/kg ne les stimulent pas suffisamment WT pour aboutir à une sensibilisation, qui peut cependant se développer chez d'autres souches de souris, telles que les C57BL/6J (Downing *et al.*, 2003; Elmer *et al.*, 1996; Tirelli, Tambour & Michel, 2003).

Néanmoins, sous un traitement chronique de 15 mg/kg de cocaïne, des souris WT et les KO MCH présentent un taux de sensibilisation comportementale semblable (Georgescu, 2004). Dans ce cas-ci, il se pourrait que des mécanismes développementaux de compensation puissent interférer avec la réactivité des animaux avec la cocaïne, puisque le blocage de l'expression d'un neuropeptide n'est pas entièrement comparable avec le blocage de l'expression du récepteur correspondant (Castanon *et al.*, 2000). Une autre explication serait que l'axe MCH/MCHR1 serait impliqué dans l'effet activateur de la cocaïne uniquement pour des doses qui provoquent un certain niveau de stimulation, dans ce cas-ci, pas les doses inférieures ou supérieures à 12 mg/kg. Cette hypothèse est confortée par le fait que l'injection de MCH intra-accumbens chez le rat ne produit aucun effet sur les scores locomoteurs sensibilisés avec six pairages de 15 mg/kg de cocaïne (Georgescu, 2004). Une étude impliquant l'établissement d'une courbe doses-effets serait peut-être en mesure de résoudre cette énigme.

Lors des traitements chroniques, il ressort que les doses les plus importantes d'**amphétamine** (1.5 et 3 mg/kg) produisent une sensibilisation comportementale nette et de même amplitude chez les deux génotypes. Ces résultats confortent ceux obtenus précédemment avec cinq injections successives (Tyhon *et al.*, 2008a). De plus, la première injection de 3 mg/kg produit un niveau de locomotion légèrement plus élevé chez les KO par rapport aux WT. Les doses plus faibles produisent également une sensibilisation locomotrice, mais de plus faible amplitude et uniquement chez les KO MCHR1, corroborant les résultats avec 1 mg/kg de l'équipe de Smith (2008), même si les protocoles diffèrent largement entre les deux études (Figure 37).

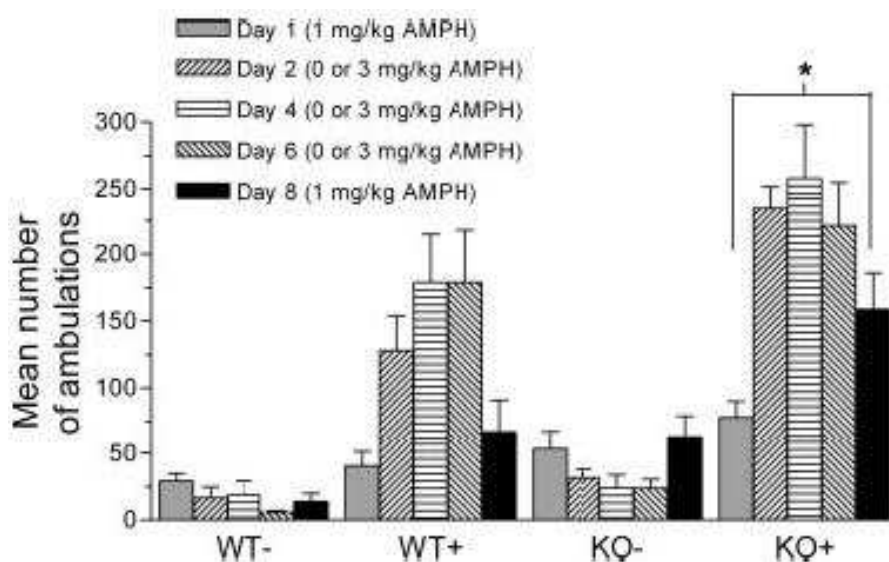


Figure 37. Expérience de Smith et collègues (2008) sur le développement d'une sensibilisation comportementale à l'amphétamine chez les WT et KO MCHR1. Les souris sont testées sur huit jours. Les groupes (-) représentent les groupes contrôles continuellement traités au salin. Le premier jour, les groupes (+) reçoivent une injection i.p. de 1 mg/kg d'amphétamine. Le traitement chronique commence le lendemain et consiste en 3 injections un jour sur deux de 3 mg/kg (jours 2, 4 et 6). Le huitième jour, un test de sensibilisation est effectué avec l'injection de 1 mg/kg d'amphétamine. (*) $P < 0.05$ versus Day 1 pour le groupe KO+ (Smith *et al.*, 2008, fig. 2, p. 131).

Cette dichotomie d'effets locomoteurs chez les KO entre les doses faibles et fortes d'amphétamine pourrait être sous-tendue par l'augmentation du taux de liaison au NET rapporté dans le NAc et le *globus pallidus* des KO MCHR1 (Smith *et al.*, 2005). En effet, l'amphétamine est beaucoup plus puissante que la cocaïne sur la libération et la recapture de la noradrénaline (Julien, 2001; Rothman & Baumann, 2003). De plus, plusieurs études ont mis en évidence une implication de la noradrénaline et ses récepteurs dans les mécanismes sous-jacents aux effets stimulants sensibilisants de l'amphétamine (Darracq *et al.*, 1998; Juhila *et al.*, 2005; Sulzer *et al.*, 2005; Tassin, 2008).

En résumé, sur base des quelques études sur le sujet, il apparaît que les KO MCHR1 sont capables de développer et d'exprimer une sensibilisation comportementale à la suite d'injections répétées de faibles doses d'amphétamine (inférieures à 1.5 mg/kg). A des doses plus élevées, généralement utilisées dans les recherches sur la sensibilisation chez la souris, les chances d'obtenir une différence entre génotypes s'amenuisent.

L'absence de différences de renforcement entre les WT et les KO MCHR1 est en contradiction avec les résultats d'une récente étude de CPP sous cocaïne également (Chung *et al.*, 2009, figure 38). Dans cette étude, les WT ET KO MCHR1 sont soumis à un régime de trois pairages avec 6, 12 ou 18 mg/kg de cocaïne. Le protocole diffère également au niveau du temps des sessions (20 minutes pour la pré-exposition et le jour test et 15 minutes pour les sessions de conditionnement). De plus, l'attribution du compartiment associé à la drogue s'effectue de manière « non-biaisée », c'est-à-dire de manière aléatoire. Les résultats indiquent que les KO MCHR1 ne présentent pas de préférence pour aucune des doses injectées, alors que les WT sont significativement renforcées par les doses de 12 et 18 mg/kg. Ces résultats sont corroborés par l'observation que l'injection i.c.v. de MCH potentialise les effets locomoteurs de la cocaïne à 6 et 12 mg/kg.

Cette différence flagrante de résultats entre les deux études, aussi bien au niveau locomoteur (Tyhon *et al.*, 2006) qu'au niveau du renforcement, pourrait peut-être s'expliquer par le fait que les WT et KO MCHR1 ne proviennent pas d'un fond croisé comme le nôtre, mais d'un fond pur C57BL/6J, qui sont très réactives aux psychostimulants (Downing *et al.*, 2003; Elmer *et al.*, 1996; Tirelli, Tambour & Michel, 2003).

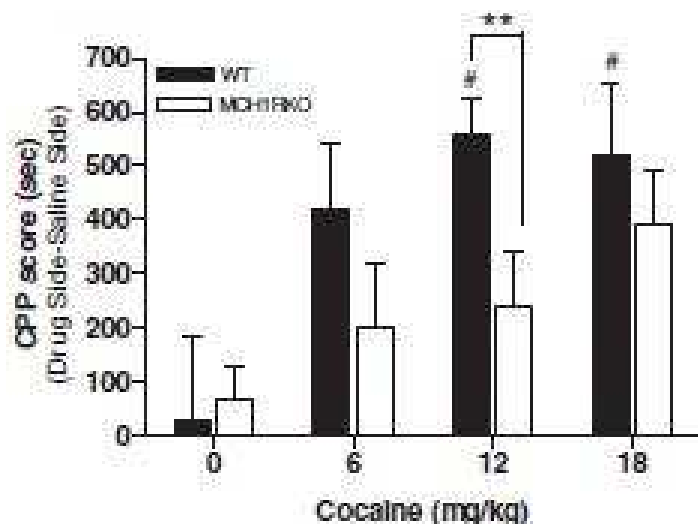


Figure 38. Expérience de préférence conditionnée de lieu à la cocaïne chez les WT et les KO MCHR1. Le CPP score représente la différence de temps passé entre le compartiment associé à l'injection de drogue et le temps passé dans le compartiment associé au salin le jour du test (#, $P < 0.05$ versus le groupe salin ; ** $P < 0.01$ versus KO MCHR1) (Chung *et al.*, 2009, fig. 4, p. 3).

De plus, l'hypothèse est émise que l'implication des récepteurs D_1 et du DAT, dont l'activité est augmentée chez les KO MCHR1, dans la formation de la préférence conditionnée aurait pu être masquée par une autre altération chez les KO, à savoir l'activité des récepteurs D_2 (Smith *et al.*, 2005). En effet, le blocage de ces récepteurs entraîne une facilitation de l'expression d'un CPP ou d'une auto-administration de psychostimulants, suggérant que ces récepteurs exercent une inhibition sur les mécanismes de renforcement des drogues (Caine *et al.*, 2002; Pierce & Kumaresan, 2006; Tzschentke, 2007). Par conséquent, la régulation exacerbée des récepteurs D_2 pourrait avoir diminué l'action facilitatrice des récepteurs D_1 et du DAT situés dans le NAc des KO MCHR1.

En plus de cette inhibition dopaminergique, la diminution des taux de liaison au transporteur de la sérotonine au sein du NAc pourrait également avoir eu une influence sur l'absence de différence entre les génotypes (Smith *et al.*, 2005). En effet, l'implication de ce transporteur dans la formation d'un renforcement conditionné a été démontrée, avec une interaction avec le DAT (Baumann, Becketts & Rothman, 1995; Di Matteo *et al.*, 2001; Frantz, Stouffer & Parsons, 2000; Parsons, Weiss & Koob, 1998; Rocha *et al.*, 1998b; Sora *et al.*, 2001).

Ces résultats soulèvent la question de l'importance des récepteurs D₁ dans l'établissement d'un renforcement conditionné aux drogues d'abus (Adams *et al.*, 2001; Corvol *et al.*, 2007; Karasinska *et al.*, 2005; Miner *et al.*, 1995). Dans ces différentes études, l'inactivation des récepteurs D₁, via l'injection d'antagonistes ou grâce à une suppression génétique, ne produit pas de détérioration de la formation d'une préférence de lieu conditionné induite par la cocaïne ou l'amphétamine chez le rat et la souris. En fait, un nombre croissant de recherches employant des souris mutantes pour le DAT, le NET ou encore, le SERT, indiquent que ceux-ci travaillent de manière interactive dans le développement du renforcement à la cocaïne et l'amphétamine (Hnasko, Sotak & Palmiter, 2007; Jasmin *et al.*, 2006; Rothman & Baumann, 2003, 2006; Tassin, 2008; Weinshenker *et al.*, 2001). Ainsi, dans la mesure où les KO MCHR1 sont porteuses d'une série d'altérations au niveau des transporteurs et des monoamines elles-mêmes (Smith *et al.*, 2005, 2008; Roy *et al.*, 2006), des études complémentaires sont absolument nécessaires afin de déterminer l'impact de ces altérations sur le phénomène de renforcement.

Ces résultats n'appuient donc pas non plus l'hypothèse de l'inhibition exercée par la MCH sur l'activité monoaminergique du système mésoaccumbens. Cependant, malgré la présence de MCHR1 dans le NAc et la VTA ainsi que l'existence d'une altération au niveau du transport et des récepteurs de monoamines, l'hypothèse inhibitrice ne repose pas sur des faits établis. Jusqu'à présent, il a été montré que l'infusion de MCH n'augmente pas le taux d'excitabilité des neurones DA situés dans la VTA chez le rat (Korotkova *et al.*, 2003).

De plus, l'infusion de MCH à l'intérieur de la VTA chez le rat n'a aucun effet sur le taux de libération de dopamine, ni sur sa métabolisation, dans le noyau caudé ou le NAc (Sanchez *et al.*, 2001). En complément, l'injection de MCH intra-accumbens chez le rat ne produit aucun effet sur les scores locomoteurs sensibilisés après plusieurs injections répétées de cocaïne (Georgescu, 2004). Concernant les KO MCHR1, aucune différence n'est observée entre les génotypes au niveau du niveau basal ou à la suite d'une injection aiguë d'amphétamine du taux d'expression des monoamines (Smith *et al.*, 2005). En plus, l'injection aiguë de 3 mg/kg d'amphétamine n'induit pas d'expression de seconds messagers (MAPK et c-Fos) plus importante chez un des génotypes (Smith *et al.*, 2008).

Néanmoins, cette même injection induit l'expression de seconds messagers de manière plus marquée chez les KO MCHR1 dans le cortex préfrontal, région densément peuplée de neurones à MCH et son récepteur (Hervieu *et al.*, 2000; Smith *et al.*, 2008). Ainsi, une interaction fonctionnelle a été établie entre l'activité des MCHR1 et celle de la sérotonine, de la noradrénaline et de l'acétylcholine au sein de ce cortex et ce, aussi bien chez des KO MCHR1 que des animaux intacts (Roy *et al.*, 2006, 2007; Smith *et al.*, 2006, 2008). Cette interaction serait à l'origine du phénotype hyperactif, anxiolytique et antidépressif des KO MCHR1, ainsi que de leur sensibilité plus élevée aux injections aiguës et répétées d'amphétamine (Georgescu *et al.*, 2005; Lalonde & Qian 2007; Roy *et al.*, 2006, 2007; Smith *et al.*, 2005, 2006; Tyhon *et al.*, 2006). Cette explication est compatible avec l'implication démontrée de l'activité DA et NE au niveau cortical dans la locomotion (Tassin, 2008).

5. Conclusions

En résumé, il paraît précoce de pouvoir expliquer concrètement la sensibilisation comportementale observée chez les KO MCHR1 pour de faibles doses d'amphétamine uniquement à partir des différentes études sur la question.

Néanmoins, les diverses données récoltées suggèrent une dissociation entre la sensibilisation psychomotrice et le renforcement conditionné chez les KO MCHR1. En effet, alors que l'inaction du récepteur permet de faciliter l'expression de la sensibilisation à la suite d'administration de faibles doses d'amphétamine (mais pas de cocaïne), elle ne sous-tend pas la formation d'un renforcement pour aucune ces drogues. Cette dissociation, en complément de manque d'interaction fonctionnelle entre les MCHR1 et l'activité DA mésoaccumbens, indique que ces récepteurs n'occuperaient pas un rôle primordial dans les processus de l'addiction.

6. Discussion générale

Les résultats des différentes études présentées dans ce chapitre mettent en évidence que l'axe MCH/MCHR1 est impliqué dans le développement et l'expression de la sensibilisation à de faibles doses d'amphétamine, ainsi que dans celle de la cocaïne injectée en sous-cutanée.

Par contre, l'axe MCH/MCHR1 ne semble pas intervenir dans le développement ni l'expression d'une sensibilisation à la cocaïne administrée en i.p., ni dans le phénomène de renforcement mesuré à l'aide du CPP et ce, que ce soit sous cocaïne ou sous amphétamine.

La dichotomie de réactivité entre les doses faibles et fortes d'amphétamine n'a pas encore d'explication concrète. De plus, la différence de sensibilité entre l'administration i.p. chronique d'amphétamine et de cocaïne pourrait être due aux différents modes d'action de ces deux psychostimulants. Des recherches complémentaires seront nécessaires afin de découvrir les mécanismes sous-jacents à ces effets.

En ce qui concerne le fait que les deux génotypes présentent une réponse de renforcement à plusieurs doses d'amphétamine et de cocaïne implique que le système MCH et ses récepteurs n'interviennent pas dans la formation ni l'expression de ce phénomène. D'autres mesures de renforcement moins « passives » devraient être étudiées chez les WT et KO MCHR1, comme par exemple, celle d'auto-administration de drogue¹.

Ainsi, la prédiction selon laquelle l'axe MCH/MCHR1 exercerait une inhibition naturelle sur l'activité des monoamines, et plus particulièrement celle de la dopamine, au sein du système mésoaccumbens (Smith *et al.*, 2005, 2008), n'est pas entièrement supportée par les résultats comportementaux des différentes études présentées dans le cadre de cette thèse de doctorat. Selon Smith et collègues, les différents résultats rapportés, tels que l'hypersensibilité à l'amphétamine et la dérégulation monoaminergique au sein du cortex frontal observés uniquement chez les KO MCHR1, seraient plutôt compatibles avec les dysfonctionnements du cortex frontal dans le cadre des maladies psychologiques, telles que la dépression, la schizophrénie ou encore les troubles déficitaires de l'attention ou hyperactivité (*attention-deficit hyperactivity disorder*, ADHD) (Smith *et al.*, 2008).

¹ Nous détaillerons cette proposition dans la partie « Perspective ».

Il apparaît que l'administration de psychostimulants ne constitue pas une condition suffisante pour activer l'axe MCH/MCHR1 de façon systématique. Les seules conditions dans lesquelles l'axe est activé est l'administration de substance qui engendre une augmentation importante et prolongée de l'activité du système dopaminergique, comme dans le cas d'injection i.p. d'amphétamine (à faibles doses) ou de cocaïne par voie sous-cutanée.

Une façon alternative d'activer le système MCH pourrait être effectuée via une privation chronique de nourriture, engendrant une perte de poids significative. De fait, plusieurs études ont mis en évidence une activation des neurones à MCH à la suite d'une période de jeûne aussi bien chez le rat que chez la souris (Georgescu *et al.*, 2005; Kokkotou *et al.*, 2001; Presse *et al.*, 1996; Qu *et al.*, 1996; Tritos *et al.*, 2001). Cette thématique fait l'objet du dernier chapitre de cette thèse.