

**Les effets de la stimulation électrique intracérébrale de régions renforçantes
en interaction avec la stimulation intracérébrale de régions aversives**

Magali Diotte

École de psychologie

**Thèse déposée à la faculté des études supérieures et postdoctorales de l'Université d'Ottawa
dans le cadre des exigences du programme de doctorat en psychologie**

© Magali Diotte, Ottawa, Canada, 2002



**National Library
of Canada**

**Acquisitions and
Bibliographic Services**

**385 Wellington Street
Ottawa ON K1A 0N4
Canada**

**Bibliothèque nationale
du Canada**

**Acquisitions et
services bibliographiques**

**385, rue Wellington
Ottawa ON K1A 0N4
Canada**

Your file Votre référence

Our file Notre référence

The author has granted a non-exclusive licence allowing the National Library of Canada to reproduce, loan, distribute or sell copies of this thesis in microform, paper or electronic formats.

The author retains ownership of the copyright in this thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

L'auteur a accordé une licence non exclusive permettant à la Bibliothèque nationale du Canada de reproduire, prêter, distribuer ou vendre des copies de cette thèse sous la forme de microfiche/film, de reproduction sur papier ou sur format électronique.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur qui protège cette thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

0-612-76437-0

Canada

Remerciements

Beaucoup de personnes m'ont accompagnée au cours de ce périple intellectuel. Tout d'abord, lors de mon année de spécialisation au baccalauréat, il y a eu le D^r Eleftherios Miliaressis qui m'a ouvert les portes du monde de la recherche. Lui et Roberta Anderson, son étudiante au doctorat d'alors, m'ont donné le goût de poursuivre mes études dans le champ des neurosciences et je leur en suis infiniment reconnaissante. Cependant, avant que je n'aie achevé mes expériences doctorales, le D^r Miliaressis a pris sa retraite et j'ai dû terminer mon cheminement sous la supervision d'un autre professeur, D^{re} Catherine Bielajew. Et quel bonheur ce fut! Je me considère extrêmement privilégiée d'avoir eu la chance et le plaisir d'être une de ses élèves. Son support, ses encouragements, ses conseils, sa délicatesse, son sens de l'humour, sa patience font d'elle une superviseure en or et m'ont permis de terminer ma thèse en beauté! Et que dire de Maïa et Anne qui, au départ, n'étaient que des compagnes et des collaboratrices de laboratoire mais qui sont rapidement devenues des amies et des confidentes! Ensemble, nous avons tout partagé ou presque. Quitter cette équipe de recherche sera pour moi un véritable deuil.

Je ne peux oublier non plus Line St-Pierre, Geneviève Bouchard, Isabelle Green-Demers et Stéphane Joly qui, presque depuis le début de mon doctorat, ont constitué mon unique noyau social. Nous partageons nos joies, nos peines, ainsi que les hauts et les bas pavant immanquablement la voie conduisant au diplôme vers lequel nous nous acheminions tous. Les liens que j'ai tissés avec eux me sont très précieux et je souhaite de tout coeur que ces amitiés forgées presque au quotidien sachent résister au temps!

Je tiens également à exprimer toute ma reconnaissance à mes parents, Marie et Jacques, pour leur soutien inconditionnel. Sans leur appui émotionnel et financier, je n'aurais très probablement pas pu réaliser cet idéal auquel j'aspirais. Un merci spécial à ma mère qui, tout au long de mes études universitaires, a lu, critiqué et corrigé mes multiples travaux. Pour toutes ces raisons, c'est à eux que je dédie ma thèse.

Finalement, je tiens à remercier celui qui est mon compagnon de vie depuis la première année de mon baccalauréat et qui est devenu mon époux depuis. S'il n'avait pas été à mes côtés, ce parcours dans l'abstraction me serait certainement paru plus aride. De bonne grâce, il a accepté que notre vie de couple et notre vie sociale soient très souvent reléguées au second plan, au profit des exigences liées à mes études. Gyslain, avec le dépôt de cette thèse et la naissance très prochaine de notre enfant, une toute nouvelle vie s'ouvre devant nous!

Table des matières

Remerciements	ii
Table des matières	iv
Liste des figures	vi
Résumé	vii
Introduction	1
Techniques paramétriques	6
Méthode double pulsion	8
Présentée au moyen d'une électrode	8
Présentée au moyen de deux électrodes	12
Courbe taux-fréquences	18
Fonctions compensatoires (trade-off) ou dérivées	23
Deux systèmes neuronaux motivationnels	27
Méthode générale	35
Sujets et chirurgie	35
Appareils	36
Procédures	36
Période d'entraînement	36
Courbes de fonction taux-fréquences	36
Courbes de latence d'échappement	37
Histologie	38
 Chapter One	 39
<i>Interaction between rewarding lateral hypothalamic and aversive nucleus reticularis gigantocellularis stimulation</i>	
Abstract	40
Introduction	41
Materials and methods	42
Subjects and surgery	42
Screening and stabilization	43
Double pulse tests with fixed C-T interval: study 1	44
Double pulse tests with variable C-T interval: study 2	45
Histology	45
Results	46
Discussion	55

Chapter Two	60
<i>Factors that influence the persistence of stimulation-induced aversion</i>	
Abstract	61
Introduction	62
Experiment 1: Effects of rewarding DR stimulation on current threshold for aversive Gi stimulation.	63
Method	63
Subjects and surgery	63
Apparatus	64
Stabilization	64
Histology	66
Results	66
Discussion	70
Experiment 2: Effects of DTg stimulation on latency to escape	71
Method	71
Subjects and surgery	71
Behavioral tests	71
Results	72
Discussion	75
Chapter Three	78
<i>Effects of naloxone on rewarding and aversive brain sites</i>	
Abstract	79
Introduction	80
Materials and methods	82
Subjects and surgery	82
Screening and stabilization	83
Self-stimulation test	83
Stimulation escape test	84
Double pulse tests	84
Naloxone tests	85
Histology	85
Results	86
Discussion	91
Discussion générale	97
Références	112

Liste des figures

Introduction	
Fig.1A Présente la configuration de la stimulation à double pulsion utilisée dans le test de collision.	15
Fig.2A Illustre les points importants d'une courbe taux-fréquences.	22
Fig.2B Montre la relation entre les paramètres d'ondes carrées de stimulation cathodique.	22
Fig.2C Démontre comment les facteurs du renforcement positif et de la performance sont différenciés selon des techniques psychophysiques.	22
Fig.3A Présente comment des seuils de fréquence sont établis à partir de courbes taux-fréquences.	26
Fig.3B Exemple de fonction compensatoire générée à partir de seuils de fréquence.	26
 Chapter One	
Fig.1 Changes in the rate-frequency function of double pulse stimulation in one subject.	49
Fig.2 Average change in threshold as a function of the frequency of double pulse sessions.	50
Fig.3 Effect of double pulse stimulation on maximum rates obtained across sessions.	51
Fig.4 Mean threshold for latency to escape Gi Stimulation as a function of current	52
Fig.5 The mean percentage effectiveness value plotted as a function of C-T interval.	53
Fig.6 Histology from experiment 1	54
 Chapter Two	
Fig.1 Changes in current threshold for latency to escape Gi stimulation before and after the introduction of DR self-stimulation tests.	68
Fig.2 Histology from experiments 2 and 3	69
Fig.3 Average latency to escape aversive DTg stimulation as a function of current and session.	73
Fig.4 Frequency of DTg sites that remain aversive with repeated stimulation.	74
 Chapter Three	
Fig.1 Histology from experiment 4	88
Fig.2 Latency to escape Gi Stimulation as a function of current in a representative subject.	89
Fig.3 Frequency threshold changes in individual animals as a function of naloxone dose.	90

Résumé

Les propriétés analgésiques de la stimulation électrique ont été explorées en utilisant divers paradigmes de recherche. Plusieurs études portant sur le sujet ont utilisé des stimuli aversifs externes pour évaluer les propriétés antinociceptives d'une région cérébrale renforçante alors que peu d'entre elles ont évalué l'interaction d'un stimuli aversif interne (site cérébral nociceptif) avec l'une ou l'autre de ces régions. Le principal objectif des études constituant ma thèse était d'analyser les particularités antinociceptives de certaines régions renforçantes du cerveau lorsqu'elles sont mises en interaction avec un site aversif.

L'une des études effectuées a examiné la stimulation électrique renforçante de l'hypothalamus latéral (HL) en interaction avec le noyau gigantocellulaire réticulaire (NGR); une autre analysait l'influence du raphé dorsal (DR) sur l'aversion du NGR; la dernière explorait la possible réplication de l'effet antinociceptif du RD sur une autre structure aversive, le tegmentum dorsal (DTg). Dans chacune de ces recherches, deux instruments de mesure, la latence d'échappement des régions aversives et la courbe de fonction taux-fréquence (un seul renforcement et combinaison des deux types de renforcement) ont servi à évaluer l'interaction produite. Les deux structures renforçantes mises en relation avec le NGR ayant démontré des propriétés antinociceptives, nous avons pu confirmer que le renforcement intracérébral joue un rôle primordial dans la disparition de l'aversion. Nos études ont également révélé que le RD associe de façon plus expéditive les pulsions renforçantes et aversives (NGR) que le HL mais, qu'une fois l'antinociception installée dans l'un et l'autre sites, elle ne présente aucune différence d'intensité ou de durée (permanente et irréversible). Les particularités intrinsèques du DTg, autre site aversif étudié en association avec le RD, nous ont cependant empêchées de généraliser le phénomène antinociceptif à d'autres structures régissant l'aversion car, dès le

début des tests, la stimulation seule du DTg réussissait à faire disparaître la nociception.

Pour explorer la dimension temporelle séparant les deux types de pulsions administrées, une sous-étude a été réalisée avec les sujets de l'expérience où l'on avait examiné l'influence réciproque des pulsions de l'HL et du NGR. À l'aide de tests de double pulsion, on a alors mesuré l'efficacité de la pulsion pairée et on n'a trouvé aucune différence significative dans l'ordre de présentation des pulsions, pas plus que dans les intervalles C-T testés. Ces deux variables n'influenceraient donc pas la valeur de sommation de la stimulation à double pulsion et ne joueraient pas de rôle dans l'antinociception produite.

L'effet antinociceptif résultant de l'activation neuronale d'un site d'autostimulation ayant été confirmé, une dernière étude nous a amenées à analyser l'implication des neurones endorphiniques dans la manifestation antinociceptive observée. Cette recherche a démontré que le naloxone (antagoniste d'opiacé) diminue la composante renforçante des courbes combinées (l'aire tegmentale ventrale et le NGR) de la fonction taux-fréquences sans affecter la latence d'échappement du NGR. De plus, en révélant une possible dissociation du système endorphinique impliqué dans le renforcement intracérébral de celui qui serait responsable de l'analgésie, elle a permis de supposer que deux systèmes neuronaux différents semblent réciproquement s'influencer.

En bref, ce qui se dégage des études constituant cet ouvrage peut être exprimé par les quatre assertions suivantes : 1) l'HL et le RD, deux régions renforçantes, ont la capacité de modifier la nociception émanant du NGR; 2) les propriétés anti-aversives de l'HL et celles du RD n'ont pas la même rapidité d'apparition; 3) l'effet antinociceptif du NGR est irréversible, et, finalement, 4) le DTg semble posséder une action auto-analgésique.

Introduction

En 1954, les chercheurs Olds et Milner¹⁴³, qui étudiaient le rôle de la formation réticulée dans l'apprentissage, découvrirent fortuitement un paradigme dont on reconnaît maintenant l'influence majeure : le pouvoir renforçant qu'a la stimulation électrique sur les substrats physiologiques de la motivation. Ces chercheurs avaient alors observé que des rats peuvent apprendre à réaliser une tâche (appuyer sur un levier) dans le seul but de s'administrer la stimulation. De cette découverte inattendue était né un nouveau champ d'exploration : la stimulation électrique renforçante du cerveau, c'est-à-dire l'autostimulation électrique intracérébrale et les comportements qu'elle provoque.

L'un des points forts de la méthode de stimulation renforçante du cerveau est sa très grande versatilité, c'est-à-dire qu'elle peut permettre l'étude de plusieurs régions cérébrales chez plusieurs espèces animales. Ainsi, furent étudiés les vertébrés suivants : le poisson²¹; les oiseaux⁸³; les lapins²⁴; les singes¹⁵⁸; l'humain^{17,89}.

Quant aux sites cérébraux impliqués dans l'autostimulation électrique intracérébrale, mentionnons le faisceau télencéphalique médian (medial forebrain Bundle), qui traverse l'hypothalamus latéral (HL) jusqu'à l'aire tegmentale ventrale (ATV) qui, par ces nombreuses régions le composant, est le faisceau neuronal régissant le mieux le phénomène d'autostimulation intracérébrale¹⁸⁵. L'effet renforçant de la stimulation électrique de l'HL, ou de certains circuits spécifiques le traversant, peut prendre plusieurs formes. Ainsi, par la stimulation électrique de plusieurs régions du cerveau, il est possible de modifier ou de contrôler les propriétés spécifiques qui leur sont respectivement attribuées. Certaines expériences, ont

démontré que la stimulation électrique peut produire des effets renforçants d'ordre "primaire" ou même adopter les propriétés d'un renforcement spécifique. Par exemple, Caggiula et Hoebel²⁶ démontrèrent qu'en stimulant l'hypothalamus postérieur, il était possible de produire un comportement de copulation. Ainsi, l'autostimulation dans la région postérieure de l'hypothalamus est liée à la motivation qui sous-tend le comportement sexuel. Quant à l'HL, Margules et Olds¹¹⁹ constatèrent qu'en stimulant ce site cérébral, il y avait augmentation de la consommation de nourriture et que ce comportement cessait lorsque s'arrêtait la stimulation; on peut donc dire que le plaisir de l'autostimulation de l'HL est similaire à la gratification apportée par la nourriture. Dans le même ordre d'idée, Hoebel et Teitelbaum⁹⁰ ont démontré que l'effet de satiété a un effet sur l'autostimulation. Ainsi, un rat privé de nourriture aura un niveau plus élevé d'appuis au levier qu'un rat rassasié. D'autres recherches plus récentes, effectuées par Conover et Shizgal^{44,45} corroborent les conclusions tirées par Hoebel et ses collaborateurs. Leurs résultats ont démontré qu'il est possible d'évaluer dans un même système d'unités neuronales les effets renforçants de la stimulation de l'HL et de l'ingestion de sucrose (renforcement gustatif). D'autres types de propriétés spécifiques peuvent également être prêtées à certaines régions du cerveau. Par exemple, Robert G. Heath⁸⁹ en menant des expériences de stimulation intracrânienne de la région septale chez des humains, remarquèrent que les sujets rapportaient des sensations de bien-être et d'euphorie. Les humains soumis aux expérimentations de Heath étaient des patients souffrant soit d'épilepsie, de la maladie de Parkinson, de narcolepsie ou d'arthrite. Kornetsky et Bain¹⁰⁷ ont quant à eux, comparé la stimulation intracrânienne à la prise de drogues provoquant un état d'euphorie; leurs expériences suggèrent que la plupart des drogues créant de la dépendance, la cocaïne et l'héroïne par exemple, augmentent l'efficacité renforçante

de la stimulation électrique chez l'animal. On sait aussi que plusieurs comportements différents peuvent être déclenchés par l'autostimulation d'un même site. Ainsi, la stimulation électrique d'une dite région du cerveau peut amener le comportement d'autostimulation, mais peut également provoquer des réponses comme le tournoiement¹²⁶ (mouvement rotatoire), l'analgésie⁴⁶, l'activité motrice¹⁵⁹, le boire¹²³ et, tel que mentionné plus haut, la copulation²⁶ et l'ingestion alimentaire^{90.119}.

La stimulation électrique est responsable de la découverte du renforcement de type positif (plaisant), elle permet également d'établir l'existence d'un autre type de renforcement : le renforcement négatif (déplaisant). En effet, comme plusieurs recherches réalisées tant chez des humains que sur des animaux le démontrent clairement, le cerveau est doté de deux mécanismes de renforcement : le renforcement positif et le renforcement négatif. En 1954, pendant que Olds et Milner¹⁴³ découvraient, d'une part, que la stimulation électrique de certaines régions du cerveau produisait des comportements d'autostimulation chez le rat, Delgado et al.⁵⁰ démontraient, d'autre part, que l'activation de certains autres sites cérébraux (voie spinothalamique et lemniscus médian) amenait de vigoureuses réponses d'échappement chez le chat; ces réponses d'échappement semblaient avoir été provoquées par des effets aversifs de la stimulation, amenant l'animal à cesser de s'autostimuler. Ainsi, Delgado, et ses collaborateurs⁵⁰ conclurent que la stimulation intracérébrale de certaines régions du cerveau excite des neurones responsables du traitement de l'information nociceptive. On parle du traitement de l'information nociceptive car la voie spinothalamique et le lemniscus médian sont des sites cérébraux composant le faisceau ascendant de la transmission de la douleur¹⁰⁰. C'est la raison pour laquelle qu'un système motivationnel aversif fut aussi postulé. Ce système motivationnel "aversif" traite

différentes charges émotionnelles négatives telles la douleur, la peur, l'anxiété, l'agressivité, l'ambivalence. La nature plus précise d'une charge émotionnelle négative est déterminée par les propriétés fonctionnelles propres à la région du cerveau stimulée.

Dans le cas de l'autostimulation intracérébrale, c'est un renforcement positif qui est en cause. En effet, il paraît évident que si un animal exécute la manoeuvre qui lui permet de s'autostimuler, c'est dans le but d'obtenir le renforcement positif associé à la stimulation. Exemple : si un rat apprend à appuyer sur un levier, on peut déduire que c'est pour se procurer le plaisir que lui apporte la stimulation électrique. Cette hypothèse relative, à la valeur renforçante de ce stimulus, a d'ailleurs pu être confirmée lors d'investigations neurochirurgicales visant à traiter tumeur, épilepsie ou maladie de Parkinson chez des humains. Au cours de ces études, les neurochirurgiens ont non seulement démontré que la stimulation plaisante est possible, mais ils ont pu demander à leurs patients d'en décrire les effets. Ces expériences médicales ont permis l'exploration du riche répertoire comportemental de l'humain, c'est-à-dire la variété des réponses cognitives et émotionnelles qu'il peut émettre lors de stimulations renforçantes. Les chercheurs ont choisi le terme «plaisant» pour englober les diverses expressions utilisées par les sujets pour traduire les expériences émotionnelles et physiques qu'ils avaient vécues; ils les avaient exprimées par des mots tels récompense, joie, plaisir, gratification, satisfaction, bonheur, euphorie, orgasme, relaxation, soulagement d'un inconfort, etc. Ces états plaisants ou renforçants sont régis par certaines fibres neuronales tout comme le sont les états dont le renforcement est négatif; la peur, l'anxiété, l'aversion, l'évitement et la douleur sont des exemples d'expériences dont la charge émotionnelle est négative. Les états plaisants rapportés par les sujets étaient causés principalement par la stimulation électrique de sites traversant la région

septale et le faisceau télencéphalique médian^{17,89} alors que les états déplaisants provenaient majoritairement de la stimulation des régions profondes et transversales du diencéphale et du mésencéphale^{17,89}.

De nombreuses études récentes ont démontré que plusieurs circuits neuronaux sont impliqués dans la transmission de l'information négative et plus spécifiquement nociceptive^{208,212}. Ces études ont de plus démontré que l'expérience aversive est d'une très grande complexité neuronale. En effet, certaines fibres nerveuses stimulées électriquement déclenchent des comportements issus des deux types de renforcement à la fois; les neurones de l'hypothalamus sont un exemple de ce type de fibres nerveuses^{38,144,157,203}.

La stimulation électrique a donc permis d'obtenir un vaste étendue d'informations nous aidant à mieux comprendre le fonctionnement du cerveau. Parce que ses effets sont réversibles et plus localisés que les effets causés par une lésion, la stimulation électrique est devenue une technique de choix pour établir une cartographie anatomique des sites cérébraux qui tienne compte de leurs propriétés respectives²¹⁹. Toutefois, malgré le nombre important de découvertes faites grâce à elle, plusieurs questions sur le sujet demeurent encore sans réponse.

Et c'est pour répondre à des questions laissées en suspens et pour explorer des hypothèses soulevées par des chercheurs utilisant la stimulation électrique que certains autres scientifiques ont développé et amélioré plusieurs techniques paramétriques susceptibles d'optimiser leurs observations. Les pages qui suivent tentent donc de décrire la contribution et le rationnel qui sous-tendent les techniques paramétriques employées dans les études portant sur l'autostimulation intracérébrale et justifient la sélection de celles utilisées à l'intérieur de cette thèse.

Techniques paramétriques

Les expériences de stimulation intracérébrale consistent à varier des paramètres de stimulation et à observer ensuite les réponses comportementales des sujets. Il s'agit donc d'une relation stimulus/réponse ou de relation d'input/output. Quant aux échelles de mesure psychophysiologiques employées pour l'évaluation des réponses observées, elles nous permettent d'inférer certaines propriétés neuronales aux fibres stimulées. En 1964, Valenstein²⁰² suggéra que le taux de réponses d'un animal contient non seulement des éléments de renforcement, mais des éléments de performance aussi. Ce chercheur affirmait par le fait même que cette mesure (taux de réponses) est influencée par des facteurs tels l'état de santé de l'animal ou les conséquences qu'a la stimulation électrique sur sa motricité. Valenstein²⁰² proposa alors une échelle de mesure alternative que Yeomans²¹⁵ raffina en 1975. La nouvelle échelle de mesure proposée tente d'assurer un certain contrôle de la contribution des variables de performance en se basant sur une réponse comportementale (output) constante, assumant que le taux de réponses est lié de manière monotone au niveau total d'excitation neuronale plutôt que de supposer la linéarité du paradigme des simples taux. En effet, la linéarité d'une relation stimulus/réponse est presque inconcevable car un comportement ne peut croître infiniment. Inévitablement, à un moment donné, un plafond est atteint et cette limite supérieure de la réponse rend impossible la linéarité stimulus/réponse.

Pour vérifier l'efficacité d'un stimulus, quatre variables peuvent être utilisées; il y le courant, la durée de la pulsion, la durée du train de pulsion et la fréquence (le nombre de pulsions par train).

Disons d'abord que toutes les variables susmentionnées augmentent l'excitation neuronale, soit en accroissant le nombre de neurones directement excités, soit en accroissant la quantité d'activations de ces neurones. Ainsi, une augmentation du courant ou de la durée des pulsions hausse le nombre de neurones directement excités par l'électrode. Comme il est difficile de varier de façon systématique le nombre de neurones excités et qu'une variation de ces stimuli pourrait altérer la dimension spatiale du champ d'excitation, il est préférable de laisser le courant et la durée des pulsions fixes et de maintenir ainsi la population de neurones excités constante. S'il y a une variation au niveau de la fréquence mais que le courant et la durée des pulsions sont fixes, le nombre d'activations neuronales est altéré sans que ne le soient le temps ou l'espace d'intégration.

Ainsi, lorsqu'il y a manipulation des paramètres précédemment énumérées, le changement neuronal ainsi produit influe sur la réponse comportementale. Depuis la découverte du comportement d'autostimulation, le nombre d'appuis au levier a souvent été utilisé pour mesurer la réponse fournie, laquelle sert à évaluer l'efficacité et la force du renforcement. Comme Valenstein²⁰² démontra que la mesure du taux de réponses peut être contaminée par plus d'une variable, l'optimisation des différentes techniques paramétriques déjà existantes s'imposa. Il devenait également nécessaire de réorienter le questionnement scientifique afin d'en apprendre davantage sur les caractéristiques électrophysiologiques des substrats neuronaux supportant le comportement d'autostimulation. Pour recueillir les données exigées par cette thèse, je me suis servie de techniques paramétriques qui ont été antérieurement améliorées par des chercheurs qui s'y sont attardés. Ainsi, les prochaines pages présenteront les procédures ayant servi à structurer ma méthodologie.

Méthode de double pulsion

Présentée au moyen d'une électrode

Une des caractéristiques électrophysiologiques primaires des neurones est leur période réfractaire (PR). Les PR sont une conséquence de l'activation des canaux ioniques des axones stimulés et peuvent nous fournir de l'information sur les propriétés temporelles de faisceaux neuronaux. En 1964 Deutsch⁵⁴ avança que l'utilisation de la méthode de double pulsion permettrait de mesurer les PR des neurones responsables du comportement d'autostimulation. Et parce qu'il existe une corrélation positive entre les PR et la vitesse de conduction neuronale, nous pouvons inférer des PR la vitesse de conduction des neurones. Plus spécifiquement, les expériences de stimulation avec double pulsion ou pulsions paires permettent d'évaluer les différentes distributions de PR. De plus, la méthode de double pulsion peut s'appliquer de diverses façons. Si le but de l'expérience est d'en connaître davantage sur l'axone, les deux pulsions sont administrées (C=conditionnée et T=test) par la même électrode ce qui permet d'effectuer un test de PR. Pour déterminer les PR on déclenche une paire de pulsions et on manipule l'intervalle séparant la première et la deuxième; ensuite, on observe l'efficacité de la seconde puisque c'est cette dernière qui génère le potentiel d'action. La procédure consiste donc à une variation systématique d'intervalles C-T. Lors de l'utilisation de grands intervalles C-T, les deux pulsions produisent une réponse neuronale qui contribue à la réponse comportementale. Par ailleurs, lorsque l'intervalle C-T est réduit, la pulsion T arrive lors de la période réfractaire du neurone stimulé, ce qui aura comme conséquence d'empêcher la production d'une seconde réponse comportementale. L'intervalle C-T critique est ainsi démontré par une baisse de la réponse comportementale. Lorsqu'en 1964 Deutsch⁵⁴ proposa la technique de double pulsion, il

affirma qu'elle permettait de déterminer les PR des neurones responsables du renforcement intracérébral par la simple observation du comportement des sujets à l'étude (nombre d'appuis au levier). Malheureusement, en utilisant le taux de réponses comme échelle de mesure, on se rendit compte que deux problèmes majeurs se posaient. Premièrement, le nombre d'appuis au levier est une mesure inadéquate car elle ne peut caractériser fidèlement toute la distribution des propriétés d'excitabilité des neurones stimulés^{215,216,217}. Et deuxièmement, le taux d'appuis au levier ne peut définir avec précision quelles parties des PR sont réellement déterminantes dans l'activation axonale et quelle est la contribution de chacune de ces parties²¹⁷. C'est ainsi, que Yeomans perfectionna les échelles de mesure employées dans l'analyse des PR. En 1975, Yeomans²¹⁶ proposa deux méthodes de mesure à double-pulsion plus efficaces dans l'étude des PR; la méthode par seuils de fréquences et la méthode par seuils de voltage²¹⁶. L'emploi de la méthode de double pulsion dans la connaissance des PR a révolutionné la stimulation en prouvant que les axones sont les principaux substrats de la stimulation électrique intracérébrale. C'est par la définition des périodes réfractaires absolues et de la vitesse de conduction des axones se trouvant près de la pointe de l'électrode qu'il a été possible d'affirmer que ces derniers sont responsables des comportements observés. Par exemple, les neurones directement stimulés et qui sont responsables du comportement d'autostimulation possèdent des PR variant entre 0.4 et 1.3 millisecondes^{13,217,176}. Ce qui semble indiquer que les fibres neuronales impliquées dans l'autostimulation sont petites et myélinisées²¹¹. Cette constatation, a permis de mettre en doute l'hypothèse catécholinergique des neurones d'autostimulation, car les fibres catécholinergiques ne sont pas myélinisées et possèdent des PR variant de 1.8 à 2.0 msec^{81,85,185}. Une autre étude, celle-ci menée par Miliareisis et Rompré¹²⁶ sur les PR du faisceau

télocéphalique médian (FTM), a révélé une différence de 0.03 msec dans la PR absolue de deux comportements : l'autostimulation et le tournoiement. Ces résultats démontrent la dissociation des substrats neuronaux de chacun de ces comportements. D'autres chercheurs ont aussi démontré que les fibres neuronales responsables des comportements d'autostimulation et d'échappement provoqués par la stimulation électrique de l'HL sont distinctes. Pour les deux comportements étudiés, Skelton et Shizgal¹⁷⁶ ont en effet noté des différences dans la magnitude des effets de sommation de potentiels locaux des PR; de tels changements semblent indiquer que dans la région de l'HL à tout le moins, l'aversion et le renforcement peuvent être dissociés l'un de l'autre. Il est intéressant de remarquer qu'il peut même exister des différences de PR pour un même comportement et ce, selon l'emplacement de la stimulation. Certaines études effectuées par Tehovnik et Yeomans^{192.193} ont démontré que le comportement de tournoiement possédait des PR différentes selon le faisceaux neuronal stimulé. En effet, les résultats obtenus par Tehovnik et Yeomans^{192.193} semblent signifier la présence de deux faisceaux neuronaux responsables du comportement de tournoiement. Un autre avantage à connaître les PR des axones, c'est que celles-ci peuvent nous permettre d'établir des différences entre les divers sites d'autostimulation. Ainsi, il nous est possible d'affirmer par exemple, que les sites du cortex frontal médian (0.9 - 3.5 msec) possèdent des PR plus longues que les sites composant le FTM (0.4 - 1.3 msec) et que ces substrats neuronaux, bien que tous deux impliqués dans le comportement d'autostimulation^{78.218}, sont différents. De la même manière on sait que les sites composant un même faisceau ont des PR similaires; ainsi, l'HL et l'ATV sont deux régions du FTM et qui ont des PR (entre 0.4 et 1.2 msec) identiques^{13.173}. La région périaqueducatale, un site qui compose également le FTM, possède des propriétés temporelles (PR) qui diffèrent légèrement de celles de

l'HL, l'écart entre les PR de ces deux sites est cependant beaucoup moins important que celui qui existe entre leurs PR et celles des sites formant le cortex frontal¹². D'autres expériences de stimulation de la région périaqueductale permirent de constater que les PR de ce site varient selon le comportement produit. Ainsi, Schenk et Robinson¹⁷² ont effectué des tests de période réfractaire qui les ont amenés à supposer que ce sont deux substrats neuronaux différents qui sont responsables des phénomènes d'analgésie et de vocalisation mais que ces substrats se chevauchent. Les fibres axonales provoquant de l'analgésie possèdent des PR variant de 2.0 à 5 msec alors que celles des fibres responsables de la vocalisation varient entre 1.2 et 2.0 msec.

La méthode de double pulsion lorsqu'elle est appliquée au moyen d'une électrode nous permet de déterminer certaines caractéristiques qui sont propres à chacune des régions cérébrales étudiées. Cette procédure permet donc de distinguer les différentes propriétés temporelles et fonctionnelles du cerveau et d'acquérir une meilleure connaissance des sites et des faisceaux neuronaux le composant. Elle rend aussi possible l'étude de l'interaction de divers sites et faisceaux neuronaux ainsi que de certaines connexions qui les relient. Pour ce faire, nous devons cependant l'appliquer d'une façon différente.

Présentée au moyen de deux électrodes

Ainsi, lorsque l'on veut répondre à des questions inhérentes aux liens anatomiques existant entre différents sites d'autostimulation, nous utilisons deux électrodes pour appliquer la technique de double pulsion^{11,13,173}. Cette procédure consiste à présenter des pulsions C au moyen d'une électrode et les pulsions T, avec une seconde électrode implantée dans un autre site d'un même faisceau neuronal (voir figure 1.A). Ce test comportemental est utilisé lorsque

l'étendue (range) des périodes réfractaires de deux régions cérébrales se chevauchent et que l'on suppose que les deux sites possèdent des fibres neuronales communes; la propagation axonale étant bidirectionnelle, il est justifié d'émettre une hypothèse de chevauchement. Grâce à des électrodes différentes, il est possible d'observer deux potentiels d'actions qui entrent en collision après avoir circulé en direction opposée sur un même axone. La collision qui a alors lieu annule la moitié de la propagation axonale; seuls les potentiels orthodromiques se rendent aux boutons terminaux.

Contrairement à la conduction qui s'effectue naturellement et qui est exclusivement orthodromique, lorsqu'un axone est excité par une électrode, un potentiel antidromique (vers le soma) et un potentiel orthodromique (vers les boutons terminaux) sont générés. Et quand deux points d'un même axone sont stimulés, l'ensemble des potentiels d'actions orthodromiques de l'électrode le plus près du soma entre en collision avec l'ensemble des potentiels d'actions antidromiques de l'électrode le plus près des boutons terminaux; la collision qui a alors lieu provoque l'arrivée aux boutons terminaux d'un ensemble orthodromique de potentiels d'actions, généré par l'électrode près des boutons terminaux. Une telle collision ne peut avoir lieu que si la stimulation provenant de l'électrode le plus près du soma est suffisamment retardée pour que l'ensemble des potentiels d'actions antidromiques générés aux terminaux ait le temps de se rendre au site de l'électrode près du soma et de récupérer de sa période réfractaire. Si ces conditions se réalisent, deux ensembles de potentiels d'actions orthodromiques arrivent aux synapses¹⁷³ (figure 1.A).

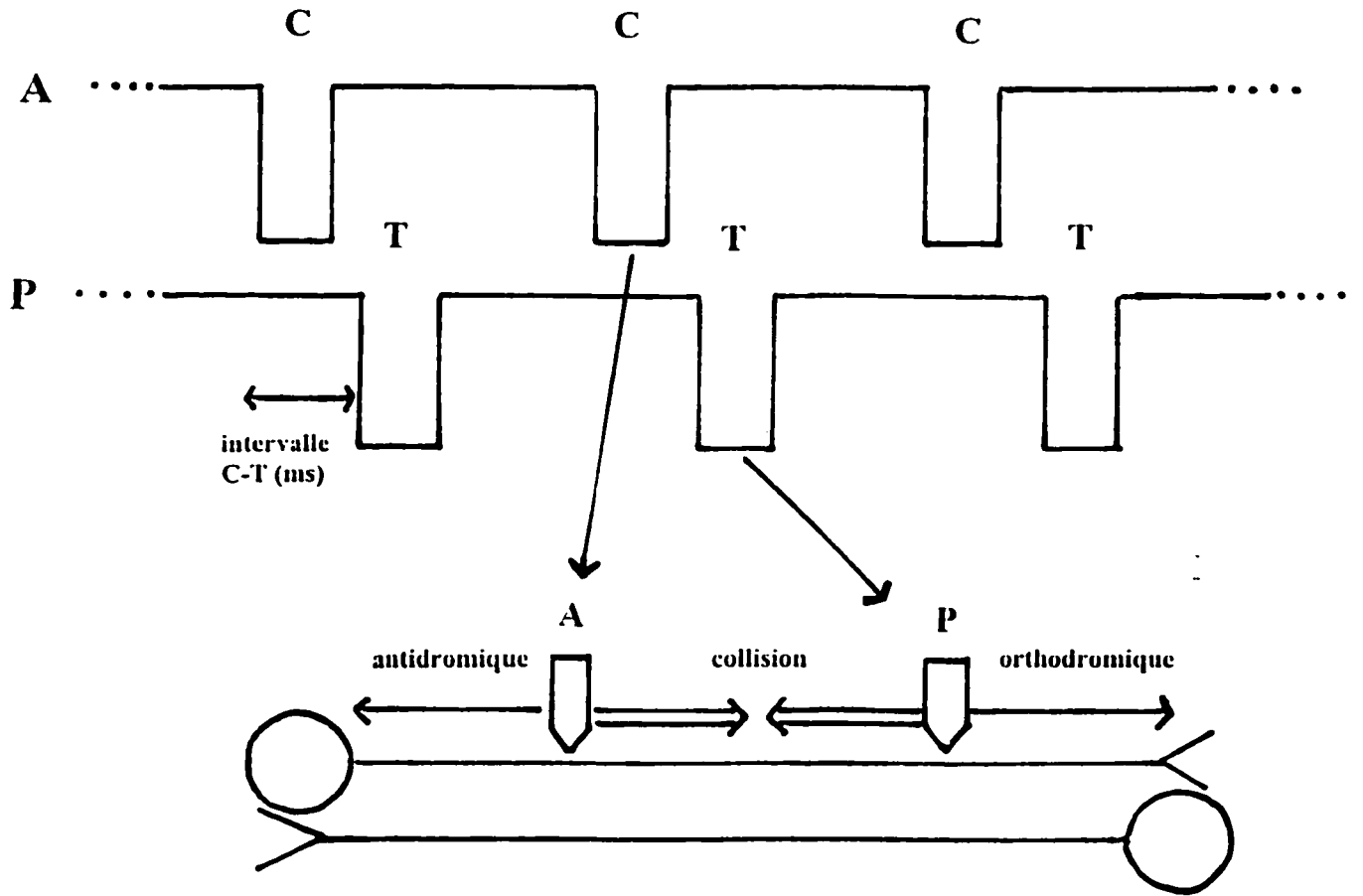
Lorsqu'on utilise deux électrodes, l'efficacité de la stimulation à double pulsion est évaluée à l'aide d'une équation similaire à celle utilisée lorsqu'une seule électrode est employée.

Quand l'intervalle C-T est moindre que l'intervalle de collision, seul un ensemble de potentiels d'actions orthodromiques se rend aux terminaux. Ce qui fait que la stimulation à double pulsion n'est pas différente de la stimulation à simple pulsion. Lorsque l'intervalle C-T est plus grand que l'intervalle de collision, lequel équivaut à la somme du temps de conduction inter-électrode et de la période réfractaire axonale, les deux ensembles de potentiels d'actions orthodromiques rejoignent les terminaux. Ce phénomène rend la stimulation à double pulsion deux fois plus efficace que la stimulation à simple pulsion.

Figure 1.A

Sur la partie supérieure de cette figure, les pulsions C et T sont exprimées par deux trains de pulsions séparés par un intervalle (intervalle C-T). Cette figure représente la configuration de la stimulation de double pulsion utilisée dans le test de collision. Les trains de pulsions C et T proviennent de deux électrodes différentes. Dans la condition antériopostérieure (AP), les pulsions C sont induites par l'électrode antérieure et les pulsions T le sont par l'électrode postérieure. Dans la condition postéro-antérieure, c'est l'inverse qui se produit. La collision n'a lieu que si les potentiels d'actions antidromiques générés à une électrode se heurtent aux potentiels d'actions orthodromiques générés par la seconde. Cette situation nous informe que l'intervalle C-T est moindre que la somme du temps de conduction inter-électrode et de la période réfractaire axonale.

1. A)



Le calcul de l'efficacité de la stimulation à double pulsion (C-T) a été effectué au moyen de la formule proposée par Yeomans²¹⁵ pour la condition de pulsions C=T :

$$E(t) = (NT(sp)/NT(c-t)) - (1 \times 100) \text{ où}$$

E = l'efficacité de la stimulation à double pulsion

NT(sp) = la moyenne de deux seuils de fréquence de la première pulsion et

NT(c-t) = le seuil de fréquence des deux pulsions à un certain intervalle C-T.

La multiplication par 100 permet d'exprimer en pourcentage l'efficacité (E%) de la pulsion T.

L'un des postulats du test de double pulsion présenté avec deux électrodes est que les intervalles de collision sont identiques, quelle que soit l'électrode qui délivre la pulsion C, tout comme sont identiques les périodes réfractaires des deux sites stimulés; ce postulat d'équivalence se trouve tout à fait justifié par la nature bidirectionnelle de la propagation axonale.

L'évaluation des périodes réfractaires, des intervalles de collision et de la distance inter-électrode permet de calculer la vitesse de conduction des neurones contribuant à l'effet de collision; pour ce faire, on divise la distance inter-électrode par la différence existant entre l'intervalle de collision et celui de la période réfractaire estimée. Ce calcul ramène la vitesse de conduction à un minimum car on présume que la charge électrique emprunte le chemin le plus court entre les électrodes. Lorsque la collision est observée, il est permis d'affirmer que les connexions fonctionnelles entre les deux sites sont directes. Une absence de collision est moins simple à expliquer, car elle peut aussi bien être due à la stimulation de différentes fibres axonales qu'à des électrodes mal alignées ou mal implantées.

Les expériences menées avec la méthode de double pulsion administrée avec deux électrodes impliquent le plus souvent des tests de collision et ont permis de tirer plusieurs

conclusions importantes. Par exemple, il existe un lien direct entre les neurones renforçants de l'HL et l'ATV^{13,14,62,84,138,139,173} et qu'il y a un lien axonal direct entre l'ATV et le mésencéphale postérieur²³. D'autres études, dont celles menées par Rompré et Miliareisis¹⁶⁰ ont semblé établir qu'un système de fibres neuronales relie la région périaqueductale et L'ATV. Quant aux études effectuées par Bielajew et al.,¹⁵ ont quant à elles démontré une certaine intégration des signaux renforçants générés par la stimulation de l'aire préoptique latérale et de l'ATV. Ce même laboratoire de recherche dispose aussi de données signalant un lien anatomique entre les fibres renforçantes de l'aire préoptique latérale et celles de L'HL¹⁶. Comme mentionné précédemment, des tests de PR ont révélé que ce ne sont pas des neurones dopaminergiques qui sont directement stimulés lorsqu'un comportement d'autostimulation est observé. Certaines études plus récentes mettent toutefois en évidence que le substrat neuronal du mésencéphale directement activé par l'autostimulation intracérébrale, est plus hétérogène qu'on ne l'a d'abord cru^{138,161} et elles peuvent laisser supposer que d'autres fibres axonales seraient impliquées dans l'autostimulation. Si il est exclu que les neurones dopaminergiques soient directement stimulés, ils peuvent tout de même être excités trans-synaptiquement, donc être stimulés indirectement^{138,161}.

Plusieurs recherches en stimulation intracérébrale ont employé la technique de double pulsion par deux électrodes pour étudier l'interaction entre deux sites d'un même substrat neuronal. A l'intérieur de cette thèse, la procédure de double pulsion sera employée dans un nouveau contexte car elle servira à étudier l'interaction entre deux régions produisant deux types de renforcement cérébral. La fonction de courbes taux-fréquences et la fonction compensatoire seront également utilisées.

Courbe taux-fréquences

La courbe taux-fréquences est générée en variant systématiquement la fréquence de la stimulation électrique. Plusieurs réponses, s'échelonnant d'une valeur minimale à une valeur maximale, sont ainsi obtenues par une simple variation de la fréquence de stimulation (voir figure 2.A). Ce type de courbe peut être produit en maintenant un paramètre constant et en variant de façon systématique un autre paramètre jusqu'à ce qu'un critère comportemental déterminé soit obtenu. Les paramètres utilisés pour produire des courbes taux-fréquences sont illustrés à la figure 2.B. Au dessous d'une certaine fréquence, presque aucune réponse n'est observée chez un sujet donné. Toutefois, une fois que la fréquence minimale nécessaire pour provoquer un comportement est atteinte, le taux d'appuis au levier augmente de façon progressive en même temps qu'augmente la stimulation jusqu'à l'atteinte d'un niveau maximal de performance (asymptote). À ce stade, si l'augmentation des fréquences se poursuit, des réactions aversives et motrices apparaissent, occasionnant une baisse du nombre d'appuis au levier.

Avant 1964, un changement dans le taux d'appuis au levier était considéré comme un indice du renforcement positif. Après 1964, soit après que Valenstein²⁰² eut appliqué les divers paramètres d'ordre psychophysiologique élaborés par ses confrères et eut affirmé que le taux d'appuis au levier n'est pas une mesure sensible du renforcement positif, plusieurs études ont démontré que les seuils de fréquence constituent des indices plus stables d'un changement dans l'efficacité du renforcement. Une diminution du taux maximal d'appuis au levier n'indique pas nécessairement une diminution de la valeur du renforcement positif, mais peut refléter l'inhabilité de l'animal à performer. En effet, il est possible qu'une difficulté à performer soit causée par des facteurs non liés au renforcement proprement dit, mais à une difficulté motrice quelconque, une crise

d'épilepsie, la santé générale de l'animal, etc.^{77.129.130} Il semble donc que le taux de réponses dépendent pas seulement de la force de la stimulation renforçante, mais des habiletés nécessaires à la performance également^{63.71.73}. Voilà qui explique que la plupart des chercheurs n'utilisent plus le nombre d'appuis au levier pour estimer le niveau de renforcement positif, mais un seuil qui correspond à la moitié du taux maximal de réponses (voir figures 2.C). Ce seuil est d'ailleurs le seul qui soit valable lorsque la courbe stimulus/réponse est en forme de S²¹⁹.

Figure 2. A

Cette figure présente les points importants d'une courbe taux-fréquences. Sur l'ordonnée sont inscrits les taux de réponses par minute, alors que les fréquences le sont sur l'abscisse. La section A correspond à un taux minimal de réponses à faible fréquence. La section B est l'intervalle dynamique sur lequel une petite augmentation de la fréquence résulte en une forte augmentation du taux de réponses. Et la section C indique que même s'il y a augmentation de la fréquence, aucun changement significatif n'est observé dans le comportement lorsqu'un taux de réponses est asymptotique.

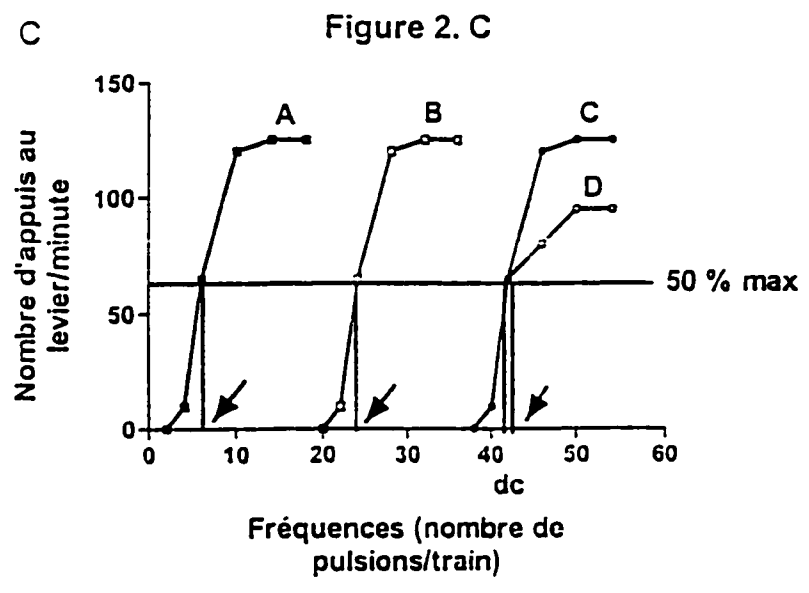
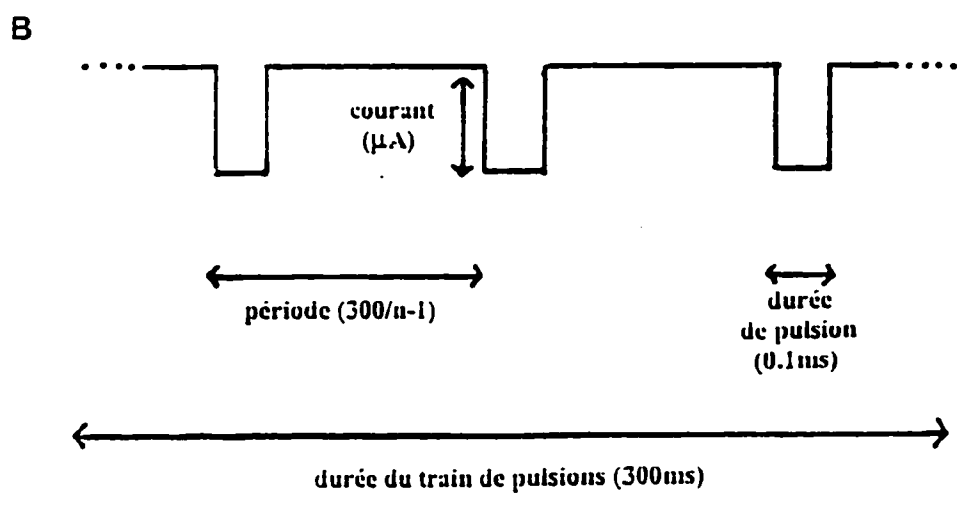
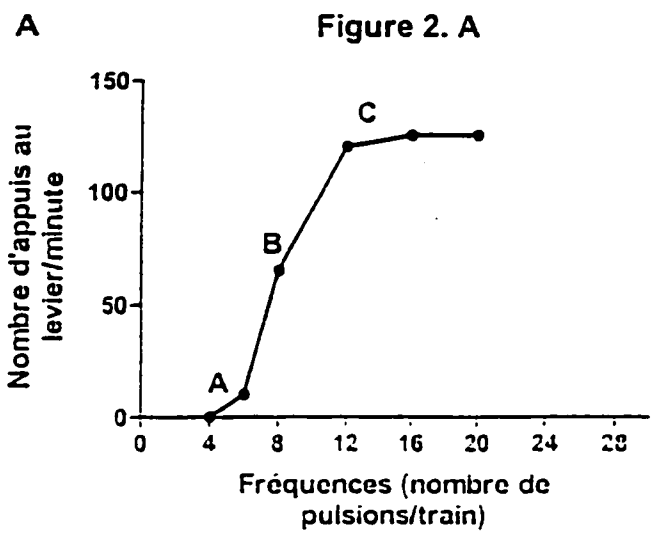
Figure 2. B

Cette figure illustre la relation entre les paramètres d'ondes carrées de stimulation cathodique. La durée du train (300 ms) et la durée d'une pulsion (0.1 ms) sont habituellement ajustées de façon à demeurer constantes, alors que la fréquence (nombre de pulsions par train) et le courant varient.

Figure 2. C

La série de courbes taux-fréquences démontre comment les facteurs du renforcement positif et de la performance sont différenciés par l'utilisation de techniques psychophysiques. Les seuils (indice du renforcement positif) sont indiqués par des flèches sur l'abscisse; leurs valeurs respectives sont définies par la fréquence correspondant à la moitié du taux maximal de réponses. Si on considère la courbe B comme étant la condition contrôle et la courbe A, la condition expérimentale, on remarque que la procédure expérimentale a produit un déplacement vers la

gauche, sans changement d'asymptote; ce tracé indique que la valeur du renforcement de la stimulation est plus élevée. La courbe C (autre courbe expérimentale) s'est déplacée vers la droite, indiquant une diminution de la valeur du renforcement. En ce qui a trait à la courbe D, en plus du déplacement vers la droite, il y a baisse de l'asymptote; ceci traduit une diminution de la valeur du renforcement et une diminution de la performance. Les fonctions taux-fréquences nous démontrent également que le changement de taux de réponses n'est pas approprié comme mesure du renforcement. Si on observe les courbes C et D et que l'on compare leur niveau d'asymptote, on remarque, d'une part, que la manipulation expérimentale a fait diminuer la valeur du renforcement de la courbe D. Si, d'autre part, on compare les seuils de fréquence des deux courbes, on remarque plutôt qu'il y a une légère augmentation de la valeur du renforcement dans la courbe D car elle possède un seuil un peu plus bas que la courbe C.



Fonctions compensatoires (trade-off) ou dérivées

La fonction compensatoire dont le rôle est d'évaluer la relation entre deux paramètres capables de produire des réponses comportementales équivalentes est une technique de mesure qui a permis de recueillir une abondance d'informations quantitatives sur les processus axonaux qui sont déterminants dans l'efficacité de la stimulation renforçante^{64.79}. La fonction compensatoire se traduit par la constante d'une relation qui s'établit entre le changement qui se produit au niveau d'un paramètre et celui qui survient chez un autre. De par son rôle compensatoire, cette relation permet à la réponse comportementale de demeurer constante. Les études qui l'illustrent le mieux sont celles qui utilisent le courant et la fréquence de pulsions comme paramètres. Ces derniers sont d'ailleurs les plus révélateurs de l'efficacité du renforcement intracérébral¹⁷⁴ car la relation qui s'établit entre eux nous informe de la distribution des fibres axonales renforçantes étudiées. Ainsi, il est possible d'affirmer que, mis à part où de faibles courants ou des fréquences élevées de pulsion sont employés^{64.79.174}, le courant et la fréquence sont presque toujours inversement proportionnels. Cette constance de proportion inverse entre le courant et la fréquence de pulsions suppose que l'efficacité de l'expérience renforçante de l'animal dépend du nombre de potentiels d'actions qui sont générés au niveau des axones électriquement stimulés. Ce qui veut dire que la subjectivité de la magnitude du renforcement augmente de la même manière et ce, indépendamment du fait que ce soit le courant ou la fréquence de pulsions qui soit doublé¹⁷⁴.

Une fonction compensatoire (trade-off) peut être obtenue par la dérivation d'une famille de courbes taux-fréquences où, par exemple, chaque courbe représente des différents courants. Le seuil de fréquence, qui correspond à la fréquence requise pour atteindre un taux de réponses critique (critère comportemental), est interpolé pour chacune des courbes (voir figure 3.A). Lorsque, sur un même graphique, la fréquence de pulsions et les différents courants sont mis en relation, une

fonction compensatoire (trade-off) est générée⁶³ (voir figure 3.B). Quand la réponse comportementale demeure constante, il est possible d'assumer que les contributions de performance sont également maintenues constantes pour toutes les courbes taux-fréquences qui en sont découlées. Cette constance rend plus clairement quantifiables les effets renforçants de la stimulation⁶⁴.

Le choix du critère comportemental est le facteur qui assure la fiabilité de la fonction compensatoire (trade-off). Si, par exemple, des taux de réponses près du maximum sont choisis comme critère, des effets de plafonnement (ceiling) peuvent déformer les fonctions compensatoires⁶⁴. Il est donc de beaucoup préférable de le déterminer à partir d'un taux critique de réponses, le plus souvent fixé à 50% du taux maximal de réponses (M50)⁶⁵. D'autres critères comportementaux peuvent évidemment être retenus mais ils rendent les analyses plus complexes. Ainsi, l'utilisation du taux de réponses par minute zéro (0o) peut causer de l'instabilité au niveau des faibles taux et nécessiter des procédures d'ajustement.

Figure 3. A

Cette figure démontre comment des seuils de fréquence sont établis à partir de courbes taux-fréquences. Dans ce graphique, le courant est le paramètre le plus important. Un critère constant de 50% du maximum du taux de réponses par minute a été utilisé pour calculer les seuils de fréquence. Ce critère est représenté par la ligne horizontale.

Figure 3. B

Ce graphique est un exemple d'une fonction compensatoire (trade-off) générée à partir des seuils de fréquence calculés à la figure 2. A). Le paramètre manipulé dans cet exemple est le courant, que l'on retrouve sur l'abscisse; les seuils de fréquence sur l'ordonnée.

Figure 3. A

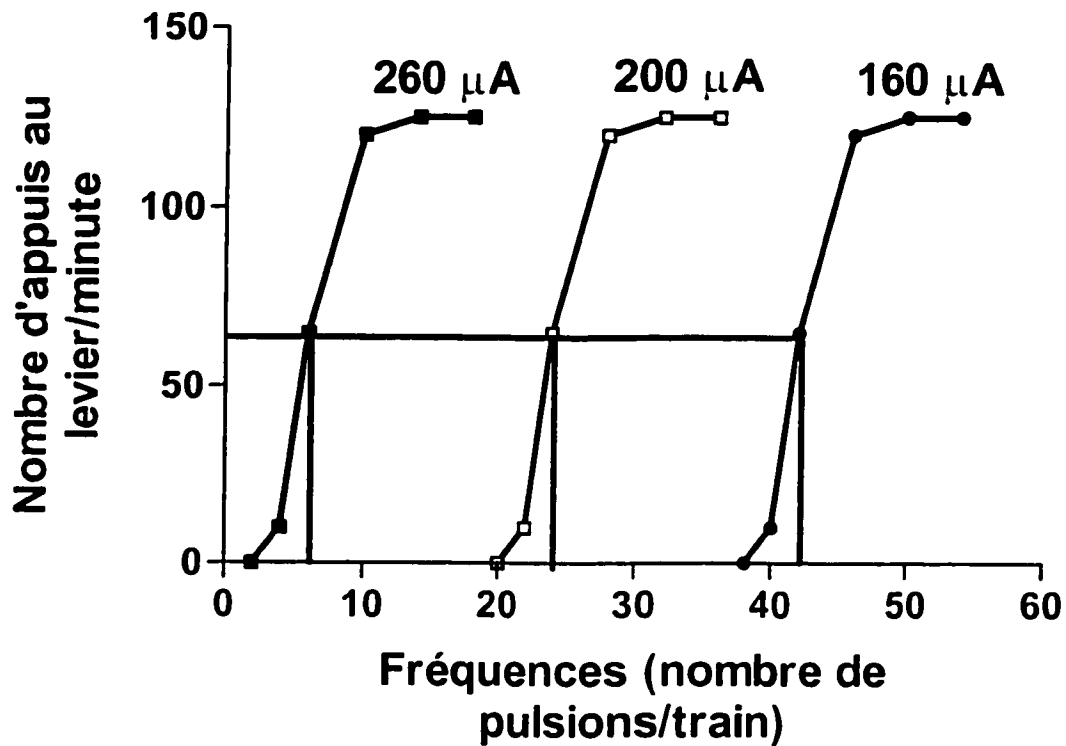
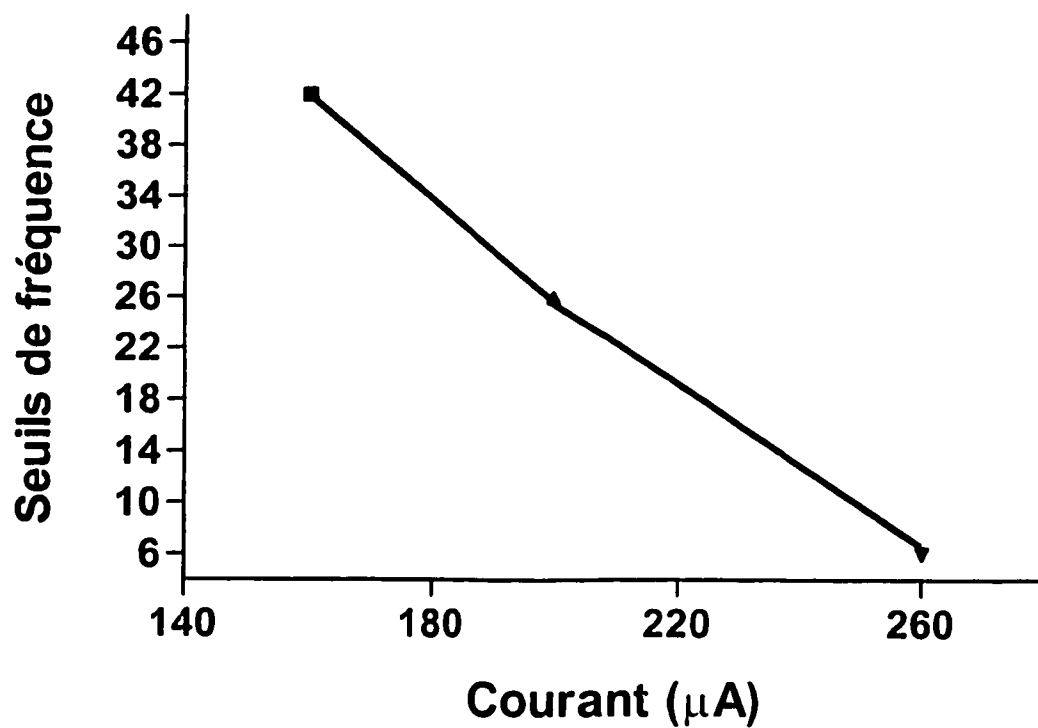


Figure 3. B



Deux systèmes neuronaux motivationnels

Les nombreuses techniques méthodologiques utilisées à l'intérieur des expériences menées sur le cerveau ont largement contribué à l'avancement scientifique de l'autostimulation électrique intracérébrale. Ce champ d'études a de plus permis l'émergence d'un certain nombre de domaines plus spécifiques de recherche tels l'autostimulation et ses effets sur le système immunitaire, l'autostimulation et ses effets sur le comportement de la faim, l'autostimulation et ses effets pharmacologiques, l'autostimulation et ses effets analgésiques pour ne nommer que ceux-là.

Plusieurs chercheurs, s'étant plus particulièrement intéressés à l'interaction des deux systèmes de renforcement (plaisant, déplaisant), sont arrivés à la conclusion que la stimulation électrique de certaines régions du cerveau possède des propriétés anti-aversives. Les structures cérébrales renforçantes les plus connues pour leurs propriétés antinociceptives sont l'HL^{32,39,49,114}, l'ATV^{1,3,189,206}, la région grise périaqueducatale (PAG)^{2,115,121,125,134,135,146}, le raphé dorsal (RD)^{42,49,135,146}.

Certaines études nous ont permis de reconnaître la nature renforçante de quelques sites cérébraux, alors que d'autres se sont plutôt concentrées sur les régions traitant l'information aversive. Parmi les sites cérébraux impliqués dans le phénomène de la douleur, mentionnons le noyau gigantocellulaire réticulaire (NGR), qui est intimement lié aux mécanismes régulateurs des fonctions nociceptives et cardiovasculaires^{30,40,106,150,197,220}, et l'aire tegmentale dorsale (DTg), très aversive, qui provoque des comportements de fuite, lorsque stimulée électriquement^{51,99,145,186,187,214}. D'autres structures sont également impliquées dans le traitement de la douleur : le réticularis pontis caudalis et le réticularis pontis oralis^{112,186,187}, le medial lemniscus, le tegmentum latéral et l'hypothalamus médian³⁸.

La stimulation électrique joue un rôle important dans l'analyse expérimentale des fonctions analgésiques du système nerveux central³². Et, parce qu'a été prouvée l'existence d'une interaction entre les fibres neuronales renforçantes et aversives, la stimulation électrique demeure le principal sujet à l'étude des nombreuses expérimentations sur le cerveau qui ont été faites au cours des trente dernières années. Par exemple, Dafny et ses collaborateurs⁴⁹ ont démontré que la stimulation électrique de l'HL produit une analgésie comportementale, proportionnelle à l'intensité du stimulus administré par le test de «*tail flick*». Leurs résultats ont démontré que plus l'intensité de la stimulation électrique augmente, plus le degré et la durée de l'analgésie s'intensifient. Dans une autre étude, Mayer et Liebeskind¹²¹ ont quantifié la magnitude de la stimulation produisant de l'analgésie en employant plusieurs procédures traditionnelles, comme le «*pinch test*», le «*jump test*» et le «*tail flick test*». Pour recueillir leurs données, Mayer et son collaborateur¹²¹ ont soumis les rats à deux conditions expérimentales. À l'intérieur de l'une d'elles, les sujets étaient stimulés électriquement au niveau de l'HL, puis étaient soumis à certains types de procédures traditionnelles causant de la douleur. Ensuite, on mesurait la latence d'échappement à cette douleur. L'autre expérience consistait à remplacer la stimulation de l'HL par l'injection de morphine. Cette recherche a démontré que la stimulation de la matière grise périaqueducatale du mésencéphale aussi bien que périventriculaire, abolit les effets des stimuli déplaisants de manière aussi efficace que ne le fait une dose de 10mg/kg de morphine. Selon ces auteurs¹²¹, la stimulation électrique locale active un système de suppression de la douleur en bloquant la transmission de l'information aversive venant de la moelle épinière. Une telle stimulation a d'ailleurs produit chez l'humain un soulagement à long terme de la douleur chronique reliée au cancer^{89,125}, à des blessures au bas du dos⁹³, à la chirurgie de disques lombaires¹⁵³ et à la dyskinésie⁴. En effet, des stimulations électriques de la région périaqueducatale ou de la matière grise périventriculaire durant entre 5 et 15

minutes, qu'on répète 3 à 4 fois par jour, provoquent chaque fois une analgésie d'une durée de quelques heures¹⁹⁸. De telles observations peuvent nous amener, d'une part, à déduire que la stimulation locale produit de l'analgésie par une activation du système endorphinique endogène. Mais on sait, d'autre part, que la stimulation locale peut induire une analgésie sans augmenter la concentration de bêta-endorphine⁹² et que des élévations marquées des bêta-endorphines ventriculaires après une stimulation de la région périaqueductale ont été remarquées chez un groupe de patients qui n'ont bénéficié d'aucun soulagement de leur douleur². Regardons de plus près les résultats obtenus par ces deux groupes de chercheurs de manière à mieux comprendre les inductions faites suite à ces expériences. Hosobuchi et ses collaborateurs⁹² ont effectué leurs recherches sur deux groupes d'humains. Un groupe souffrait d'un certain type de douleur causé par des nerfs afférents endommagés, et ses membres ont reçu de la stimulation électrique dans la région de la capsule interne. Le deuxième groupe était composé de sujets affligés de douleur d'origine périphérique; ils ont été soumis à une stimulation dans la région périaqueductale. Toutes les personnes composant les deux groupes ont été soulagées, mais une différence fut remarquée : la stimulation de la région périaqueductale avait provoqué une augmentation de bêta-endorphine dans le liquide cébrospinal ventriculaire ce qui ne fut pas le cas après la stimulation de la capsule interne. Ainsi, l'augmentation de bêta-endorphine ne semble pas être une réponse spécifique de la stimulation électrique, mais plutôt une réponse spécifique de la localisation cérébrale de l'endorphine. Pour ce qui est des études entreprises par Amano et ses collaborateurs², leurs données semblent démontrer que la stimulation électrique de la région périaqueductale ne peut provoquer d'analgésie pour les douleurs chroniques intractables. La stimulation du site périaqueductal n'apporte de l'analgésie que pour certains types de douleur. Ce qui est appuyé par l'étude d'Hosobuchi⁹² qui démontre l'efficacité de la stimulation périaqueductale dans le cas de douleurs

périphériques.

Même si plusieurs recherches faites sur les rats ont étudié les propriétés analgésiques de la stimulation renforçante du cerveau, le lien entre renforcement positif et analgésie demeure encore très controversé¹⁹⁵. Un bon nombre d'expériences rapportent une dissociation entre le renforcement et l'analgésie alors que d'autres recherches ne supportent pas l'hypothèse voulant que les deux mécanismes soient distincts. Il y a même controverse autour du lien qui existerait entre la stimulation électrique et l'analgésie. Ainsi, des recherches de Mayer et Leibeskind¹²¹ qui révèlent que plusieurs animaux se sont grandement autostimulés par la stimulation électrique du HL sans que les mesures conventionnelles de la douleur ne permettent de détecter la moindre analgésie. Et d'autres part, selon ces mêmes chercheurs, certaines de leurs expériences concluent que l'analgésie peut être produite par la stimulation électrique de l'aire périaqueductale dorsale qui ne supportent pas le comportement d'autostimulation¹²¹. Puis d'autres études justifient l'hypothèse que la stimulation électrique de certaines parties du cerveau (periaqueductale ventrale et périaqueductale dorsale ou dorsolatérale) produit des réactions comportementales complexes (effets moteurs et aversifs) qui peuvent jouer un rôle dans l'apparition d'un état analgésique^{67,68}. D'autres études encore affirment que l'absence d'autostimulation ne signifie pas nécessairement l'absence de neurones de renforcement sous l'électrode, car le comportement d'autostimulation peut être inhibé par les effets indésirables de la stimulation électrique¹³⁰. Le stress qui peut y être associé, principalement si un animal a subi un quelconque blocage de sa fonction motrice, n'est qu'un exemple des effets inhibiteurs possibles. Des chercheurs ayant utilisé un protocole contrôlant la variable stress lors de leurs expériences affirment que la stimulation renforçante (hypothalamique) possède réellement un effet d'analgésie primaire ou pure¹¹⁴. Puis Turbull¹⁹⁸ soutient que certaines douleurs ne peuvent être contrôlées que par la stimulation électrique de régions profondes très

précises du cerveau, et ce chez l'humain. L'énumération des différentes études faites aux pages qui précèdent confirme le développement d'une multitude de modèles expérimentaux visant à pallier aux déficiences des approches actuelles du traitement de la douleur. Plusieurs de ces études ont examiné divers paradigmes dans le but d'explorer les propriétés analgésiques de la stimulation électrique du cerveau. Ces paradigmes de recherche tendent à supporter l'hypothèse que la stimulation électrique de certaines régions renforçantes du cerveau est associée à la suppression de la douleur^{22,30,32,42,49,114,117}. La majorité des modèles de recherche recensé ont utilisé des stimuli aversifs externes et ont mesuré les réactions produites par le "tail flick"^{49,68,69,72,121,122,134}, le "jump test"¹²¹, le "pinch test"^{68,69,121,146} et les tests de formaline^{42,114,117,134,201} pour évaluer les propriétés antinociceptive d'une région renforçante donnée. D'autres études, en nombre beaucoup moindre cependant, ont employé des stimuli aversifs internes (sites cérébraux nociceptifs) et ont examiné leur interaction avec une région renforçante^{3,29,30,32}.

Et malgré la multitude des recherches effectuées sur le contrôle de la douleur, on ne peut que constater que la nature de l'interaction entre la douleur et la stimulation renforçante du cerveau est complexe et encore énigmatique. Dans le but de clarifier davantage le phénomène interactif des deux types de renforcement, on a mené, à l'intérieur de cette thèse, quatre expérimentations qui ont investigué, en terme de durée et de direction, l'interaction existant entre les stimuli électriques intracérébraux renforçants et les stimuli électriques intracérébraux aversifs. Vu le peu d'études effectuées à ce jour sur l'évaluation de stimuli internes intracérébraux, ces quatre expérimentations y ont été exclusivement consacrées.

Dans une étude antérieure, notre laboratoire avait investigué l'interaction entre des stimuli électriques intracérébraux renforçant et aversif en utilisant l'ATV et le NGR³ comme sites d'exploration. La stimulation intracérébrale conjointe de l'ATV et du NGR avait alors amené la

région aversive (NGR) à perdre ses propriétés nociceptives après seulement deux ou cinq courbes combinées de fonction taux-fréquences. Ainsi, l'ATV serait dotée de propriétés antinociceptives lorsque stimulée conjointement avec le NGR. Les résultats de cette étude avaient donc permis d'émettre l'hypothèse suivante: si l'ATV possède des propriétés analgésiques, il est possible que d'autres régions renforçantes en soient aussi pourvues.

C'est ainsi que la première expérience de cette thèse a consisté en l'étude de l'HL et NGR. Le NGR a été retenu pour deux raisons : 1) il est impliqué dans la régulation des processus nociceptifs^{106,150,197}; 2) la stimulation électrique de cette région produit de l'aversion^{29,30}. Quant à la région de l'HL, elle a été choisie car les recherches portant sur l'autostimulation considèrent cette région comme étant l'une des plus renforçantes¹⁸⁵. Le but de cette première expérience était d'étudier l'interaction des effets de stimulations électriques aversives et renforçantes et poursuivait plus particulièrement les deux objectifs suivants : 1) examiner l'intensité, la durée et la direction de l'interaction entre les effets de la stimulation renforçante de l'HL et la stimulation aversive du noyau NGR chez le rat; 2) comparer ces résultats avec ceux obtenus par l'expérience de stimulation conjointe³ où des pulsions de l'ATV étaient jumelées à des pulsions du NGR.

Cette expérimentation (Diotte et al.,⁵⁹) a confirmé l'hypothèse émise et a également démontré que les propriétés analgésiques attribuées à l'HL différaient de celles de l'ATV. Comme mentionné précédemment, les résultats obtenus lors de la stimulation conjointe de l'ATV et du NGR démontraient les propriétés analgésiques de l'ATV après deux et cinq courbes taux-fréquences alors qu'une seule ou même aucune courbe suffisait pour la région du HL. Ainsi, cette première étude, tout comme celle, précédente, d'Anderson, Diotte et Miliareisis³, semble appuyer l'hypothèse qu'un effet anti-aversif peut être obtenu par la stimulation électrique de diverses parties du système de renforcement. Lors de cette expérience⁵⁹, nous avons également voulu examiner

l'interaction observée sur une dimension temporelle. En faisant une sous-étude, nous avons testé différents intervalles C-T (intervalle de temps séparant les deux pulsions administrées) et nous avons également changé l'ordre de présentation des pulsions pour en vérifier l'effet sur l'interaction des stimuli renforçants (HL) et aversifs (NGR). Le fait que l'intervalle (C-T) séparant les pulsions renforçantes et aversives soit de plus en plus grand ou que son ordre de présentation soit changé affecterait-il l'interaction existant entre les pulsions? La première pulsion de cet intervalle était la pulsion conditionnée (C), et la seconde, la pulsion de test (T).

Pour notre deuxième expérience (Diotte et al.,⁶⁰), une autre région renforçante a été étudiée : le RD. Ce noyau a été choisi car il est reconnu pour son implication dans le processus d'analgésie^{42,49}. Cette nouvelle expérimentation visait toujours l'étude de l'interaction des effets de stimulations électriques aversives et renforçantes et, comme premier objectif, elle reprenait celui de la recherche précédente; son deuxième objectif était le suivant : comparer les résultats du RD à ceux de l'HL et de l'ATV dans le but de produire une cartographie anatomique des différentes propriétés analgésiques propres à chacune des régions renforçantes. Cet examen a permis de dresser un tableau anatomique des propriétés analgésiques relatives aux trois plus importantes régions renforçantes du cerveau.

Les deux premières études de cette thèse semblent supporter l'hypothèse qu'un effet anti-aversif peut être obtenu par la stimulation électrique de diverses parties du système de renforcement.

Puisqu'il existe des différences entre l'interaction des régions renforçantes et le NGR, il est peut-être possible que l'effet anti-aversif observé soit généralisable à d'autres régions aversives. C'est pourquoi, comme troisième expérience (Diotte et al.,⁶⁰) nous avons voulu vérifier si l'effet antinociceptif du RD peut être généralisé à plus d'une région douloureuse. Après avoir consulté la

littérature^{144,186,187,204,214}, nous avons choisi d'explorer l'aire tegmentale dorsale (DTg) située postérieurement dans le cerveau et près de la matière grise centrale, car cette aire est dite très aversive. Nous tenterons donc d'examiner l'interaction entre les effets de la stimulation renforçante du RD et aversive du DTg.

Comme quatrième et dernière expérience (Diotte et al., acceptée et en attente de publication dans le journal scientifique *Behavioural Brain Research*), nous avons décidé d'effectuer une recherche pharmacologique afin de tester l'hypothèse endorphinique de l'effet anti-aversif observé, en bloquant les récepteurs par le naloxone. Cette expérience veut donc investiguer l'hypothèse de "réduction du renforcement" ou "d'accroissement de l'aversion" du système neuronal endorphinique^{7,103}. Selon Kelsey, Belluzzi et Stein, deux systèmes endorphiniques coexistants seraient impliqués dans le phénomène d'autostimulation intracérébrale (AIC) et dans l'autostimulation intracérébrale produisant de l'analgésie. Ainsi, l'antagoniste d'opiacés (naloxone) peut agir sur le système "endorphinique responsable du renforcement" en réduisant le renforcement de la stimulation ou, bloquer indirectement l'autre système "endorphinique simultané qui est responsable de l'analgésie" en augmentant certains résidus aversifs de la stimulation. D'autres travaux plus récents^{32,136}, semblent renforcer la conclusion de ces chercheurs. Les buts de notre quatrième étude sera donc de tester si le naloxone : 1) a des effets sur l'aversion seule (NGR); 2) s'il influe sur la mesure de la latence d'échappement du NGR quand l'aversion est disparue; 3) s'il affecte la stimulation électrique combinée (ATV-NGR) avant et après que la courbe de la fonction taux-fréquences ait rejoint la courbe contrôle. Même si le mécanisme d'action du naloxone n'est pas encore complètement compris, il est reconnu qu'il antagonise les effets des opiacés en rivalisant auprès des mêmes récepteurs. L'objectif plus général de notre quatrième étude est donc de vérifier si le naloxone peut affecter les propriétés antinociceptives de l'ATV.

Méthodologie générale

Sujets et chirurgie

Des rats Sprague-Dawley, pesant environ 300 g au moment de l'implantation des électrodes et provenant du laboratoire Charles River, ont été utilisés dans les expériences décrites. Les rats étaient nourris de Purina Rat Chow et d'eau. Ils étaient maintenus dans un cycle de lumière-noirceur de 12 heures. Pour réduire leurs sécrétions bronchiques, les rats recevaient une injection d'atropine sulfate avant la chirurgie (0,03cc, i.p.). Trente minutes plus tard, l'anesthésie générale était induite par 60 mg/kg de sodium pentobarbital et, si le besoin s'en faisait sentir pour maintenir l'anesthésie le temps nécessaire à l'opération, du méthofane par inhalation était employé. Lorsque l'anesthésie était assez profonde pour bloquer les réactions (réflexes) qu'aurait pu provoquer un pincement de la queue, les rats étaient installés sur un appareil stéréotaxique de façon à ce que les points de suture osseuse lambda et bregma soient sur le même plan horizontal ($\pm 0.3\text{mm}$). Une incision était alors pratiquée au niveau de l'épicrâne et deux électrodes monopolaires mobiles étaient descendues intracérébralement dans les fibres neuronales étudiées. Pour permettre au courant électrique de passer, une anode soudée à un fil en acier inoxydable était enroulée autour de quatre vis crâniennes miniatures. L'ensemble était solidement fixé au crâne à l'aide de ciment dentaire.

Appareils

Les rats ont été testés dans une boîte opérante de plexiglass (29 X 33 X 31 cm). Chaque appui au levier déclenchait un générateur de pulsions délivrant une salve (0,3 sec) de pulsions cathodiques rectangulaire d'une durée de 0.1 ms et de fréquence variable. Un intervalle fixe de 0.4 seconde était imposé entre le commencement de deux salves de pulsions consécutives.

Procédure

Période d'entraînement

Les sujets utilisés pour les expériences ont été soumis à une diète consistant en cinq boulettes de nourriture de Purina Rat Chow et de l'eau. Les tests ne pouvaient débuter que cinq jours après une chirurgie. Une méthode de façonnement a été employée pour entraîner les sujets à s'autostimuler en appuyant sur le levier d'une boîte opérante. L'intensité et la fréquence des pulsions étaient choisies pour maintenir un comportement d'autostimulation durant au moins 30 minutes. Lorsque l'un des sujets ne s'autostimulait pas de manière constante, l'électrode était baissée par étape de 0.2 mm, et l'entraînement était poursuivi.

Courbes de fonction taux-fréquences

Dans un premier temps, on s'est assuré que la région stimulée (NGR ou DTg) produisait bien de la douleur. Le niveau d'aversion a été estimé en fonction du seuil d'échappement, c'est-à-dire de stimulation électrique de moins de 5 secondes. Ensuite, une condition contrôle fut établie où seulement l'électrode renforçante était activée, et dans laquelle les stimulations étaient constituées d'un nombre variable de pulsions dont la durée et l'intensité étaient fixes. De cette condition contrôle, ont été produites des courbes taux-fréquences représentant le nombre d'appuis au levier par minute, en fonction de la fréquence des pulsions. On a ensuite entrepris la condition expérimentale où l'électrode réticulaire était également activée. Chaque condition renforçante était suivie d'une pulsion aversive. Le délai entre les deux pulsions était de 2 msec. La fonction taux-fréquences reliant le nombre de pressions au levier par minute à la fréquence des pulsions a été obtenue pour chaque condition. Le nombre de pulsions par salve administrée aux rats a varié de façon systématique : il y eut alternance répétée d'un ordre décroissant et d'un ordre croissant

d'essais qui ont été suivis d'une période de 30 secondes où aucun courant n'était disponible. Le rang des fréquences testées était déterminé par la fréquence à laquelle le rat atteignait un maximum d'appuis, jusqu'à la fréquence où il avait arrêté d'appuyer lors de la période d'entraînement. Des seuils de fréquence consistant à 50% du maximum du nombre de pressions au levier devaient être calculés à partir des courbes taux-fréquences produites. Ce calcul permit de quantifier la dérive des courbes et de produire la courbe décrivant les changements logarithmiques des seuils selon les jours où les tests avaient été effectués.

Courbes de fonction de latence d'échappement

Après nous être assurées que la région stimulée était aversive (NGR et DTg), des mesures reliant le temps d'échappement des sujets à une stimulation continue de pulsions de différentes intensités ont été prises. Ces fonctions latence-intensité ont été utilisées de manière à pouvoir établir des seuils d'échappement. La fréquence des pulsions destinées à la région aversive a été sélectionnée à l'intérieur des valeurs des pulsions qui, dans la région renforçante, avaient pu soutenir un comportement maximal d'autostimulation. Une fréquence fixe était choisie de manière à ce que les rats reçoivent des pulsions combinées (région renforçante et région aversive) et que ces dernières puissent transmettre autant les effets renforçants qu'avर्सifs. Les rats, placés dans une boîte opérante, ont reçu dans la région aversive une première stimulation jusqu'à ce qu'ils s'échappent en adoptant l'un des comportements suivants : sursauter, crier, grimper à une paroi, se retirer dans un coin où déféquer. Cette première stimulation était continue (fréquence de pulsions fixes) et d'une intensité de 0.1 mA. Soixante secondes plus tard, on augmentait l'intensité du courant de 0.1 mA et une nouvelle mesure était prise. Cette procédure s'est répétée pour tous les rats, jusqu'à ce que la latence d'échappement soit de moins de 5 secondes.

Histologie

Après que tous les tests furent complétés, chacun des sujets a reçu une injection létale de sodium pentobarbital et a été perfusé par voie intracardiaque avec une dose de 60 ml de 0.9% de solution saline, suivie de 60ml de 10% de formaline (contenant 3 grammes de potassium ferrocyanide, 3 grammes de potassium ferricyanide et 0.5 grammes d'acide trichloracétique). Après la perfusion, le cerveau du rat était retiré de sa boîte crânienne et placé, pour au moins 24 heures, dans du formol saline ou 10% de formaline . Ensuite, à basse température et au moyen d'un cryostat, le cerveau était coupé en fines sections de 30 Um. Les sections contenant les traces des électrodes étaient teintées avec de la thionine et étudiées sous un microscope afin d'y localiser avec précision l'emplacement des électrodes; cette étude se fit à l'aide de l'atlas de Paxinos et Watson¹⁴⁹.

Chapter One

Interactions between rewarding lateral hypothalamic and aversive nucleus reticularis gigantocellularis stimulation

The main objective of the studies composing my thesis was to investigate the anti-aversive properties of rewarding brain sites when paired with a nociceptive brain region. This research direction was spurred by the earlier demonstration that concurrent stimulation of ventral tegmental area (VTA) rewarding pulses with gigantocellularis reticularis (Gi) aversive ones suppressed the escape behaviour induced by Gi stimulation. On the basis of these results, we decided to explore the generality of this phenomenon to other sites. Therefore the study of this chapter was aimed at evaluating the interactions between rewarding and aversive electrical stimulation of the lateral hypothalamus (LH) and Gi, respectively. Following the completion of the study, a subset of rats was retested in order to examine more closely the temporal characteristics associated with the summation of joint LH and Gi pulses.

Abstract

The interaction between rewarding and aversive consequences of brain stimulation were assessed in two studies. In the first, the frequency threshold for 300 ms trains of combined LH and Gi stimulation, in which each LH pulse was followed 2 ms later by the Gi one, was determined for one month. Compared to the threshold for trains of single LH pulses, combined LH-Gi stimulation initially increased the frequency threshold; however, this effect reversed within one session and was subsequently maintained for the duration of the study. The aversion produced by Gi stimulation, as measured by latency to escape, was abolished following a single session of LH-Gi pairs. In the second study, a subset of animals received both presentations of combined pulses, LH followed by Gi, and the reverse; the interval between pulses was varied from 0.2 to 6.4 ms. The effectiveness of combined stimulation, determined by the ratio of LH frequency thresholds to that of the LH-Gi ranged from 0 to 50% across animals but the individual effectiveness functions within animals did not vary with different intervals. In addition, the order of presentation of pulses was of no consequence. Thus, not only did exposure to LH stimulation appear to obliterate Gi aversion, but the combination of LH and Gi pulses added to the rewarding effect produced by LH stimulation alone.

Introduction

Chronic pain has long been a primary concern for which traditional approaches have frequently had erratic or disappointing outcomes^{19,20}. Prolonged painful ordeals have been shown to have serious debilitating effects on adaptive behaviours and on personality variables. Conversely, psychological states such as depression or anxiety have often been linked with the emergence of chronic pain syndromes and a significantly lowered capacity to endure noxious stimuli^{57,80,102,210}.

A variety of animal models has been developed in an effort to compensate for the existing inadequacies of conventional approaches to pain management. Some paradigms have explored the analgesic properties of electrical brain stimulation and have lent support to the hypothesis that focal stimulation of certain rewarding regions is associated with pain inhibition^{17,22,29,30,32,39,42,49,114,117,146}. Most of these designs have relied on the use of external aversive stimuli to produce reactions measured by tail flick^{49,68,69,72,121,122,134}, jump¹²¹, pinch^{68,121,146} and formalin tests^{42,114,117,134,201} in order to evaluate the anti-nociceptive properties of a given rewarding brain site. Fewer studies have employed internal aversive stimuli (nociceptive brain sites) to examine their interaction with a rewarding brain region^{3,29,30,32}.

The periaqueductal gray (PAG) has traditionally been a popular structure to study stimulation-induced analgesia and substantial information about the modulation of spinal nociceptive input in the dorsal horn region has been made available as a result of these investigations^{9,208,212}. More recently, other midbrain structures with rewarding properties, such as the VTA^{1,134}, the LH^{29,30,32} and the habenula⁴², have also revealed a capacity to induce analgesic effects. One hypothesis that has been proposed to account for the anti-nociceptive effect observed in these regions is related to their involvement, as relay stations, in mesencephalic or medullary

structures before entering the spinal cord^{49,72}.

We have previously investigated the interactions between rewarding and aversive electrical stimulation of the VTA and Gi respectively³. The Gi is composed of neurons that subserve responses to noxious natural somatic stimuli, such as, for example, of the cutaneous and arterial variety^{36,40,150,197,220}. Electrical stimulation of this structure produces behaviours associated with fear, some examples of which are avoidance and escape reactions¹⁵⁶. Following concurrent stimulation of the VTA and Gi, we observed a suppression of the aversion produced by Gi stimulation; this effect was only observed when pulses were concurrently applied to both structures.

On the basis of these results, we felt compelled to explore the generality of this phenomenon to other sites, hence the purpose of the present study. The LH was of particular interest to us since it shares many of the same behavioral and electrophysiological characteristics^{13,173,215} as the VTA as well as some portions of the same fiber bundle^{11,13,14,84,138,139,173}. Carr and his colleagues^{29,30,32} have evaluated the interaction between LH and Gi pulses in an effort to determine the analgesic properties of LH stimulation. Our analysis was centred on the duration of the analgesic effect, and its influence on the rewarding properties of the LH, using thresholds to index this feature.

Materials and methods

Subjects and surgery

Eight male Sprague-Dawley rats (Charles River Ltd., Canada) weighing between 250 and 275 g at the time of surgery were anaesthetised with 65 mg/kg sodium pentobarbital. Two monopolar moveable electrodes¹²⁷ were unilaterally implanted to target the LH and the Gi. Based on the Paxinos and Watson¹⁴⁹ atlas, the LH coordinates were 2.5 mm posterior to bregma, 1.8 mm lateral to the mid-sagittal structure, and 7.5 mm below the skull surface measured at bregma and in

the case of the Gi, 11.6 mm, 0.7 mm, and 9.1 mm respectively. Following surgery, the animals were housed in separate cages and kept on a 12-h light/dark cycle with light onset at 7:00 h; Purina Rat Chow and water were available ad libitum.

Screening and stabilization

After a post-recovery period of one week, the animals were screened for LH self-stimulation. Tests were conducted in a Plexiglas operant chamber (28.6 x 32.6 x 30.6 cm) using conventional shaping procedures. Each lever press triggered a 300 ms train of cathodal rectangular pulses of 0.1 ms duration delivered via a constant current amplifier and pulse generator, manufactured in-house. Between consecutive pulse trains, an interval of 400 ms was imposed in order to prevent delivery of continuous trains of stimulation. The lowest current, combined with a frequency of about 16 or 20 pulses, to elicit stable response rates for at least 30 min was determined for each subject. If steady responding was not obtained, the electrode was lowered by 0.2 mm (under halothane anaesthesia) and testing resumed. This procedure was repeated until a site was found that supported reliable responding, at which point, the electrode and current remained fixed for all subsequent trials.

In the first phase of the study, rate-frequency functions were collected for each animal, in order to establish a frequency threshold value. These functions were obtained by conducting a series of 60 s trials, during which the frequency was varied per trial from values that supported little or no responding to ones that yielded maximum rates (ascending series) and the reverse (descending series); a 30 s pause separated individual trials. Both series were repeated until the frequency threshold did not shift by more than $0.05 \log_{10}$ units for 3 consecutive days. The threshold was obtained by interpolation and corresponded to the frequency required to maintain 50% of the maximum response rate.

Immediately following the self-stimulation test, each subject was assessed for escape from Gi stimulation by plotting the function relating latency to escape from Gi stimulation against current. The Gi pulse frequency was fixed at the value corresponding to maximum responding in the self-stimulation test for that animal. The rats were then placed in one section of a two-compartment operant chamber. Trains (300 ms as in the self-stimulation tests) of Gi pulses, set at a current of 100 μ A and the predetermined frequency (see above), were administered until the animal changed compartments or 20 s had elapsed, at which point the stimulation delivery was shut off for 60 s. This procedure was followed at progressively higher current values, in 100 μ A steps, until the latency to escape was reduced to less than 5 s. From this latency-current function, the threshold current for escape was determined, corresponding to the value associated with a criterion latency of 5 s.

Double pulse tests with fixed C-T interval - study 1

Following the stabilization of both functions, concurrent LH and Gi rate-frequency curves were obtained for self-stimulation, using an interval of 2 ms between each LH and Gi pulse; interpulse intervals are conventionally referred to as C-T intervals, for conditioning (LH) and test (Gi) pulses. The LH current was the same as that used earlier and the Gi pulses were set at the current threshold associated with a 5 s escape latency. The paired-pulse function was collected every few days for about 45 days. Before and after each double pulse test, the LH frequency threshold was determined in order to verify its stability.

Double pulse tests with variable C-T interval - study 2

Following the completion of the first study, a subset of three rats was retested using two orders of presentation, one in which the LH pulse preceded the Gi one, and the reverse. Six different C-T intervals were assessed - 0.2, 0.4, 0.8, 1.6, 3.2, and 6.4 ms; the presentation of intervals was randomly assigned.

Each session began and ended with a determination of the frequency threshold for the LH. The average of the two LH thresholds could not vary by more than 0.1 log₁₀ units, otherwise the data were considered unstable and the session discarded. The effectiveness of double pulse stimulation was evaluated using the following formula based on the ratio of single to double pulse thresholds²¹⁵:

$$E = [NT_{sp} / (NT_{c-t}) - 1] \text{ where}$$

E = effectiveness of the double pulse stimulation

NT_{sp} = the average of the two LH frequency thresholds

NT_{c-t} = double pulse period threshold, at a given C-T interval

Histology

After completion of all tests, subjects were euthanised by means of a lethal intra-peritoneal dose of sodium pentobarbital (Somnotol). Both stimulation sites were marked via direct-current lesions according to the protocol described by Miliaressis & Rompré¹²⁸. Subjects were perfused intracardially with 60 ml of 0.09% saline solution followed by 60 ml of 10% formalin (containing 3g of potassium ferrocyanide, 3 g of potassium ferricyanide and 0.5 g of trichloroacetic acid). The extracted brains were stored in a solution of 10% formalin until sectioned (at a thickness of 30 µm) and stained for verification of the electrode tips.

RESULTS

A typical rate-frequency function was obtained from rewarding LH stimulation with rates initially accelerating followed by a slight decrease at the highest tested frequencies. In contrast, the delivery of Gi stimulation gave rise to a consistent repertoire of aversive-like behaviours in all rats - urination, defecation, jumping, withdrawal, and escape. However, the combination of concurrent LH-Gi stimulation not only abolished the escape response but generated self-administration of trains of paired LH-Gi pulses.

The current employed to elicit LH self-stimulation ranged from 450 to 600 μA across animals; the frequency thresholds associated with these values varied from 11 to 15 pulses per train. In the case of the Gi, the response criterion for latency to escape (5 s) required current thresholds of roughly 160 to 360 μA .

Figure 1 displays the change in the rate-frequency function of double stimulation in one subject. The overall pattern of the data suggests that the inclusion of Gi pulses markedly shifted the function obtained with train of single LH pulses to the right initially (day 1) but that in subsequent tests, starting at day 2, the function returned to their baseline position, or slightly to the left of it. Thus, the effect of adding Gi pulses to the stimulation train produced a biphasic pattern, that is, an initial and short-lived increase in frequency thresholds followed thereafter by a rapid reversal and a gradual decrease in the frequency threshold. This effect was exhibited in five of eight animals, specifically those that received concurrent LH-Gi stimulation; these are shown as averaged frequency thresholds in fig. 2. In the remaining three, because the escape response was abolished before introduction of the concurrent stimulation condition, apparently as a result of exposure to rewarding LH stimulation alone, no pairing of LH-Gi pulses was administered. The data in Figure 2 were analysed using a single factor repeated measures ANOVA design¹⁸⁸ ($F(6,24)=25.98$;

$p=.0003$); note that the probability level has been adjusted to comply with Greenhouse-Geisser's correction for the assumption of sphericity⁹⁴. A post-hoc examination of the means using a Bonferroni test of pairwise comparisons revealed that the threshold changes associated with the first ($t(4)=3.77$) and last two sessions ($t(4)=4.42$ and 4.71) respectively were significantly different from 0; the alpha level was set at .01.

The third figure shows the effect of double pulse stimulation on the maximum rates obtained across sessions. These are plotted as average group values and reveal a pattern similar to that observed in the threshold data. Again, the first session of LH-Gi pairs is associated with a considerable drop (almost 50%) in response rates which increase in subsequent tests and remain relatively stable at about 75% of their baseline value. The results of the repeated measures ANOVA with Greenhouse-Geisser correction applied were significant ($F(7,28)=13.04$; $p=.00044$). This was due to differences between the first two adjacent pairs of means, that is, between the baseline and first session ($F(1,4)=39.18$; $p=.003$) and between the first and second session ($F(1,4)=15.19$; $p=.018$), as confirmed in post-hoc tests.

The latency to escape Gi stimulation was measured before and after the completion of each double pulse test. The three rats that failed to respond to Gi stimulation, following LH stabilization trials, could not be included in Figure 4 which shows the general pattern of responding as a function of current for the five remaining rats. Recall that from this relationship, the threshold for latency to escape was determined in individual animals. After the first double pulse test, even this group failed to respond to the aversive stimulation, that is, Gi pulses delivered alone. The horizontal line positioned at a 20 s latency reflects this fact. Failure to initiate escape was present for the duration of the experiment. However, following the first test of combined stimulation, Gi pulses, while no longer apparently aversive, now generated some bar-pressing behavior. This phenomenon was

observed each session.

In Figure 5, the plot relating the effectiveness of double pulse stimulation as a consequence of different C-T intervals is shown for the three rats (A, B, and C) in the second study. Here, both orders of pulse presentation (LH-Gi and Gi-LH) were employed. A two way fully repeated ANOVA design was used to evaluate the results of each animal. Although the summation levels or effectiveness of double pulse stimulation varied from a low of 0% (see Fig 5A) to as high as 50 % (see Fig 5C), there was no statistical difference in order of presentation or C-T interval and, of course, no interaction of these two factors.

Figure 6 depicts the location of the electrodes on plates traced from the Paxinos and Watson¹⁴⁹ atlas. One of the posterior placements could not be confirmed. The rest were distributed in or around the target areas.

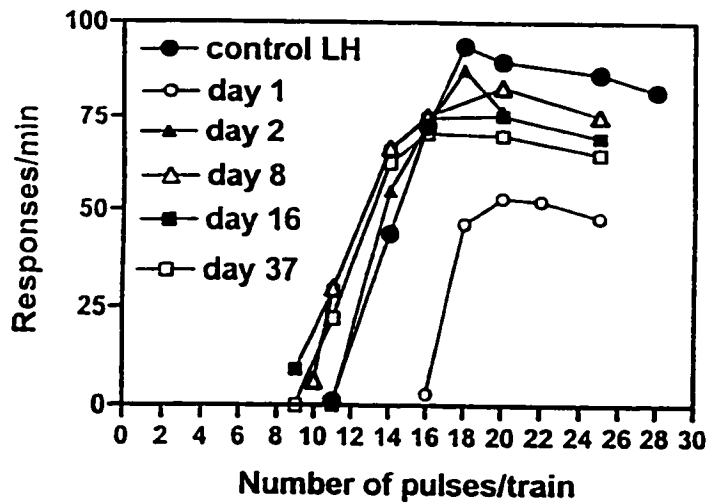


Fig. 1. Response rate as a function of the frequency of LH pulses, paired without (control) and with the Gi in one subject. For clarity, six of the eight rate-frequency functions are shown. The two omitted were collected on days 23 and 30, and fell where expected.

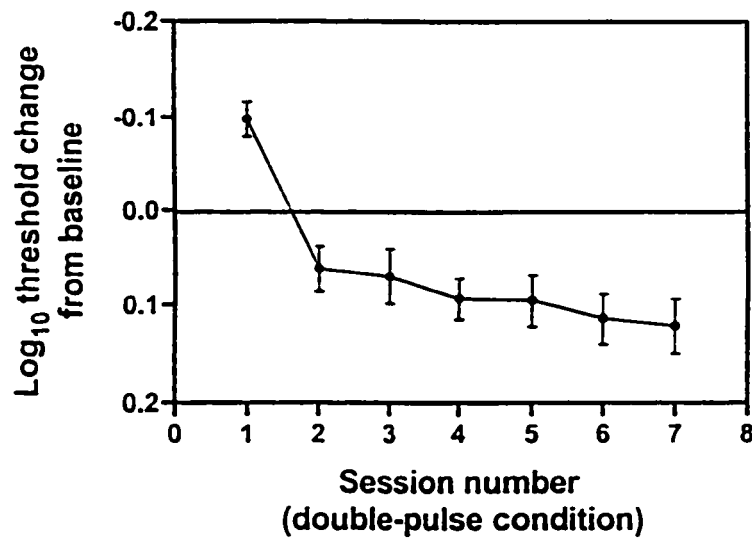


Fig. 2. Average change in threshold across five subjects as a function of the frequency of double-pulse (LH-Gi) sessions. The total number of sessions corresponds to roughly a 45 day period during which the animals were tested every few days. Positive values indicate that Gi pulses increased the frequency threshold for double-pulse stimulation while negative values indicate the reverse. Error bars represent the standard error of the mean. The baseline threshold value (LH pulses alone) is depicted by the horizontal line positioned at 0.

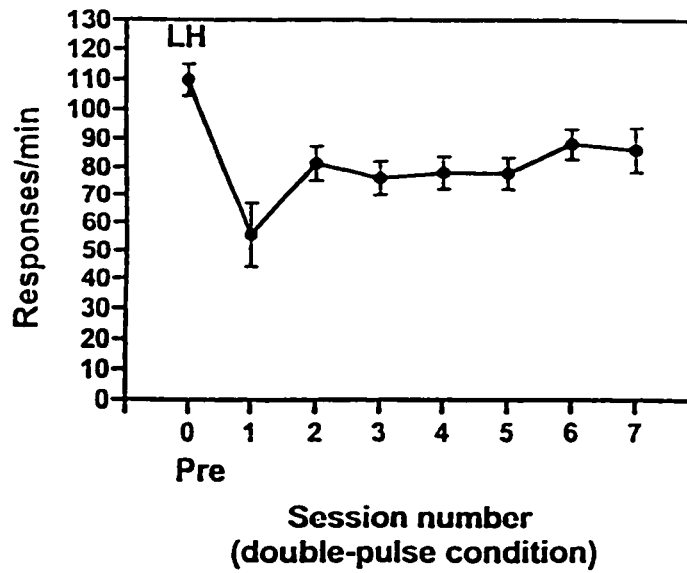


Fig. 3. Average maximum frequency of responses across five subjects as a function of test session without (control) and with the addition of Gi pulses to the stimulation train. Error bars represent the standard error of the mean.

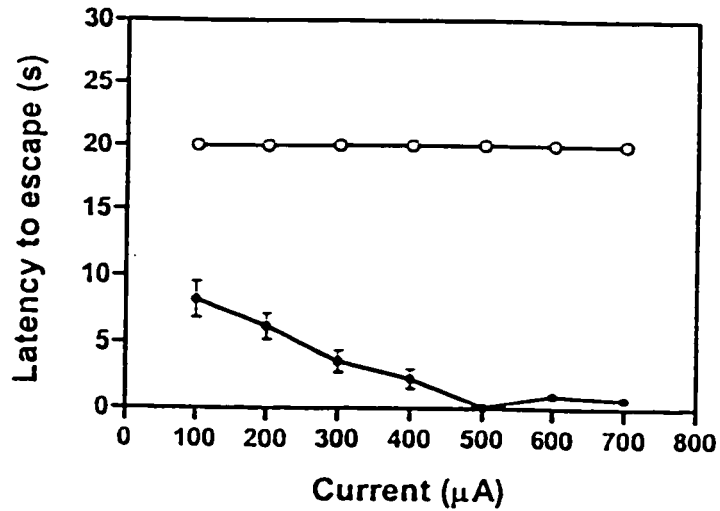


Fig. 4. The mean threshold for latency to escape Gi stimulation as a function of current. Filled circles show this relationship before exposure to LH-Gi double stimulation; afterwards, all animals failed to escape Gi stimulation, depicted by the horizontal line (unfilled circles) fixed at 20 s, which was the maximum duration of Gi trials.

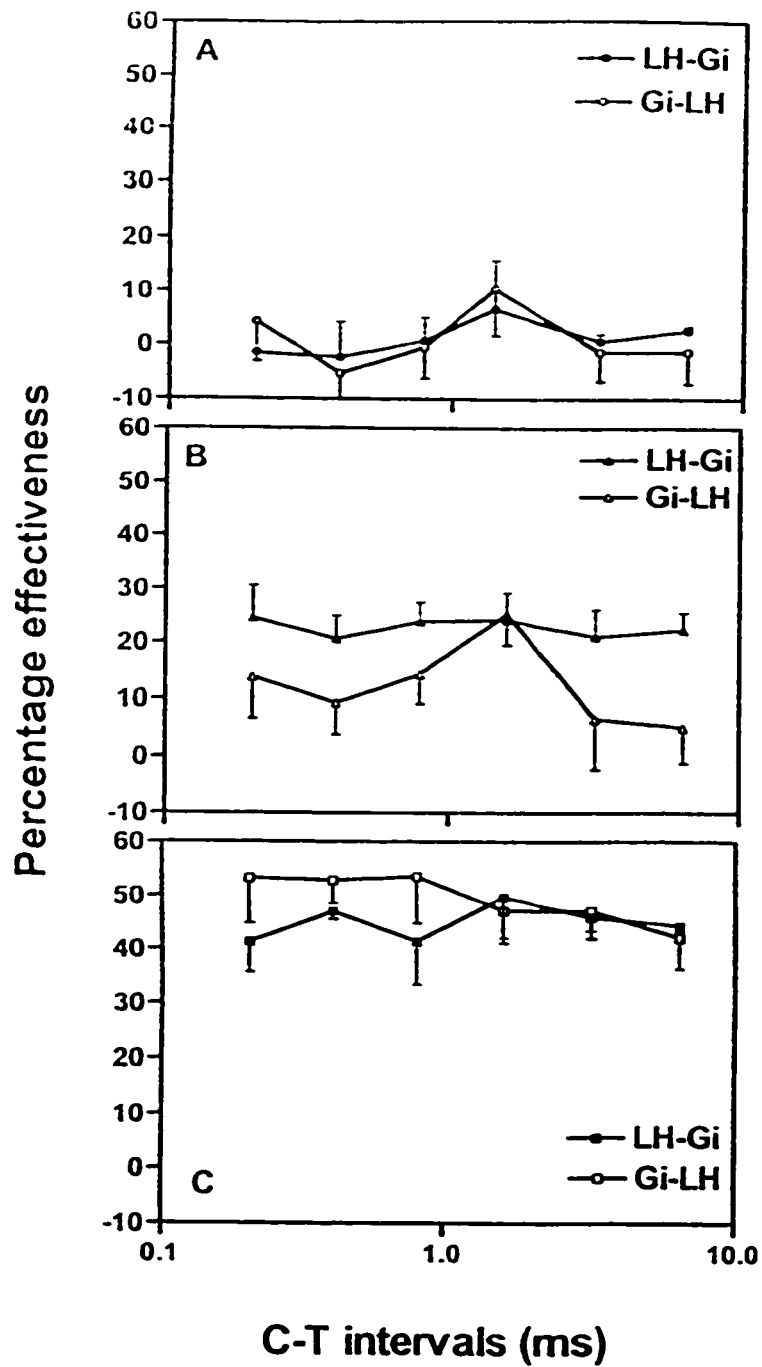


Fig. 5. The mean % effectiveness value plotted as a function of C-T interval for two orders of presentation - one in which each LH pulse was followed by a Gi one (filled circles) and the reverse (unfilled circles). Each graph (A, B, & C) represents the results of one subject. The error bars depict the standard error of the mean based on four replications.

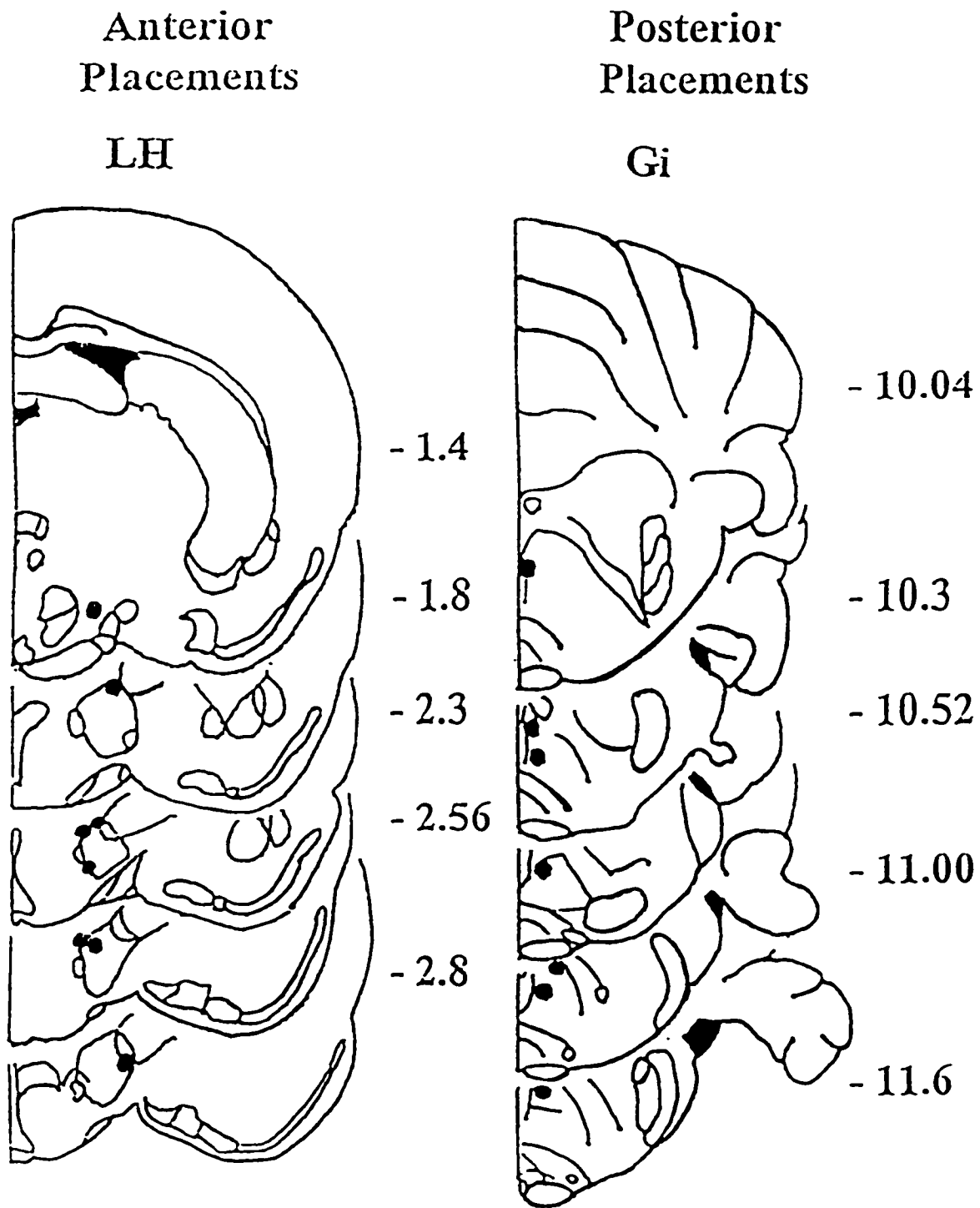


Fig. 6. Tracings from the Paxinos and Watson¹⁴⁹ atlas plates that best describe the location of the electrode tips. Anterior placements are shown on the left, and posterior ones on the right. The number to the right of each drawing refers to that plate's location in mm behind bregma. Electrode tips are represented by filled circles. One of the posterior electrode placements could not be accurately identified.

DISCUSSION

The results of this study suggest that the combination of aversive and rewarding brain stimulation has potent effects on both the latency to escape and the threshold for self-stimulation. In this study, one session of concurrent LH-Gi pulses completely suppressed the aversion produced by Gi stimulation in five rats, while the remaining three did not even require that contingency, simply a few self-stimulation training sessions on the LH electrode were sufficient to induce a total loss of Gi aversion. Once failure to escape was observed, subsequent tests of escape showed no reinstatement of the behaviour. Thus, failure to escape Gi stimulation does not appear to be a transient phenomenon, or necessarily require repetitive pairings with rewarding pulses. Furthermore, once escape behaviour is abolished, it shows no evidence of reoccurrence.

It is unclear why some animals required less exposure to rewarding LH stimulation than others. We did examine whether such factors as differences in total charge, response vigour, and length of screening session could account for this variability and found none. Others have reported similar results, that is, attenuation of Gi aversion by close pairing with LH pulses, even using a different scaling index^{29,30}. Likewise, in that study, combined stimulation increased the rate of bar-pressing for LH stimulation. While in our hands, the first double pulse session produced a significant decrease in responses, subsequent pairings were characterized by a return towards baseline values. Although maximum rates were fairly stable across sessions, note that the thresholds associated with these rate/frequency functions continued to decline gradually over the lengthy testing period (see Fig 2). Initially, combined pulses elicited strong motoric effects which dissipated with additional pairings. Thus, we attribute the change in rates to this factor and not to a reward related process.

It is unlikely that the addition of LH pulses produced behaviours that permanently interfere with the escape response to Gi stimulation. Three of the eight animals were never administered the pairing condition, because escape was abolished following exposure to LH pulses alone. In these animals, like the group receiving the paired condition, no reinstatement of the escape response was observed. Thus it appears that once the behaviour is extinguished, whether paired with the LH or not, Gi stimulation is ineffective in this regard. This phenomenon does not seem to generalize to all structures that induce aversion. For example, stimulation of other rewarding sites, such as the LH and VTA, can result in aversive consequences if the train duration is adjusted. Despite this, the latency to escape is completely unaffected by self-stimulation trials, and vice-versa, suggesting that the substrates for LH and VTA aversion and reward do not interact¹¹.

Our finding is consistent with that reported earlier using combined VTA-Gi stimulation³, although in that study, more sessions of combined pulses (2-5) were required to abolish the aversive consequences of Gi stimulation. Thus, the time course of LH induced suppression of Gi aversion is shorter than that obtained when VTA pulses are paired with Gi ones. In that study³, a group of subjects were included that received only Gi stimulation in trials that were repeated weekly over a period of roughly two months; no habituation to the aversion produced by Gi activation was observed. If anything, there was a tendency for the current threshold for latency to escape to decrease.

Recently, we have examined this phenomenon using a structure, the DR, that has direct anatomical ties with the Gi⁶ and elicits vigorous responding in self-stimulation trials⁵⁸. We found Gi aversion to be completely suppressed following one or two sessions of DR trials. Note that this occurred in the training phase, in preparation for the double pulse tests, and compare well to the results obtained in one group of subjects in the study reported here, those in which suppression of Gi

aversion required minimal exposure to LH stimulation without LH-Gi pairings.

One explanation for the temporal variation in the suppressive effects of Gi aversion resulting from experience with different brain sites that elicit reward may be related to their anatomical association with the Gi^{6,148}. For example, the DR supplies a major afferent projection to the Gi, while the LH transmits its signals less directly via the DR. The VTA, on the other hand, has an efferent arrangement with caudal mesencephalic structures. Whether these links are functionally relevant to the current findings is not clear.

Regarding the rewarding properties of these sites, direct connectivity between the LH and VTA has been established^{11,13,14,62,84,138,139,173}, and between the VTA and posterior mesencephalon²³ using the behavioral adaptation of the collision test¹⁷³. Whether coupling to a rewarding stimulus is a necessary requirement for modulating Gi aversion in this paradigm has not been tested to our knowledge. Furthermore, it may be that some other property of LH stimulation is responsible for attenuating Gi aversion. For instance, it has been demonstrated that prolonged trains of LH stimulation evoke analgesia to a painful stimulus³². While not the focus of this study, we can not ignore the possibility that mechanisms unrelated to reward mediate our observed effects. More recent evidence based on behavioral, electrophysiological, and pharmacological studies of the role of the LH in pain modulation following administration of a noxious stimulus strongly supports the contention that the LH participates in descending pain suppression pathways^{49,72}.

The second part of this study was aimed at examining more closely the temporal characteristics associated with the summation of joint LH and Gi pulses. Our interest was in determining whether the interval between pulses influenced the magnitude of the summation. None was observed which is unlike that reported by Carr and Coons³⁰ who found differences in escape latency at extreme intervals (0.1 and 10 ms). Their test points fell outside ours and we evaluated the

summation of double pulses by computing the ratio of single to double pulse thresholds; therefore it would be difficult to compare the two studies.

The shape of the summation functions obtained in this manner is typically flat, unless the electrodes are aimed at the same axon bundle^{11,13,14,84,138,139,173}. Otherwise, differences as a function of C-T interval are rarely reported. It appears that the convergence of signals from the LH and Gi maintains its strength, at least at the tested intervals.

While neither the interval length nor the order of presentation had any effect on summation values, there were sizable differences in the magnitude of the summation level across animals, ranging from 0 to 50%. Such variability is seen not only when different structures are concurrently stimulated, but even when homologous sites are paired. For example, bilateral LH stimulation produces summation of the rewarding effects that differ as much as 60% across animals¹⁷³. Interestingly, the pairing of contingent and non-contingent rewarding LH pulses, delivered to the opposite or same electrode, results in a wide range of summation levels²⁰⁹. The situation in this study is similar in that the Gi pulses, while initially aversive, appeared to acquire rewarding properties; indeed, whereas the initial reaction towards this stimulation was characterized by urination, defecation, jumping, and withdrawal, following the pairing of Gi and LH pulses, the animals exhibited an entirely different panoply of behaviours including licking, exploration, approach, and even some bar pressing.

The most interesting finding is that an aversive stimulus, when exposed to a rewarding signal, apparently alters its value and itself takes on properties of that with which it was paired. Indeed, from an adaptive point of view, it would be reasonable to speculate that an organism exposed frequently to a given stimulus will accommodate to it. Although we are not in a position to estimate whether the integration of once-aversive and rewarding signals summate algebraically, the

next logical step would be to quantify the size of the reward signal associated with Gi pulses. From a motivational perspective, considering that aversion and reward probably are the two major driving forces of vertebrates, one could conceivably imagine that such motivated behaviours share common neurophysiological substrates and mechanisms. In fact, recent studies support this hypothesis, with the demonstration that the same specific biochemical events respond to both aversive and appetitive signals¹²⁴. Whether all such signals are similarly integrated requires further investigation.

Chapter two

Factors that influence the persistence of stimulation-induced aversion

The first experiment established that the combination of rewarding LH with aversive Gi pulses induced the abolition of Gi aversion faster than what had been noted when pairing VTA and Gi pulses. This observation led us to hypothesise that rewarding sites possess different analgesic properties. Therefore, the two studies of this chapter were aimed at investigating the characteristics of other rewarding and aversive sites in order to explore the generality of this phenomenon. In the first study, we inspected how self-stimulation of the DR modifies the aversive effects of Gi stimulation. Because only few sessions of DR self-stimulation were required to produce a complete and long-lasting inhibition of Gi aversion, we decided to evaluate in a second study whether rewarding DR stimulation also modulated the aversion produced by dorsal tegmentum (DTg) stimulation.

Abstract

Brain stimulation reward in certain regions has been shown to produce analgesia to externally applied painful stimuli. In the present experiments, we studied how electrical self-stimulation of the DR nucleus modifies the aversive effects of electrical stimulation of the Gi or of DTg. In the first study, the threshold for latency to escape aversive Gi stimulation was tracked before and after exposure to rewarding DR stimulation. Only a few sessions of DR self-stimulation were required to produce a complete and long-lasting inhibition of Gi aversion. In the second study, the aversion induced by DTg stimulation rapidly disappeared following a few test sessions at that site. Unlike our previous experience with Gi aversion which required either pairing with rewarding LH or VTA pulses in order to increase the threshold for latency to escape Gi aversion, in this study, simply brief experience with rewarding DR stimulation in unpaired trials was sufficient to entirely suppress Gi induced aversion. Even more surprising was the finding that unlike the Gi, aversion obtained from activation of the DTg does not persist, its threshold for escape quickly increases, and within a few sessions is no longer evident. One interpretation of these findings is that the aversion mechanisms associated with the Gi and Dtg are differentially susceptible to analgesic processes.

Introduction

The analgesic properties of electrical stimulation have been explored using a variety of paradigms, including that of brain stimulation reward. Results from the latter type of studies suggest that some brain sites are particularly efficient in inducing analgesia in response to painful external^{49,68,69,72,121,122,134,146} as well as internal (nociceptive brain sites)^{3,29,30,32,59} stimuli.

Previous work in our laboratory³ has assessed the interactions between rewarding electrical stimulation elicited from the VTA, and aversive electrical stimulation evoked from the Gi. We observed that the delivery of concurrent VTA and Gi pulses produced effects both on VTA self-stimulation thresholds and on the thresholds for latency to escape Gi stimulation; indeed, the latter was completely suppressed following a few trials of combined VTA-Gi stimulation. The effect on self-stimulation thresholds was monophasic with Gi pulses initially increasing the threshold for rewarding brain stimulation; however, this phenomenon was transient and threshold values progressively dropped to and eventually below their baseline level.

In a subsequent study⁵⁹, we found that the combination of rewarding LH pulses with aversive Gi stimulation induced the abolition of Gi aversion more rapidly than what had been observed when pairing VTA and Gi pulses. In this case, only one session of combined pulses was required to achieve this effect⁵⁹. These observed differences with regards to the rapidity of acquisition of the anti-aversion led us to hypothesise the existence of rewarding sites possessing different analgesic properties²⁵. Therefore, the present study was aimed at investigating the properties of other rewarding and aversive sites in order to explore the generality of this anti-

aversion phenomenon.

The DR, which is located within the PAG, was chosen for its well-established capacity of maintaining vigorous self-stimulation behavior^{12,47,160,161}. This structure shares important anatomical connections^{6,114,148,164} with the Gi. The analgesic properties of the PAG have been well-documented^{68,69,117,121,146,201}, some studies have provided information regarding modulation processes of spinal nociceptive input in the dorsal horn region^{9,208,212}. We chose the Gi as our target aversive site because it comprises neurons that react to cutaneous and arterial pain^{36,40,150,197,220}. Additionally, this would allow us to compare our results to previous ones obtained in our laboratory^{3,59}.

In the second part of this investigation, the DTg was chosen as our target aversive site. Unlike electrical stimulation of the Gi, which appears to invoke visceral pain (see above), stimulation of the DTg has been linked with behaviors of fear, rage and escape^{144,186,187,204,214}. Our aim was to evaluate whether rewarding DR stimulation also modulated the aversion produced by DTg stimulation.

Experiment 1: effects of rewarding DR stimulation on current threshold for aversive Gi stimulation

Method

Subjects and surgery.

Six male Sprague-Dawley rats (Charles River Ltd., Canada) weighing between 300 and 400 g at time of surgery were individually housed and maintained on a 12-h light/dark cycle with

light onset at 0700 h. Food was restricted to 90% of daily intake (27g) and water was freely available. After at least one week of acclimatization, the rats were implanted with two moveable electrodes (Kinetrotde, Inc), one aimed at the DR and the other at the Gi, based on the Paxinos and Watson¹⁴⁹ atlas coordinates which were the following: DR - 7.3 mm posterior to bregma, 0.0 mm lateral to the mid-sagittal structure, and 7.0 mm below the skull surface measured at bregma; Gi - 11.6 mm, 0.7 mm, and 9.1 mm respectively. The current return was via a miniature amphenol pin which was soldered to a stainless-steel wire wrapped around four miniature skull screws. The entire assembly was securely attached to the skull with dental acrylic.

Apparatus

The test chamber was a Plexiglas box having dimensions of 28.6 x 32.6 x 30.6 cm. A rodent lever was positioned on the right side of the box, 3 cm above the floor. A depression of the lever resulted in the delivery of a 0.3 s train of cathodal rectangular pulses, 0.1 ms in duration. Each train was followed by a lock-out period of 0.4 s, during which lever depressions were of no consequence. The stimulation parameters were controlled by constant current stimulators¹³⁷ and pulse generators built in-house. The current was continuously monitored on an oscilloscope by reading the voltage drop across a 1K Ω precision resistor in series with the rat.

Stabilization

Following at least 7 days recovery from surgery, the animals were screened for stimulation escape (Gi site) and self-stimulation (DR site). Because in pilot tests, we observed

rapid cessation of the aversive effects of Gi stimulation following minimal exposure to rewarding DR stimulation, all animals were first screened and stabilized on the Gi electrode.

The aversive properties of Gi stimulation were assessed using a starting current of 100 μA and 20 pulses per 0.3 s train; the pulse width was 0.1 ms and the trial length 20 s. Unless the typical repertoire of aversive behaviors was exhibited (urination, defecation, jumping, withdrawal, or escape), using a current no greater than 700 μA , the electrode was progressively lowered in 0.2 mm steps until demonstration of aversion was observed.

The current threshold for latency to escape trains of Gi pulses was evaluated in the following manner: The current was increased from 100 to 700 μA (in 100 μA steps) until the latency to escape was reduced from 20 s (or no escape) to under 5 s. Escape was defined as movement to a quadrant of the test chamber. The current threshold was determined by interpolation of the current-latency function and corresponded to a fixed latency of 5 s. A pause of 60 s separated the trials.

Subjects were screened for self-stimulation using conventional shaping procedures. The current ranged from 450-500 μA across animals; train and pulse duration were fixed at 300 and 0.1 ms respectively. The number of pulses per train was adjusted to produce high rates of bar-pressing. If the DR electrode failed to support bar-pressing behavior, it was lowered 0.2 mm (under halothane anaesthesia) and testing was resumed. This procedure was followed until vigorous self-stimulation was observed or the full ventral travel of the electrode was evaluated. Once consistent bar-press rates were obtained at the same frequency value, a series of rate-frequency functions was introduced using a standard method of limits. The technique consisted of systematically varying the frequency of pulses per train in successive one minute trials

(separated by 30 s) starting with a frequency value that produced an asymptotic number of bar presses/min to one that yielded less than 5 bar presses/min. Two descending orders of presentation were followed by two ascending ones, in which this sequence was reversed. The frequencies were increased or decreased in $0.05 \log_{10}$ steps. A threshold was interpolated from each rate-frequency function and corresponded to the frequency of pulses associated with half-maximum responding. The threshold was considered stable when it did not vary by more than $0.05 \log_{10}$ units; normally this required at least three replications.

Histology

Following the completion of all behavioral tests, each animal was administered a lethal dose of sodium pentobarbital and perfused intracardially with first, a solution of 0.9% saline and then, 10% formalin (containing 3g of potassium ferrocyanide, 3g of potassium ferricyanide and 0.5g of trichloroacetic acid). Immediately prior to exsanguination, both stimulation sites were marked with an anodal current set at 6V for 11 sec. The brains were removed and stored for at least several days in 10% formalin. The tissue containing the electrode tracks was subsequently sectioned in 30μ in a cryostat and stained with thionin. Location of the electrode tips was verified using the Paxinos and Watson¹⁴⁹ atlas.

RESULTS

In all subjects, Gi stimulation produced the typical sequence of aversive responses - defecation, urination, jumping, withdrawal, and escape. The fixed frequency of 20 pulses per 300 ms train gave rise to a similar current threshold - roughly $300 \mu\text{A}$ - across animals. Once

stable, this value varied negligibly across sessions until the introduction of DR self-stimulation sessions; Figure 1 depicts this pattern well.

All subjects responded in like manner to DR stimulation; their experience with aversive Gi stimulation did not appear to hinder acquisition of DR self-stimulation, which typically occurred within minutes. Relatively high rates and low frequency thresholds for self-stimulation were obtained. The ranges associated with currents, frequency thresholds, and maximum response rates were the following: 450-500 μ A, 4-12 pulses, and 60-140 bar presses per minute. There appeared to be no obvious relationship between how quickly the aversive consequences of Gi stimulation abated and the DR stimulation parameter values. As suggested by the data in Figure 1, very few DR trials were required to extinguish Gi aversion. The plateau at 700 μ A indicates that escape was not initiated within the 20 s trial period. Currents greater than this value were not tested.

Figure 2 depicts the tracing from the Paxinos and Watson¹⁴⁹ atlas corresponding to the location of the electrode tips. The anterior placements show the location of the electrodes implanted in the DR and the posterior ones represent electrodes that were found in the Gi region. All were located in or around the intended structure - either the DR, Gi, or pontine reticular nucleus.

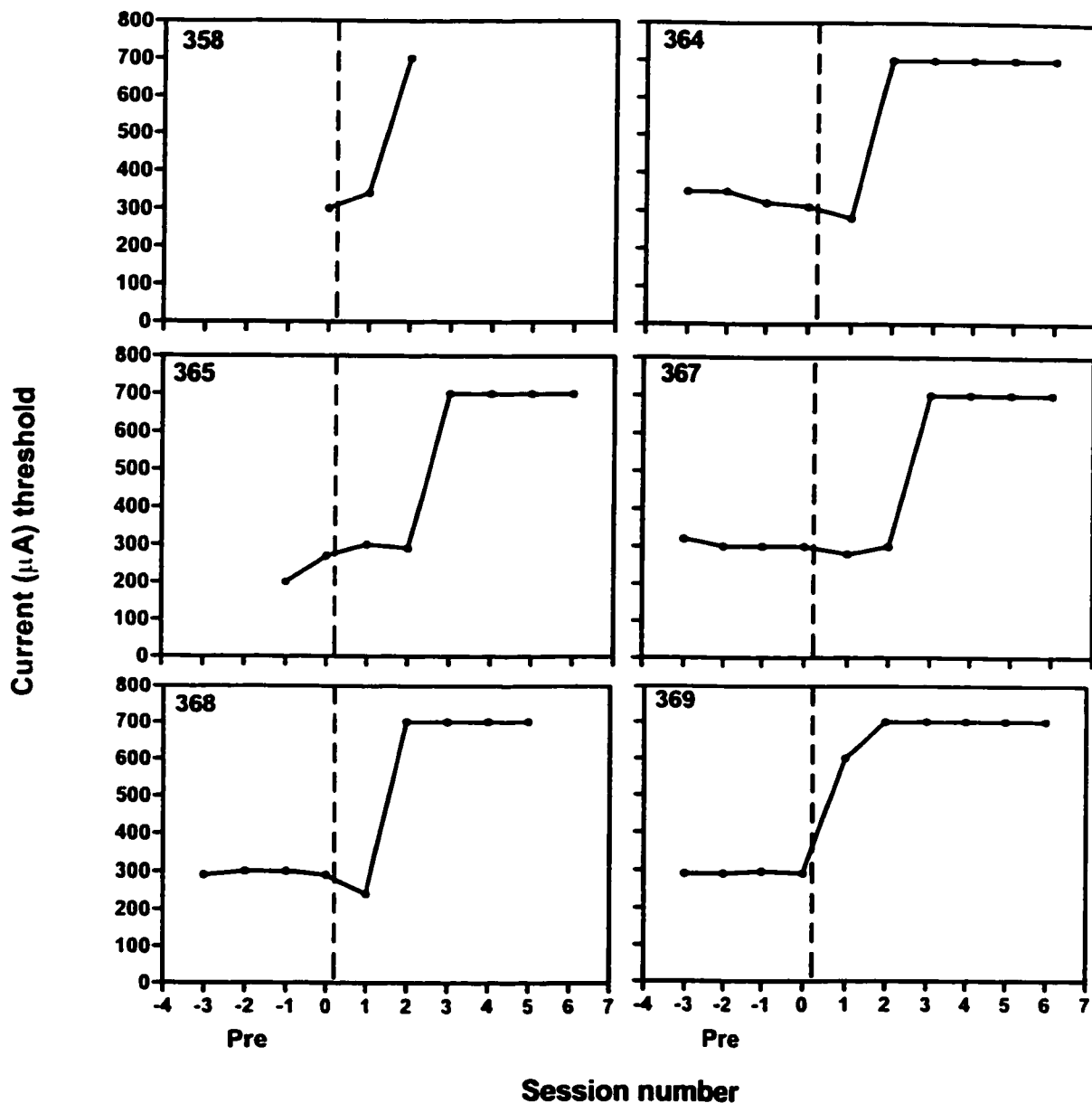
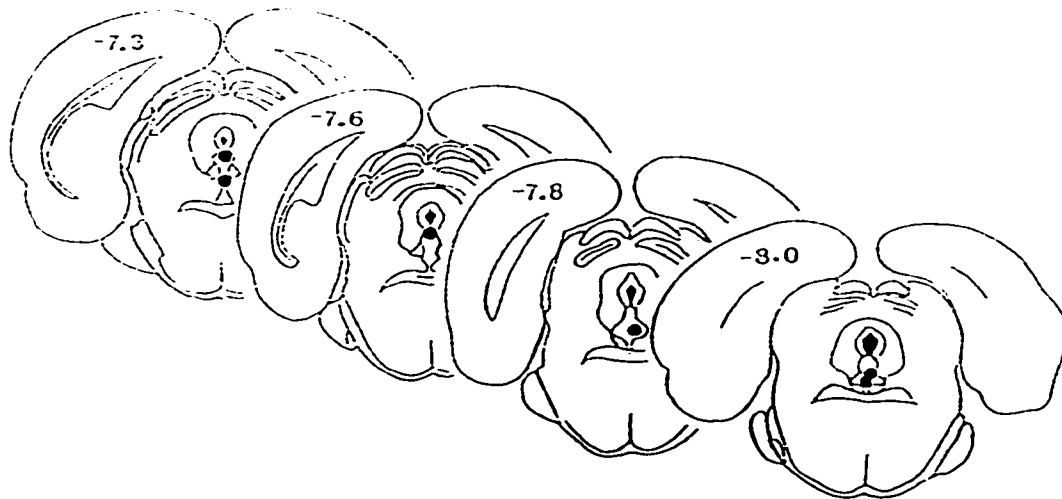
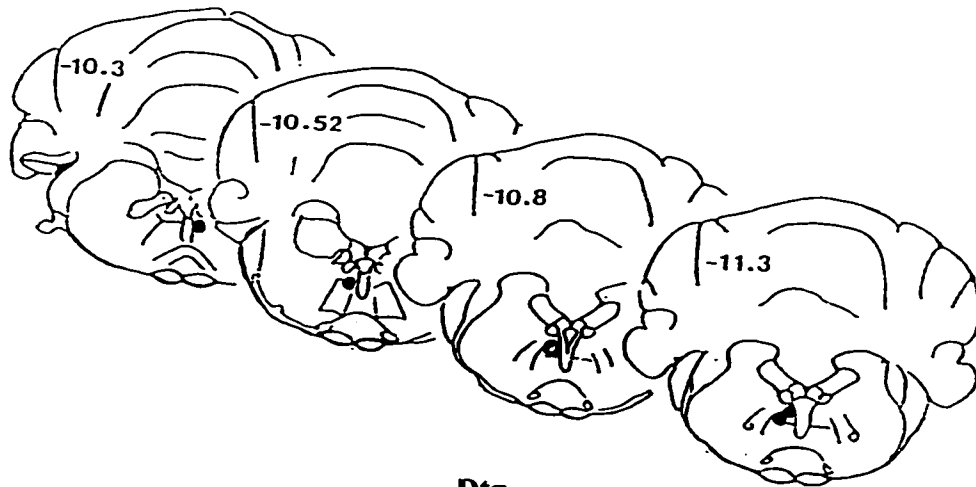


Fig. 1 The graph shows the results of each subject plotted as changes in current threshold for latency to escape aversive Gi stimulation before (sessions below 0) and after (sessions above 0) the introduction of DR self-stimulation tests; the vertical dotted line separates the two conditions. The highest current tested was 700 μ A at which a latency of 20 s (or no escape) was observed and persisted in subsequent sessions. The ten sessions were initially conducted at daily intervals, and thereafter weekly to confirm the absence of Gi induced aversion.



Gi



Dtg

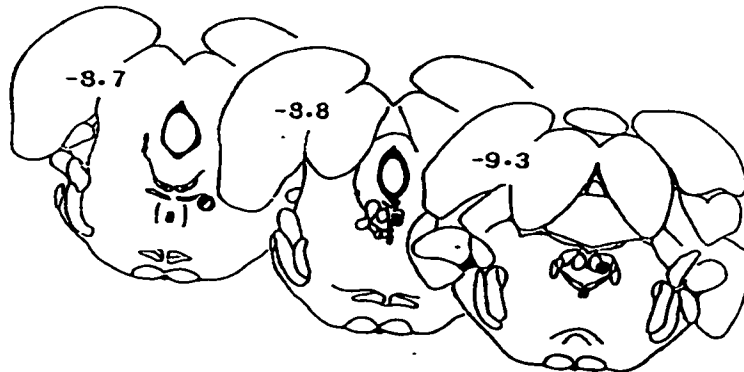


Fig. 2 The location of each stimulation site is depicted by a filled circle on the corresponding plate from the Paxinos and Watson atlas¹⁴⁹. The number on each drawing indicates the millimetric distance behind bregma. The electrodes of two subjects were located at the same level (-10.8). The drawings associated with the three stimulation sites evaluated in this report are shown - DR, Gi, and DTg.

DISCUSSION

The results of this study suggest that brief exposure to rewarding DR stimulation is capable of inducing a complete and long-lasting inhibition of Gi-elicited aversion. Previously³, we showed that stimulation of the Gi alone administered in trials over a period of two and a half months produced no change in latency to escape aversive stimulation. Similarly in this study, we verified the stability of Gi aversion before introducing DR self-stimulation trials, after which a rapid increase in the current threshold to elicit aversive behavior was observed. Very few DR trials, one to three across animals, were required to entirely suppress Gi aversion. Within this small range, we found no apparent relationship between how quickly the inhibition emerged and the values of the DR stimulation parameters, including current, frequency thresholds, and maximum rates.

An interesting phenomenon in this study was related to the temporal aspect of the DR-induced anti-aversion. For example, Gi aversion was always present immediately following DR exposure but not 24- or 48-h later, when the first few sessions depicted in Figure 1 were conducted. It could be that the aversion dissipated earlier; however, we did not test shorter intervals between the DR and Gi conditions. These data suggest that the processes underlying this phenomenon, that is, the influence of DR on apparently analgesic mechanisms, require a certain period of consolidation. Unlike other structures that we have examined in this respect - the VTA³ and the LH⁵⁹ - the DR does not appear to require the same strict contingency between its stimulation and that of the Gi. In our previous work, we found that in order to obtain suppression of Gi aversion, rewarding pulses had to be paired with Gi ones in the same train, using an inter-pulse interval of 2 ms. In the case of the DR, no such contingency was needed to

produce this outcome.

Another difference between rewarding loci found to influence Gi aversion is related to the rapidity of the inhibitory effect, with the DR inducing it the fastest and the VTA the slowest³. Given these findings, we were curious to evaluate whether the same characteristics would apply to other aversive structures. In this spirit, we undertook the subsequent study, which was aimed at determining the aversive properties of the DTg.

Experiment 2: effects of DTg stimulation on latency to escape

Method

Subjects and surgery

The subjects were four male Sprague-Dawley rats weighing approximately 350 g each at time of surgery. Each underwent stereotaxic surgery for unilateral implantation of a fixed electrode aimed at the DR (see study 1 for coordinates) and a moveable one at the DTg. The latter's coordinates were 9.6 mm posterior to bregma, 0.6 mm lateral to the mid-sagittal suture, and 7.5 mm below dura¹⁴⁹. Surgical details, descriptions of the apparatus, and histological techniques are described above.

Behavioral tests

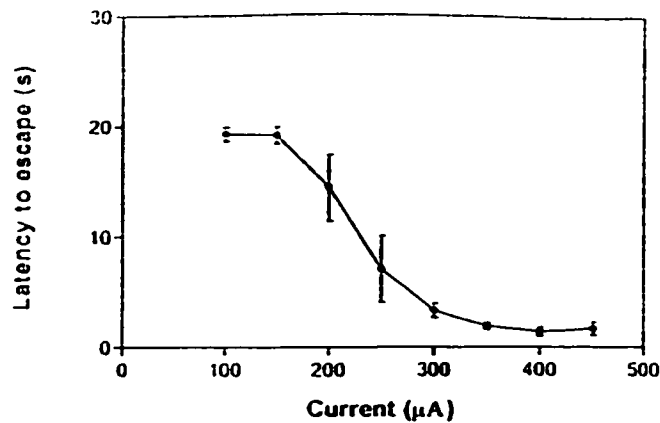
The procedures employed to prepare the animals for behavioral tests are similar to that used in the first study. Once a DTg site was found that was deemed aversive, according to the criteria described earlier, the current threshold for a 5 s latency to escape was determined. In

this case, however, the current was scaled in 50 μA steps rather than the larger 100 μA increments used above. Threshold measurements were collected every day for six days, and thereafter once a week for about two months. Note that due to the rapid disappearance of DTg aversion, DR self-stimulation tests were not conducted.

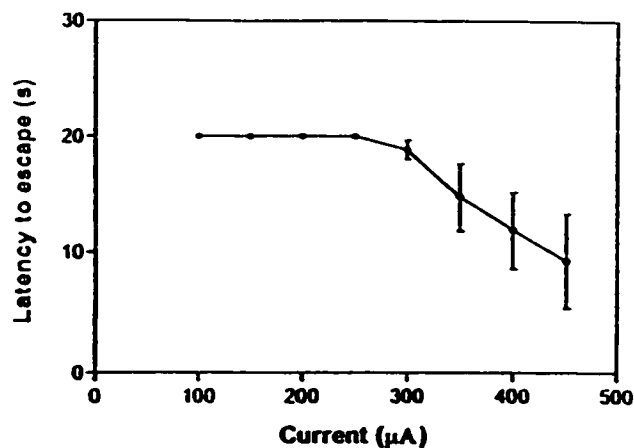
RESULTS

Six sites in four subjects were found to support stimulation escape. Four of the sites were histologically confirmed to the DTg; the location of these is shown in Figure 2, bottom panel. Two sites associated with one of the four subjects could not be verified.

At first, stimulation of the DTg elicited typical aversive-like behaviors, such as defecation, urination, jumping, withdrawal, and escape. The change over time (six days) in the group latency to escape aversive DTg stimulation as a function of current appears in Figure 3. In contrast to the Gi, the current had to be increased by smaller intervals (50 μA instead of 100 μA), to a maximum of 450 μA , in order to control for the intensity of the aversive reactions. Across subjects, between two and six stimulation-escape sessions were sufficient to completely suppress the escape response (defined as a latency of 20 s). This is shown in Figure 4 which plots the frequency of sites that remain aversive with repeated stimulation. Note that the single animal continuing to display aversive reactions at high currents in the last test session subsequently detached his crown and therefore could not be tested further. Thereafter, for two months, we periodically confirmed that the aversion associated with stimulation of these sites had not reappeared.



Middle session



Last session

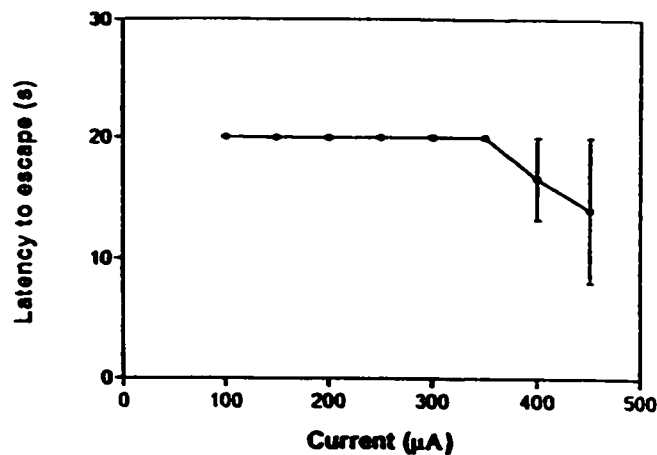


Fig. 3 Each graph expresses the average latency ($N=6$ sites) to escape aversive DTg stimulation as a function of current and session. Note the progressive decrease in escape behavior with repeated tests. The six sites were tested daily over six days until escape was no longer evident (defined as a latency of 20 s). Only one animal continued to display some escape in the last session, hence the large error term associated with currents of 400 and 450 μA . The middle session is equivalent to the second to fifth session across sites.

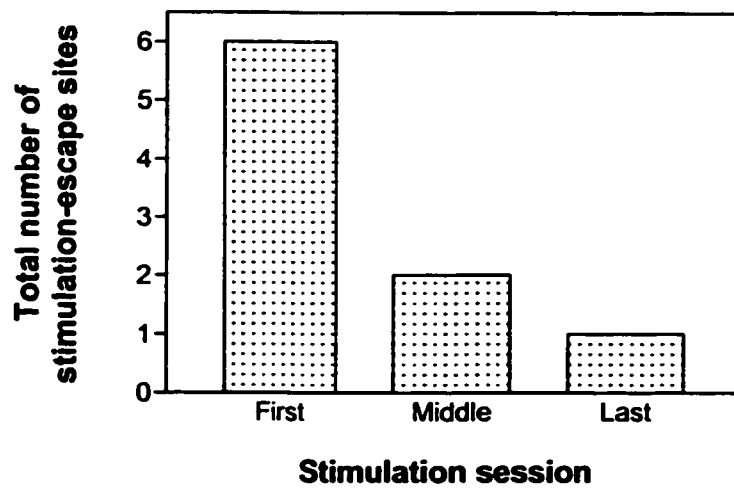


Fig. 4 The graph shows the number of DTg sites that continue to support stimulation escape with repeated tests. While aversive behavior was initially associated with all six sites, four of the sites failed to produce the response by the fifth day of testing (some as early as the second day). By the sixth day, only one of the six sites elicited the escape response and then only at the highest currents tested.

DISCUSSION

The results of this study suggest that the aversion produced by stimulation of the DTg, at least as measured by latency to escape, quickly disappears with repetitive tests. Indeed, a maximum of two to six trials across animals was sufficient to induce this effect. These data contrast sharply with our Gi findings; in the latter case, the same effect required exposure to rewarding DR stimulation.

Two hypotheses may account for the apparent analgesia that develops with repetitive activation of the DTg. First, stimulation of this structure may recruit elements that mediate reward. A number of studies have reported both rewarding^{120,214} and aversive behaviors in response to DTg stimulation^{144,186,187,204,214}. However, none of these show both arising from the same effective stimulation field, similar to our own experience. On anatomical grounds, the DTg is ideally situated to participate in both functions. It originates in the caudal central gray¹⁴⁸, in close proximity to the DR, and may represent a pericentral division of this vast aqueductal surround. Brain stimulation reward elicited from central gray structures, particularly the DR, produces the most vigorous responses and is associated with extremely low frequencies^{12,37,47,113,160,161}. These considerations lend support to the hypothesis that the DTg contains reward-relevant as well as aversive fibers. Therefore, it is possible that repeated stimulation of this site recruits reward fibers, either directly or indirectly, which induce the same analgesic-like action that is produced by pairing of rewarding and aversive stimulation in the case of the Gi^{3,59}.

However, this argument does not appear to generally apply to all structures associated with stimulation-induced aversion. For example, stimulation of other rewarding sites, such as

the LH and VTA, can result in aversive consequences, if the train duration is adjusted; the current is typically held constant in such studies to ensure that both behaviors arise from the same effective stimulation field^{11,176}. In those cases, the latency to escape is completely unaffected by self-stimulation trials, indicating that aversion and reward can be maintained independently of each other, at least at these sites^{11,176}.

The second hypothesis which may account for the disappearance of aversion that develops with repetitive activation of the DTg, is that this unique property of the DTg results from a mechanism of self-analgesia. In humans, electrical stimulation of this region has been reported to produce aversion associated with negative emotional components, such as fear, anxiety, and despair^{10,48,140,141}, as opposed to visceral ones, for example physical pain, such as those evoked by Gi stimulation^{36,40,150,197,220}. In animals, the long-lasting analgesia¹³⁴ resulting from repetitive stimulation of the DTg has been interpreted in terms of a “stress-induced” reaction towards emotionally disturbing situations. The presence in the central gray of a variety of neurochemical elements that are linked to opioid receptors^{6,93,134} further supports this hypothesis, that DTg stimulation is modulated by analgesic mechanisms.

In contrast to the DTg, the Gi is located in the medullary reticular nuclei, a site which has been shown to exclusively underlie aversive processes^{36,40,150,197,220}, being part of the descending pathway which influences nociception transmission¹⁴⁸. Not surprisingly, repeated stimulation of the Gi itself has no capacity to inhibit aversion³; to do so requires at least the participation of reward substrates^{3,29,30,32,59}. Our experience with this phenomenon may suggest that it generalizes to all rewarding loci; tested to date have been the VTA³, the LH⁵⁹, and the DR, reported above. While all have been successful in producing inhibition of the aversion induced by Gi

stimulation, they differ in the degree to which their temporal association with Gi stimulation produces this effect.

Another major difference between the two aversive regions studied here lies in the differential nature of the evoked aversion, the Gi-elicited one being more physiological^{36,40,150,197,208,220}, whereas the DTg is linked with emotional distress¹⁰. Indeed, in the human, stimulation of certain aversive regions in the PAG has been reported to induce feelings of anxiety, distress, panic, and even impending death^{48,140,141}; in contrast, stimulation of the Gi is thought to be closely associated with the central mechanisms of pain transmission^{36,40,208}.

Taken together, these data suggest the existence of different aversive substrates, each possessing intrinsic characteristics and being differentially susceptible to analgesic processes. Nonetheless, all share similar neurochemical constituents, serotonergic and opiate systems, that appear crucial to the regulation of pain^{148,170,171}. An interesting direction would be to explore the mechanism by which these neurochemical substrates regulate aversive processes.

Chapter three

Effects of naloxone on rewarding and aversives brain sites

The results of the previous experiments described here revealed that like the VTA, the LH and DR, both reward-related sites, appear to possess analgesic properties and modify the nociception generated by activation of the Gi; the sites differ in the time-course of the development of the anti-aversion effect. The last study was conducted in order to investigate if endogenous opioids might be implicated in the antinociception phenomenon observed. Because of the involvement of opioid receptors in medial forebrain bundle brain stimulation reward, we choose, as an initial screen, to evaluate the opioid antagonist, naloxone, on the interaction between stimulation-induced reward and aversion. We decided to centre our attention on two hypotheses that relate endorphinic systems to brain stimulation reward - “the reward reduction hypothesis” and the “increased aversion hypothesis”. The processes underlying each of these interpretations leads to the same result - a reduction in reward. In the first case, this is due to the direct mediation of brain stimulation reward by endogenous endorphins, which challenged with naloxone would antagonize these peptides. In the second, naloxone blocks the endorphin mediated analgesia associated with brain stimulation reward, and in this way indirectly reduces reward.

Abstract

The effects of naloxone on the rewarding and aversive properties of brain stimulation derived from the VTA and the Gi, respectively, were assessed in rats, based on three measures. The current threshold for latency to escape aversive Gi stimulation, the frequency threshold for rewarding VTA stimulation, and the frequency threshold for self-stimulation obtained from delivery of concurrent VTA and Gi stimulation, were assessed before and after three systemic doses of naloxone (0, 10, and 20 mg/kg). In the latter case, the stimulation trains were interdigitated with an interpulse interval of 2 ms. Initially, thresholds for concurrent stimulation were elevated relative to the values obtained for VTA stimulation alone, returning to baseline values only when the Gi stimulation no longer induced escape. After each pairing of the two sites, the current threshold for escape gradually increased until the maximum value administered, 700 μ A, at which point aversive responses were no longer observed. This required very few pairings, between one and five trials across animals. Drug tests were then begun and produced a significant dose-response threshold increase across animals, without reinstating the latency to escape Gi stimulation. These findings are discussed in terms of a dissociation between the analgesic and rewarding properties of VTA stimulation.

Introduction

Since the phenomenon of brain stimulation reward (BSR) was first described¹⁴³, a major preoccupation has been to identify the neurochemical systems underlying the transmission of reward. That the endorphins play a key role in this respect was proposed early on^{82,178,182} with Belluzi and Stein⁷ among the first to show that endogenous opioids might be implicated in the rewarding properties of brain stimulation. The evidence of anatomical links between dopamine and opioids fostered this view and gave rise to numerous studies supporting the involvement of the endogenous opioid system in BSR^{27,39,88,98,103,154,175,195,196,205}. Some experiments^{88,195,196} addressed the issue of whether opiate antagonists influenced the rewarding or performance properties of BSR while others examined the role of opioid receptors in the regulation of reward and feeding^{33,34,35,98} and reward and aversion^{27,30,32,39,75,96,97,154,165}. The results of this effort has led to a number of proposals regarding the activation of opioid fibers in self-stimulation. For example, one idea is that BSR requires the indirect activation of dopamine which is accomplished via stimulation of opioid fibers^{18,67,74,101,147,168,206}, while others view the activation of one or the other systems and their interaction as site dependent.

One problem in trying to arrive at a coherent theory is that the effect of opioid antagonists on BSR is not consistent^{39,75,103,168,195}, with some investigators reporting no influence of opioid receptor blockers on responding and/or thresholds for BSR^{66,67,75,101,151,196} while others observe significant suppression using one or the other measure^{166,167,168,169,183,184,196}. The diversity of methodologies and specificity of compounds employed across studies probably contributes to these differences.

In the present study, we decided to centre our attention on two hypotheses that relate endorphinic systems to BSR. On one side is the “reward reduction hypothesis”^{7,103,121} which is based on the idea that reward is mediated in part by the release of endogenous endorphins which then would be antagonized by a naloxone challenge. However, the finding that the same stimulation parameters also give rise to a naloxone-reversible analgesia¹⁰³, which masks any aversive properties of the stimulation^{29,30,103,154} suggests an alternative interpretation.

Accordingly, the “increased aversion hypotheses” was proposed which interprets the naloxone-induced reduction in self-stimulation not as a direct antagonist of endorphin-mediated reward, but instead is interpreted as an indirect blockade of a concurrent endorphin-mediated analgesia. The net effect resulting from the unmasking of aversive effects is a reduction in reward¹⁰³.

More recent studies reinforce this idea, which was first proposed by Kelsey & al.,¹⁰³ and Belluzzi & Stein⁷ that independent endorphinic systems mediate the phenomenon of BSR and BSR-induced analgesia^{32,75,111,213}. For example, LaGasse et al¹¹¹ evaluated the effect of morphine and diprenorphine on lateral hypothalamic self-stimulation. Diprenorphine antagonises morphine-induced analgesia and causes behavioural suppression¹¹¹. They showed that morphine administered in high doses reduced responding while small doses of diprenorphine facilitated it. The combination of both drugs produced marked increments in lever-pressing. Their results suggested that morphine's capacity to decrease responding for BSR is unrelated to its analgesic properties, and endorse the view that reward involves a different opioid receptor mechanism. Recently, Wilson et al²¹³ demonstrated a dissociation of the analgesic and rewarding effects via the endogenous opiate, endomorphin-1, in rats. Whereas both effects were observed following morphine administration, endomorphine-1 induced significant analgesic effects using the tail-

flick test, in the absence of rewarding properties as measured by the conditioned place preference paradigm.

We decided to further investigate this idea of reduced reward versus increased aversion as explanations for endorphin mediation of BSR. In earlier studies, we demonstrated the effects of pairing rewarding brain sites with aversive ones and showed that the aversive consequences were consistently eliminated, and relatively quickly, by this procedure, interpreted by us as evidence for an underlying analgesic mechanism associated with reward^{3,59,60}. In this study, we decided to examine more closely this phenomenon in the VTA and its influence on the aversion generated by Gi stimulation. Because of the involvement of opioid receptors in medial forebrain bundle BSR^{88,98,175,205}, we choose to, as an initial screen, to evaluate the opioid antagonist, naloxone, on the interaction between stimulation-induced reward and aversion. Effects were indexed by changes in thresholds based on the frequency of rewarding trains of combined VTA-Gi stimulation and the influence of this procedure on the latency to escape Gi stimulation, before and after naloxone challenge.

Materials and methods

Subjects and surgery

Male Sprague-Dawley rats (Charles River Ltd., Canada) weighing approximately 300 g were anesthetized with sodium pentobarbital (Somnitol, 65 mg/kg) and stereotaxically implanted with two monopolar moveable electrodes (Kinetrode, Inc.). With the skull held in a horizontal plane, the electrodes were unilaterally aimed for the VTA and the Gi, using coordinates based on the Paxinos and Watson¹⁴⁹ atlas; these were 5.3 mm posterior to bregma, 0.7 mm lateral to

the midline, and 8.1 mm below the cranial surface for the VTA and 11.6 mm, 0.7 mm and 9.1 mm for the Gi. The subjects were housed individually and kept on a 12-h light/dark cycle with light onset at 7:00 h. Food was restricted to six Purina Rat Chow pellets/day (roughly 30 g); water was available ad libitum.

Screening and stabilization

After at least one week of recovery following surgery, the rats were screened for VTA self-stimulation using conventional shaping procedures. The tests were conducted in a Plexiglas chamber having dimensions of 29.5 (height) x 28.5 (width) x 31.5 (depth) cm, with a lever mounted on the right wall 2 cm above the floor. Each bar press triggered a 300 ms train of cathodal rectangular pulses of fixed 0.1 ms duration that were delivered via a constant current amplifier [41] and pulse generator, built in-house. A lock-out interval of 0.4 s was imposed between trains in order to prevent the delivery of continuous trains. The rat was retained if stable responses were elicited at a low current (about 250 μ A) for at least 30 min. If this criterion was not met, the electrode was lowered by 0.2 mm (under halothane anaesthesia) and testing was resumed. Once consistent bar-pressing was observed, the electrode and current remained fixed for all subsequent tests.

Self-stimulation tests

In the first phase of the study, rate-frequency functions were collected for each rat, in order to locate the threshold value. This function was obtained by varying the frequency per 60 s trial from a value that produced little or no responding to one that elicited maximum rates

(ascending order), or the reverse (descending order); each trial was separated by 30 s. A threshold value was interpolated from each rate-frequency function and corresponded to the frequency needed to maintain 50% of the maximum response rate. Both sequences were repeated until the frequency threshold did not shift for 3 consecutive days by more than 0.05 \log_{10} units.

Stimulation escape tests

In the second phase, the subjects were assessed for escape from Gi stimulation by plotting the function relating latency to escape from Gi stimulation against current. To do so, the subject was placed in one compartment of a two-compartment operant chamber and then administered a train of Gi pulses set at a current of 100 μA and a frequency equivalent to the value corresponding to maximum responding in the VTA self-stimulation test for that animal. The pulses were delivered until the animal moved compartments or 20 s had elapsed, whichever came first. The current was increased by 100 μA each trial until the latency to escape was lower than 5 s. There was a 60 s pause between trials. From the latency-current function the threshold current for escape was determined, which corresponded to a value associated with a latency of 5 s. The threshold was considered stable when it did not vary by more than 0.1 μA .

Double-pulse tests

After stabilization of the self-stimulation and stimulation-escape thresholds, the double-pulse tests commenced. These consisted of delivering trains of pairs of VTA and Gi pulses, separated from each other by 2 ms. The VTA current was set at the same value as that used to

determine the rate-frequency function at that site while the Gi current was set at the value that yielded an escape threshold of 5 s. The threshold for double-pulses was determined every few days and this test was always followed by one in which the latency to escape Gi stimulation was assessed. Once the VTA-Gi threshold for rewarding stimulation was approximately equal to the threshold value associated with VTA pulses alone, the final phase of the experiment began.

Naloxone tests

Three doses of naloxone (0 mg/kg, 10 mg/kg and 20 mg/kg) were used to evaluate the effect of the opiate antagonist on the double-pulse threshold and the threshold for latency to escape Gi stimulation. The drug was dissolved in 0.9% saline and administered subcutaneously in a volume of 1.0 ml/kg body weight. Fifteen min after injection, the rats were placed in the operant chamber. First, the threshold for double pulses was assessed followed by the one corresponding to the latency to escape Gi stimulation (Gi pulses alone). Those tests was repeated until each dose was given three times in a random sequence.

Histology

After completion of all tests, rats were euthanised with a lethal dose of sodium pentobarbital (somnotol, i.p.) and the stimulation sites were marked with an anodal current. The rats were then perfused intracardially with a solution of 0.9% saline followed by 10% formalin that contained 3g of potassium ferrocyanide, 3g of potassium ferricyanide, and 0.5g of trichloroacetic acid. The brains were stored in a solution of 10% formalin until sectioned (at a thickness of 30 μ m) and stained with thionin in order to locate the electrode tips.

RESULTS

The location of the VTA and Gi electrode tips, based on the Paxinos and Watson¹⁴⁹ atlas, is shown in Figure 1. All anterior placements were confirmed to be in the target area. The posterior placements were distributed in the Gi or the neighboring dorsal reticularis paragigantocellularis.

The range of current values across animals at each site was quite narrow, 300-500 μ A, for both the VTA and the Gi. The baseline frequency thresholds associated with the VTA differed from 17 to 33 Hz across the sample. Finally, maximum rates for individual subjects varied from roughly 85 to 100 responses per minute.

Figure 2 shows the latency to escape Gi stimulation as a function of current in a representative animal - #400. The results from three consecutive sessions are plotted - before (pre) and after (post) combined VTA-Gi stimulation; roughly three days separated the individual sessions. In the first graph (top left), the data represent latencies to escape before any experience with combined stimulation and the second graph (top right), immediately after the threshold for rewarding concurrent VTA-Gi stimulation was determined. This sequence was repeated twice more until escape behavior was no longer present. While the latency was initially brief at all but the smallest current, it gradually rose following repeated exposure to combined VTA-Gi pulses until by the third test, escape was no longer evident at any current, according to our criterion, that is, no attempt to escape within 20 seconds. This pattern was observed in all animals after one to five combined stimulation trials. In two animals, (1245 & 1246), failure to escape any value of Gi current was observed after a single trial of rewarding VTA-Gi stimulation.

The effect of adding Gi pulses to trains of rewarding VTA stimulation was to initially increase the frequency threshold relative to that obtained without Gi pulses. With repeated combined tests, the threshold gradually returned to its baseline level and coincided with the disappearance of escape for Gi stimulation. The pattern observed was identical to that reported earlier using the same sites and methodology³.

The effects of different doses of naloxone on the thresholds for combined VTA-Gi stimulation are shown in Figure 3. Recall that these data were collected after escape for Gi stimulation had ceased and the VTA-Gi combined curves had returned to the VTA baseline level. The change in threshold in individual animals (graphs A to E) as well as the group profile (graph F) are depicted. The highest dose tested, 20 mg/kg, increased double pulse frequency thresholds by roughly 0.15 \log_{10} units or 40%. This effect was in the same direction but lower (about 24%) generally at the 10 mg/kg dose. A repeated analysis of variance with Greenhouse-Geisser correction for violations of sphericity⁹⁴ confirmed this difference ($F_{2,22}=26.83$, $p<0.1 \times 10^{-5}$) and post-hoc tests consisting of planned comparisons revealed significant differences between all pairs of doses (0 vs 10mg/kg - $F_{1,14}=28.22$, $p=.0001$; 0 vs 20 mg/kg - $F_{1,14}=66.13$, $p=.1 \times 10^{-5}$; 10 vs 20 mg/kg - $F_{1,14}=5.35$, $p=.036$). Because double pulse frequency thresholds were collected at the beginning of each session, before drug injection, these data were also evaluated to determine the stability of this measure over time. In addition, we wished to verify that pre-injection thresholds were similar across dose. The thresholds from individual animals were analyzed using a 1- way ANOVA design with dose as the repeated factor. No significant difference was found with p values ranging from 0.33 to 0.98 across animals.

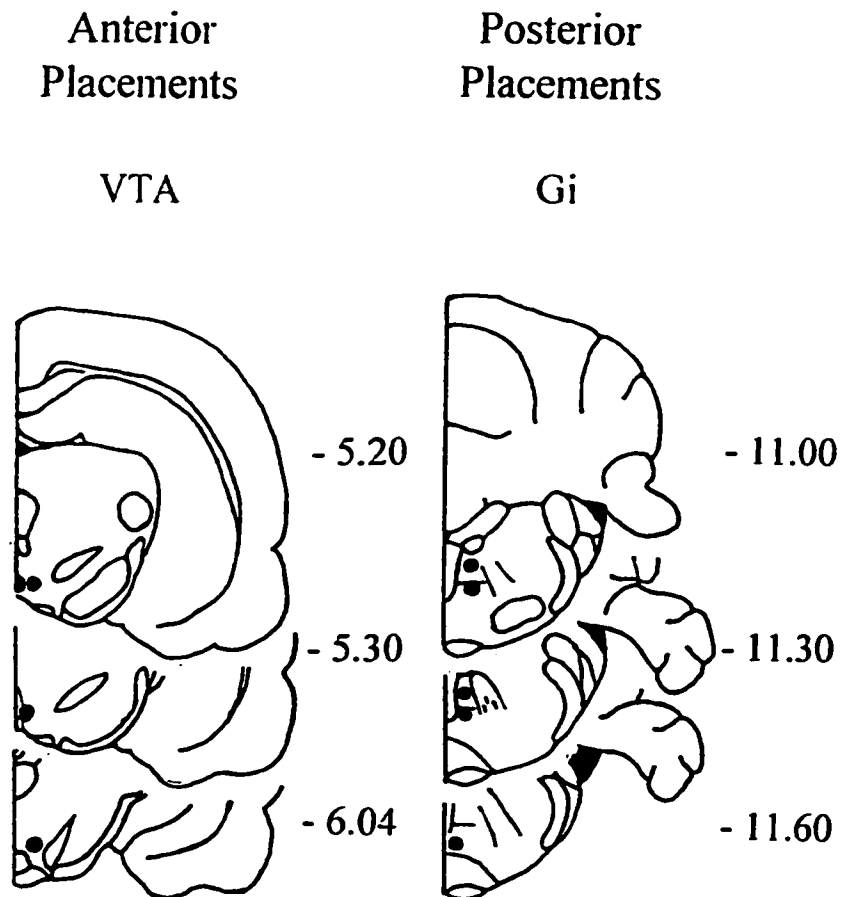


Fig. 1. Tracings from the Paxinos and Watson¹⁴⁹ atlas that best correspond to the location of the electrode tips, represented as filled circles. The anterior (VTA) placements are shown on the left and posterior (Gi) on the right. The value listed to the right of each drawing indicates the millimetric distance behind Bregma. Due to histological error, one of the five VTA placements could not be verified.

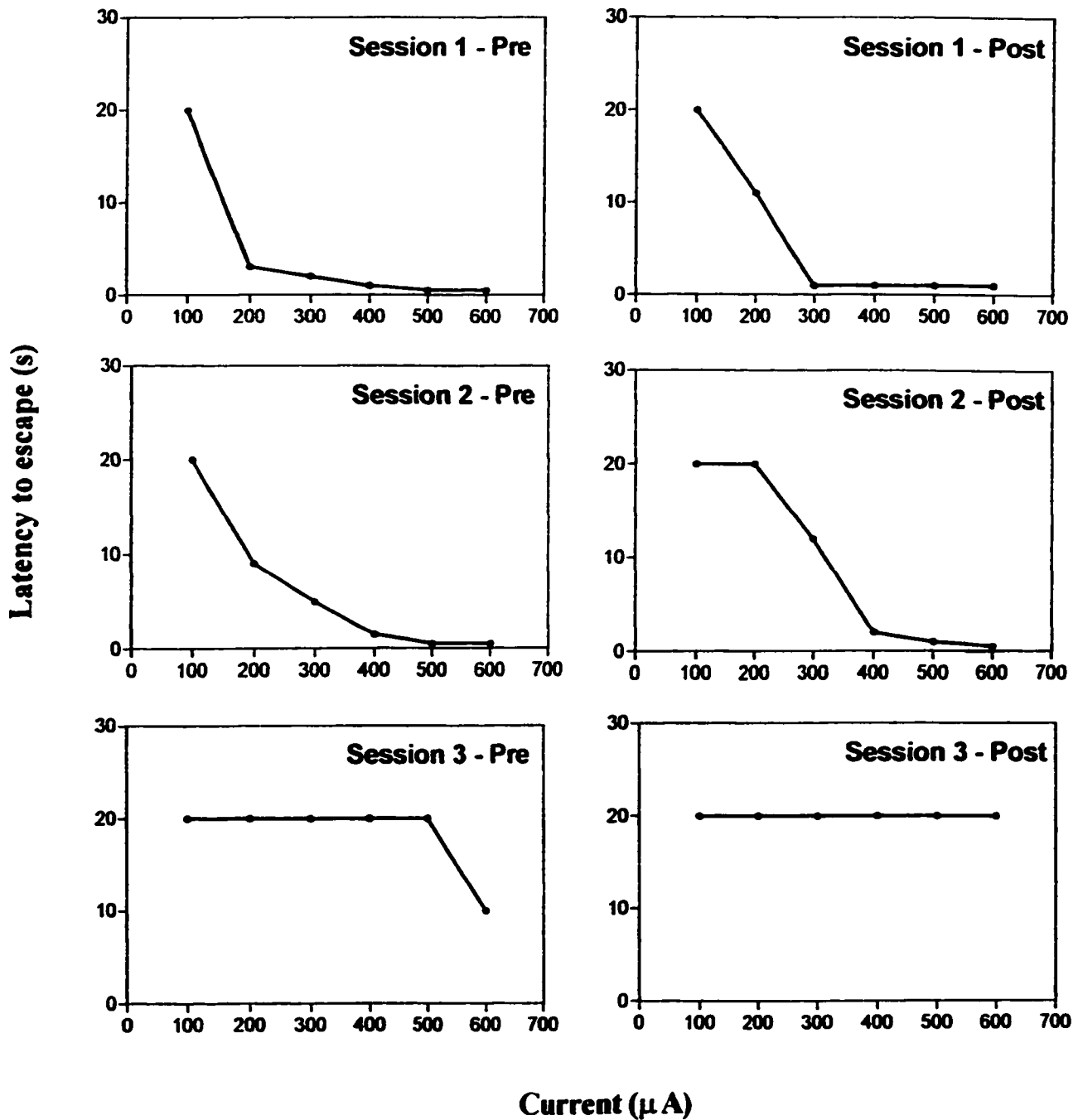


Fig. 2. Latency to escape Gi stimulation evaluated at different currents in one animal (rat 400) before and after the threshold for self-stimulation was determined using trains of concurrent VTA-Gi pulses. The pre and post results of three sessions are shown after which escape was no longer evident.

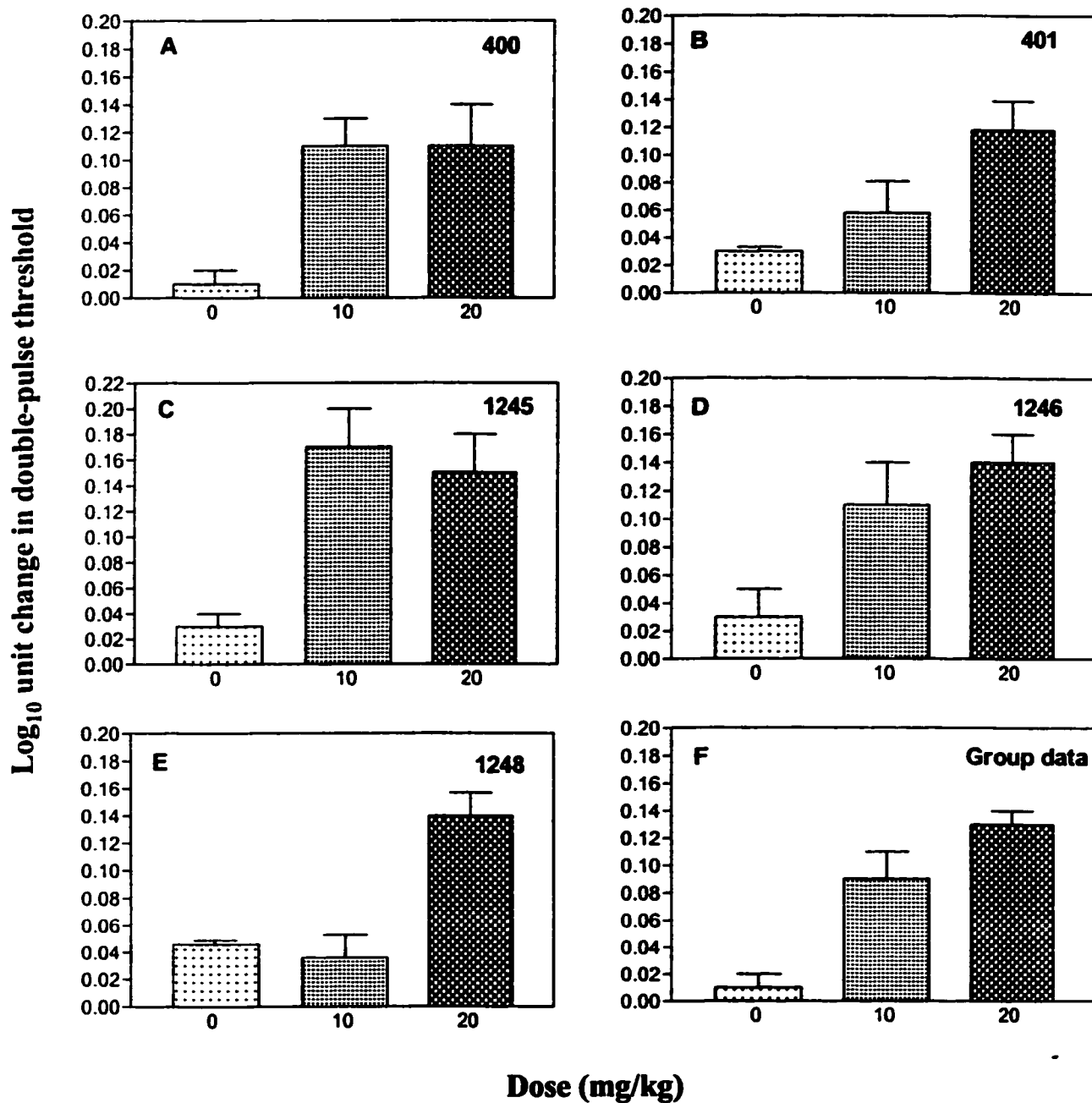


Fig. 3. Plots of mean frequency threshold changes (\pm standard error of the mean) in individual animals (graphs A to E) following each of the three doses of naloxone. Data are expressed in \log_{10} units. Subjects are identified on the top right of each graph. The results have been collapsed to show overall group pattern in graph F located at the bottom right of the figure.

DISCUSSION

The results of this study demonstrate that naloxone shifts BSR rate-frequency curves to the right, without reinstating the latency to escape Gi stimulation, suggesting that it is only the reward component of combined VTA-Gi pulses that is influenced by this antagonist; the stimulation-induced analgesic properties of the VTA remain unchanged. Because of the rapid cessation of Gi aversion induced by the pairing of the VTA and Gi, we could only assess naloxone's effects on the re-establishment of aversion. The drug tests were conducted when the thresholds for paired VTA-Gi were stable. After each rate-frequency curve based on concurrent VTA-Gi stimulation was collected, the latency to escape Gi stimulation was evaluated. Usually three VTA-Gi pairings were sufficient to eliminate the escape response, according to our criterion. During this pre-drug phase, VTA-Gi thresholds were initially increased relative to the threshold for VTA stimulation alone and only matched the initial VTA values once aversion had ceased. In other words, the addition of Gi pulses caused a decrease in reward which abated when the aversive properties of Gi stimulation were no longer present. This is the point at which drug tests began.

We previously reported that failure to escape Gi stimulation induced by VTA-Gi pairings is not a transient phenomenon, and that once established, shows no evidence of reoccurrence^{3,59,60}, even months later and without further pairings, a fact that was not altered by a challenge of naloxone in this study. Lengthening the criterion latency to observe escape to more than 20 sec was not productive - indeed only appetitive like behaviors were displayed and no signs of the aversion seen earlier, before the introduction of VTA pulses to the stimulation train.

Kelsey, Belluzi and Stein¹⁰³ have proposed two mechanisms to account for naloxone's effects on reward, referring to these as "increased aversion" and "reward reduction" hypotheses. Both would predict the same results - an overall decrease in reward - the first due to an inhibition of endorphin mediated analgesia, giving rise to increased aversion and the second, a direct antagonism of endorphin mediated reward. If we examine our data, the outcome of naloxone on the two tests - the rate-frequency function for self-stimulation and the latency to escape Gi stimulation - is quite distinct, with a significant reduction in reward in the first case and no alteration in aversion in the second. This pattern was consistent, observed after each naloxone injection.

The anti-nociceptive properties associated with sites that support BSR are well-documented^{3,18,27,29,30,39,59,60,74,121}. Along with others (Carr's group), we have demonstrated the influence of the VTA³, LH⁵⁹, and DR⁶⁰ on Gi stimulation-induced aversion. In the case of the latter, simply brief exposure to the rewarding stimulation without pairings was sufficient to completely suppress Gi aversion. The other sites had to be paired with the Gi in order to eliminate the latter's aversive properties, with some variation in the rapidity of the effect. We interpreted these temporal differences to be related to the anatomical association of the Gi with the rewarding sites with which it was tested^{6,148}. However, why these interactions appear to permanently suppress aversion and even induce mild reward is more difficult to understand. Others who have studied the interaction between LH and Gi pulses such as Carr and Coons^{29,30} report a similar diminution, albeit temporary, of Gi nociception. However, our procedure employs chronic pairing of the Gi with a rewarding site^{59,60} which may be why we observe an apparent permanent suppression of the escape response.

Miserendino & Coons¹³¹ conducted several studies to assess the effects of rewarding medial prefrontal cortex (MPFC) stimulation on Gi induced aversion, using combinations of stimulation presentations (eg. continuous vs interruptable MPFC on inescapable and continuous Gi stimulation) in order to do a comparative analysis of the effects of MPFC and lateral hypothalamic stimulation on Gi induced aversion. Generally, they found that escape from Gi aversion was significantly increased in the presence of MPFC stimulation and that acquisition of MPFC self-stimulation was delayed when pulses were available concurrently with inescapable Gi stimulation. These findings are in contrast to the profile typically observed by ourselves and others when Gi stimulation is paired with other rewarding sites, that is, an apparent decrease or disappearance of aversion.

There have been many studies evaluating the role of opioids and opiate antagonists on BSR¹⁶⁸ and notwithstanding methodological differences, naloxone generally reduces the reward enhancing effects of opiate agonists and on its own, usually increases self-stimulation thresholds, following both systemic and central delivery^{88,98,169,175,195,196,205,206}. Structures rich in opioid peptides such as the VTA, dorsal gray, and nucleus accumbens have tended to be the focus of these studies. However, the effects of these compounds on aversive sites have not been as actively pursued^{27,43,136,162}, particularly on so-called 'pure' nociceptive regions, such as the Gi, which to our knowledge, does not support BSR¹⁵⁶. Naloxone has been shown to reverse morphine's analgesic action on aversive central gray and medial hypothalamic stimulation⁹⁶ and to lower escape thresholds in control rats¹⁶⁵. More recently, another group³⁹ examined naloxone's effects on both approach and escape responses elicited from two sites - the lateral hypothalamus and the central gray. The drug delayed the escape but not the approach latency in

the case of the lateral hypothalamic site in a dose related manner while the opposite pattern was observed for central gray stimulation - delayed approach only. Thus, the consequence of a naloxone challenge appears to be structure specific.

A phenomenon called "dissociative analgesia" has been implicated in structures where high concentrations of mesocortical-dopaminergic fibers are found, such as the VTA^{74,142,206}, whose fibers interact with opiates. It is referred to as dissociative because of its affective/emotional component in the perception of the pain. For example, patients treated with opiate drugs will claim to feel pain but not be bothered by it⁹⁵, suggesting a cognitive/sensory dissociation. Whether this explains the failure in our study for naloxone to reinstate the latency to escape Gi stimulation needs to be evaluated. There is compelling data to support the notion that VTA induced analgesia is mediated by dopamine transmission⁷⁴. The VTA is closely related anatomically and functionally to the MPFC which in turn responds to noxious stimuli^{76,118,142,179,199}, as measured by either an increased (65%) or decreased (25%) neuronal discharge rate in response to tail-pinch, for example¹¹⁸.

Given our earlier studies on the interaction between stimulation-induced reward and aversive^{3,59,60}, we decided to administer a non-selective opiate antagonist in order to provide a general picture of the phenomenon. The next step would be to examine antagonists specific to opioid receptors subtypes. Jenck and his colleagues⁹⁸ found that mu and delta but not kappa receptors appear to be linked to the rewarding effects arising from the VTA. It would be interesting to investigate the interaction between a specific opioid receptor that is recognized to be linked with dopaminergic neurons.

Turning our attention to the Gi, this structure comprises a variety of fibers implicated in the pain process. According to Holden and Proudfit⁹¹, relatively few are enkephalinergic, and have no connectivity to the catecholamine fibers (A7) located in the ventrolateral parts of the pontine reticular formation¹⁴⁸. Agents such as γ -aminobutyric acid and D-L homocysteic acid delivered to the pars alpha region of the Gi produces behavioural responses to noxious stimulation⁵. Using a model of chronic neuropathic pain, Monheminus et al.,¹³² have demonstrated that specific cannabinoid receptors modulates Gi analgesia. While these studies suggest that pain processing in the Gi is accomplished via several neurochemical systems, there is little evidence to date that opioid neurons play a significant role in this region in regulating nociceptive information¹³³, a further explanation for naloxone's failure to reinstate escape behaviour in this study.

Interestingly, Gi nociceptive mechanisms have been explored in interaction with other systems. For example, neurons that modulate both nociception and cardiovascular function have been recorded in the Gi¹⁹⁷. On that basis, Chan and colleagues^{40,197,220} studied the activity of selected Gi fibers that responded to both nociceptive stimuli and arterial pressure and found that an augmentation in pressure reduced the response to a noxious stimulus, arguing for the existence of a central regulatory role for the Gi as a somatic-autonomic integrator.

In summary, activation of the rewarding properties of the VTA permanently suppressed Gi aversion while activation of the aversive properties of Gi suppressed VTA reward only until Gi aversion ceased, at which point VTA reward was reinstated. Naloxone challenge diminished the rewarding thresholds but did not reactivate Gi aversion, suggesting a dissociation of reward and analgesic systems. Knowing if this is a property of the directly stimulated (first stage)

elements would help characterize and trace the neural elements involved in each behaviour, as used by others³² to describe the excitability features underlying lateral hypothalamic induced reward and analgesia.

Discussion générale

Le principal objectif que visait cette thèse était d'évaluer les propriétés antinociceptives de certaines régions renforçantes du cerveau lorsqu'elles sont mises en interaction avec des sites aversifs. Pour atteindre ce but, les quatre expériences menées ont été analysées au regard des trois critères suivants : 1) l'anatomie de l'interaction entre les stimuli intracérébraux renforçants et les stimuli intracérébraux aversifs, 2) les caractéristiques de cette interaction et, finalement, 3) la pharmacologie de l'interaction observée. Pour étudier l'anatomie de l'interaction des deux types de stimuli cérébraux, l'HL, région renforçante, a été mis en relation avec le NGR, site aversif, puis le RD a été successivement associé à deux sites aversifs différents : le NGR et le Dtg. En ce qui trait à l'étude des caractéristiques de l'interaction existant entre les signaux plaisants et nociceptifs, deux variables ont été sondées : 1) l'ordre de présentation des pulsions administrées à l'HL et au NGR; 2) la dimension temporelle séparant les deux types de pulsion. Finalement, pour obtenir un portrait pharmacologique général de l'interaction observée au cours des recherches effectuées, un antagoniste des récepteurs opiacés (naloxone) a été examiné lors d'une étude de pulsions pairées de l'ATV et du NGR.

Deux problèmes de recherche avaient été posés pour percer certaines dimensions de l'anatomie de l'interaction entre les types de renforcement. Le premier s'est attardé à la généralisation à d'autres structures intracérébrales renforçantes de l'effet anti-aversif de l'ATV en interaction avec le NGR, alors que le deuxième a permis d'explorer si on pouvait généraliser à d'autres régions aversives l'effet antinociceptif des sites renforçants. Ces deux problèmes ont conduit à l'élaboration de trois expériences dont l'une évaluait la stimulation électrique

renforçante de l'HL mis en interaction avec le NGR; une autre examinait l'influence du RD sur l'aversion du NGR; et la dernière explorait la possibilité de réplication de l'effet antinociceptif du DR sur une autre structure aversive, le DTg. Tout comme l'ATV l'avait fait³, l'HL et le RD, les deux structures renforçantes ayant été reliées au NGR, ont révélé des propriétés antinociceptives. L'étude menée par le laboratoire de Miliareisis³ avait d'ailleurs démontré qu'il suffisait de deux à cinq courbes de fonction taux-fréquences de pulsions combinées (ATV + NGR) pour que l'aversion disparaisse complètement du NGR. Toutes ces données nous ont permis d'inférer que le RD est la structure cérébrale qui procède le plus rapidement à l'instauration du phénomène antinociceptif. Par rapport à la rapidité d'apparition du phénomène anti-aversif, l'HL suit le RD alors que l'ATV produit moins rapidement l'antinociception. Une fois l'effet anti-aversif installé cependant, on ne décèle entre les régions d'autostimulation aucune différence d'intensité ou de durée de l'effet. Pour tenter d'établir d'autres distinctions entre les propriétés antinociceptives, il serait sans doute intéressant d'élargir le répertoire des structures renforçantes (par exemple : locus coeruleus, le noyau parabrachial et la substance noire, septum, l'amygdale etc.) étudiées en interaction avec le NGR.

Les particularités intrinsèques du DTg, l'autre site aversif examiné, nous ont empêchées de généraliser le phénomène antinociceptif à d'autres structures régissant l'aversion car, dès le début des tests comportementaux, la seule stimulation du DTg réussissait à la faire disparaître. L'investigation d'une structure cérébrale dont l'aversion, comme celle du NGR, serait de type physiologique^{36,40,150,197,208,220} plutôt qu'émotionnel^{48,140,141}, comme l'est celle du DTg, nous aurait peut-être permis de mieux répondre au problème de recherche posé. Il faut cependant dire que découvrir que la spécificité aversive d'un site cérébral régissant la nociception influe sur le

résultat de l'interaction entre les deux types de renforcement est une découverte importante en soi. Les expériences examinant d'autres sites cérébraux aversifs en interaction avec le renforcement intracérébral seraient donc à poursuivre. L'exploration de cette piste pourrait, par exemple, permettre de déterminer si l'irréversibilité de l'effet antinociceptif observé dans le NGR est particulière à cette région.

Un volet de cette thèse, celui qui traite des caractéristiques de l'interaction existant entre les stimuli électriques intracérébraux renforçants et aversifs, a examiné les effets des intervalles séparant l'administration des deux types de pulsion ainsi que ceux provenant de l'ordre de présentation des pulsions administrées. Pour établir si ces paramètres affectaient la nociception, on a mesuré l'efficacité des pulsions paires à l'aide de tests de double pulsion et, même si différents niveaux de sommation d'efficacité de la stimulation ont été remarqués entre les rats, aucune différence significative n'a été notée dans l'ordre de présentation des pulsions, pas plus que dans les intervalles C-T testés. Il semble donc que les deux variables examinées n'influencent pas la valeur de sommation de la stimulation à double pulsion et ne jouent pas de rôle dans l'antinociception. Il est important de souligner aussi que les tests de double pulsion ont été exécutés après que l'aversion du NGR ait été complètement disparue et que cette dernière n'est jamais revenue; ainsi, les résultats de cette expérience ne peuvent être dus qu'au fait que la nociception dont il est ici question est irrévocable. Il serait cependant difficile, voire impossible, de mesurer la dimension temporelle avant que l'aversion du NGR ne soit disparue car dès le début des stimulations de pulsions paires, le processus anti-aversif du NGR s'enclenche et produit de l'instabilité au niveau des seuils tant que subsiste la nociception.

À cause de cette spécificité du phénomène antinociceptif, déterminer si les variations obtenues sont la conséquence de la manipulation de la dimension temporelle ou de celle du renforcement est une tâche fort complexe mais, grâce à certaines analyses, il serait possible de mieux connaître les caractéristiques inhérentes à l'interaction des deux types de renforcement. Ainsi, pour ne donner qu'un exemple, on pourrait évaluer s'il y a sommation algébrique entre les signaux renforçants et aversifs en quantifiant la grandeur du signal renforçant, additionnée aux pulsions du NGR. Certaines expériences menées par les laboratoires de Fouriez et Shizgal^{44,45,209} ont d'ailleurs démontré qu'une intégration entre deux signaux est possible; dans les recherches de Conover et Shizgal, les signaux examinés étaient liés au renforcement de type gustatif et d'autostimulation de l'HL. Comme dans les études menées dans ces deux laboratoires les stimuli s'additionnant appartenaient à un même type de renforcement (positif), il serait intéressant de vérifier si ce phénomène de sommation pourrait être obtenu avec des renforcements opposés.

La durée de l'aversion est le second aspect de l'interaction étudiée et les expériences menées ont permis de confirmer que le renforcement intracérébral joue un rôle prépondérant dans la disparition de l'aversion du NGR. La latence d'échappement du NGR et la courbe de fonction taux-fréquences, les deux instruments de mesure utilisés, ont démontré que la stimulation électrique renforçante est nécessaire à la suppression de l'aversion. Le fait d'avoir stabilisé l'aversion du NGR (procédure de la latence d'échappement) avant d'entreprendre la manipulation de la structure renforçante (DR) nous a amenées à valider que le renforcement est bel et bien responsable de l'effet anti-aversif. En effet, une fois le traitement d'autostimulation commencé, l'action antinociceptive s'amorce; on reconnaît la présence du phénomène

antinociceptif par des comportements d'exploration, d'approche ou d'appuis au levier, alors que l'aversion du NGR se manifeste préalablement par la défécation, la perte d'urine, le retrait, les sauts et les cris. Il semble donc que sous l'influence de l'autostimulation, la nociception se transforme en un renforcement de faible intensité.

La diminution progressive de l'aversion du NGR s'observe également au moyen de la fonction taux-fréquences où, après un déplacement initial de la courbe vers la droite (démonstrant l'ajout au renforcement de la composante aversive), un retour graduel vers la gauche s'opère jusqu'au point de rejoindre la courbe contrôle (renforcement seul). Fait à souligner, cette absence de l'aversion persiste sans aucune autre exposition au renforcement. Si ce constat a été possible c'est que, dans l'étude évaluant les pulsions de l'HL pairées à celles du NGR, il s'est écoulé plus d'un mois entre l'arrêt des tests combinés et l'observation du maintien de la manifestation anti-aversive. Cette permanence de l'analgésie observée ne semble toutefois pas concorder avec les données de plusieurs autres recherches^{29,30,49,68,69,72,93,113,117,121,122,146} où l'on a plutôt remarqué que l'antinociception qui suit l'exposition à une stimulation électrique renforçante est temporaire. La plupart de ces recherches^{49,68,69,72,93,113,117,121,122,146} ont cependant employé des stimuli externes (*tail flick; hot plate, formalin test, etc..*) pour évaluer l'aversion, alors qu'à l'intérieur de nos propres expérimentations, c'est un site intracérébral aversif qui a été utilisé. Quant à Carr et Coons^{29,30} qui ont, eux aussi, affirmé que l'analgésie provenant du renforcement de l'HL est transitoire, ils avaient, comme nous, examiné le NGR en interaction avec le comportement d'autostimulation, mais ils n'avaient pas, comme nous l'avons fait, effectué un pairage chronique des deux types de renforcement. Il est sans doute important de préciser ici que le terme chronique s'applique à deux aspects méthodologiques de nos études :

1) à la répétition du pairage des pulsions renforçantes et aversives, lequel a été poursuivi tout au long de la procédure de courbes taux-fréquences (séries ascendantes et séries descendantes) et, 2), à la longueur de la période de la prise des mesures qui, pour un même animal, pouvait durer entre 30 et 100 jours. Voilà qui ajoute aux différences méthodologiques existant entre nos propres expériences et celles des chercheurs susmentionnés.

Un autre constat établissant le rôle du renforcement dans l'apparition de l'antinociception vient du fait que la stimulation seule du NGR n'est pas suffisante pour modifier son degré d'aversion³. En effet, Anderson et ses collaborateurs³ ont, pendant deux mois, mesuré exclusivement la latence d'échappement du NGR et n'ont observé aucune augmentation des seuils. Puisque l'aversion du NGR persiste sans qu'aucune structure intracérébrale renforçante ne soit stimulée, il semble qu'aucun effet d'habituation ne soit impliqué dans le processus de disparition du comportement aversif.

Après que l'effet antinociceptif produit par l'activation neuronale d'un site d'autostimulation ait été confirmé, nous avons voulu vérifier si la manifestation antinociceptive produite par le renforcement était la conséquence de l'implication de neurones endorphiniques. Pour ce faire, nous avons utilisé un antagoniste endorphinique (naloxone) pour évaluer si un blocage des récepteurs opiacés pouvait renverser (inhiber) l'effet anti-aversif chronique produit par l'autostimulation combinée; ce cheminement nous a donc amenés à traiter de la pharmacologie de l'interaction des stimuli cérébraux renforçants et aversifs. Les données recueillies lors de notre quatrième expérience ont démontré que le naloxone déplace vers la droite les courbes combinées (ATV + NGR) de la fonction taux-fréquences sans affecter la latence d'échappement du NGR. Ainsi, seulement la composante renforçante des pulsions

pairées semble être influencée par l'antagoniste des récepteurs opiacés. Cette observation laisse supposer une dissociation entre le système endorphinique impliqué dans le renforcement intracérébral et celui qui est responsable de l'analgésie; une telle analyse rejoint celle des chercheurs pour qui les éléments neuronaux modulant le comportement d'autostimulation et la stimulation provoquant l'analgésie ne seraient pas identiques mais pourraient s'influencer^{7,32,74,103,121}. D'autres études menées par Carr et des collaborateurs^{28,30,31,32} au cours desquelles les propriétés analgésiques de l'HL ont spécifiquement été évaluées abondent dans le même sens. Ces chercheurs affirment que les mécanismes produisant l'analgésie de l'HL sont dissociés de ceux qui sont liés au renforcement et à l'alimentation. Toutefois, un chevauchement entre les éléments neuronaux régissant les deux types de mécanisme existerait même s'il demeure encore obscur. Une étude de Lopez et Cox¹¹⁴ est cependant arrivée à une interprétation contraire; leurs résultats supportent en effet l'idée que l'analgésie produite par l'HL est un effet primaire de la stimulation électrique.

Il est difficile d'arriver à un consensus théorique sur le rôle des opiacés à l'intérieur du phénomène de la stimulation intracérébrale renforçante car les effets produits par les antagonistes d'opiacés sur le comportement d'autostimulation manquent de concordance^{39,75,103,168,195}. Ainsi, la conclusion de la dernière expérience doit être appréciée en tenant compte des quelques éléments qui suivent. Premièrement, on doit se souvenir qu'à cause de l'instabilité des seuils provoquée par l'enclenchement du phénomène anti-aversif, les tests avec le naloxone ne débutaient qu'après la suppression complète de l'aversion et que l'irréversibilité de l'effet anti-aversif pourrait expliquer que le naloxone n'a pas eu d'influence sur la latence d'échappement. Deuxièmement, il est important de considérer que certaines

caractéristiques des structures examinées dans l'étude auraient pu empêcher le naloxone de réinstaurer la nociception. Ainsi, parce que l'ATV compte un grand nombre de fibres dopaminergiques interagissant avec les opiacés, ce qui semble être associé à une analgésie de type dissociatif, il se pourrait que l'aversion soit encore présente chez un sujet sans qu'elle ne le perturbe^{74.142.206}. En ce qui a trait au NGR, il ne contiendrait que peu de neurones opiacés^{91.133}, mais serait composé de plusieurs autres types de fibres impliquées dans le processus de la douleur^{5.132.180}.

La poursuite de l'analyse amorcée par notre quatrième expérimentation permettrait certainement d'ajouter d'autres éléments à l'état actuel des connaissances que nous avons sur le sujet. En effet, si nous avons choisi d'administrer un antagoniste d'opiacé non sélectif pour obtenir un portrait plus général du phénomène antinociceptif, il n'en serait pas moins approprié d'explorer le rôle d'antagonistes spécifiques à certains sous-types de récepteur d'opiacé. À ce chapitre, Jenck et ses collègues⁹⁸ ayant déjà noté que les récepteurs *mu* et *delta*, contrairement aux récepteurs *kappa*, seraient associés aux effets renforçants de l'ATV. Ainsi, l'étude de l'interaction entre des neurones dopaminergiques et un récepteur spécifique d'opiacé serait des plus pertinentes. Voici d'ailleurs d'autres sujets de recherche qu'il serait intéressant d'explorer :

- 1) pour les deux types de renforcement, définir plus précisément les neurones qui sont directement stimulés;
- 2) vérifier si ce sont bien les neurones directement stimulés des régions renforçantes qui sont responsables de l'effet antinociceptif ou si ce dernier n'est pas plutôt le résultat d'une action indirecte;
- 3) effectuer des lésions dans les sites d'autostimulation avant de procéder au pairing des pulsions renforçantes et aversives; en mesurer ensuite la portée sur la latence d'échappement;
- 4) établir un portrait d'excitabilité des neurones directement stimulés

dans l'aversion (par exemple, inférer leur période réfractaire).

On peut résumer par les quatre assertions suivantes ce qui se dégage des données recueillies à l'intérieur des études constituant cet ouvrage : 1) l'HL et le RD, deux régions responsables du comportement d'autostimulation, ont la capacité de modifier la nociception émanant du NGR; 2) les propriétés anti-aversives de l'HL et celles du RD n'ont pas la même rapidité d'apparition; 3) l'effet antinociceptif du NGR est irréversible, et, finalement, 4) le DTg semble posséder une action auto-analgésique.

Plusieurs données anatomiques ou neurochimiques vont dans le même sens que les quatre découvertes ci-dessus résumées et peuvent expliquer que la stimulation intracérébrale des structures renforçantes produise de l'aversion. On sait en effet que le RD est principalement composé d'une substance impliquée dans le processus analgésique, la sérotonine, et qu'il est inclus dans la région PAG, qui fait elle-même du partie du circuit neuronal analgésique descendant^{6.49.53.72.163.177}. On sait aussi que la région grise périaqueductale est principalement formée de bêta-endorphine et que cette substance est également impliquée dans le processus analgésique^{2.6.92.163.177}. Il est aussi reconnu que la structure périaqueductale a des connexions avec le NGR^{6.72.177}. Quant à l'hypothalamus, plus spécifiquement son noyau arcuate (formé des somas de neurones bêta-endorphin), il envoie une grande quantité de ses fibres dans la région du PAG¹⁷⁷ et l'une des plus grandes connexions anatomiques de cette structure est celle qui le relie à l'hypothalamus^{6.49.72.177}. Ainsi, ce dernier participe aux mécanismes descendants de la suppression de la douleur même s'il n'est pas une composante du funiculus dorsolatéral, circuit analgésique descendant^{72.177}. Il faut également préciser que le PAG projette certaines de ses fibres dans l'ATV^{6.148}. Toutes ces données viennent donc supporter l'hypothèse que les sites

d'autostimulation étudiés au cours des travaux ici présentés provoquent un effet antinociceptif dans le NGR et que chacun d'eux manifeste un phénomène analgésique à une vitesse qui lui est propre. En effet, parce que le RD fait partie du circuit analgésique descendant, il n'est pas étonnant qu'il soit le plus rapide à manifester ses propriétés anti-aversives alors que l'HL, à cause de son importante affiliation avec le PAG, arrive bon second au regard du même phénomène (devant l'ATV; étude menée par Anderson, Diotte et Miliareisis³).

Le mécanisme autonociceptif se produisant dans le DTg est lui aussi appuyé par des données d'ordre anatomique et neurochimique. En effet, ce site aversif est intégré dans la grande structure de l'aire grise périaqueductale faisant elle-même partie du système analgésique descendant (le funiculus dorsolatéral), principalement composé de fibres enképhalinergiques¹⁷⁷. Ainsi, il paraît pertinent de supposer que le DTg a la capacité d'autogérer ou de neutraliser lui-même l'aversion de type émotionnel intense qui le caractérise. L'irréversibilité qui est attribuée à l'antinociception du NGR est cependant plus difficile à cerner ou à expliquer. Il est peu probable que la permanence de l'analgésie du NGR soit déterminée par sa nature intrinsèque car celui-ci est surtout reconnu pour son implication dans le traitement de l'information douloureuse^{4,106}. La seule extrapolation théorique susceptible de clarifier quelque peu cette irréversibilité rejoint donc celle que proposaient Carr et Coons³⁰ en suggérant l'existence d'une interaction neurophysiologique entre le NGR et un substrat spécifique de l'hypothalamus. Leurs données, dont, entre autres, celles portant sur la fonction temporelle séparant les pulsions de l'HL et celles du NGR, semblent en effet signifier que les extrants du l'HL et du NGR convergent dans un intégrateur commun. L'aversion démontrée par le NGR au début des tests comportementaux de nos propres expériences s'étant transformée en un renforcement de faible

intensité après le pairage chronique des pulsions renforçantes et aversives m'amène aussi dire qu'il y a peut-être eu sommation des signaux cérébraux. Une addition des deux types de renforcement opposés s'effectuerait pour produire un effet unique dont la nature et la valeur seraient déterminées par le renforcement le plus fort (renforcement positif).

À un niveau d'abstraction plus élevé, les principales implications des résultats présentés ici concernent deux aspects précis de l'apprentissage, soit l'adaptation et la motivation. D'un point de vue adaptatif, il est raisonnable de spéculer qu'un organisme exposé fréquemment à un stimulus arrive à s'y accommoder. L'exemple auquel réfèrent Carr et Coons³⁰ pour illustrer l'effet inhibiteur du système impliqué dans la modulation du plaisir sur celui traitant l'information aversive provient des recherches de Pavlov. Ce dernier s'est servi de chocs électriques comme stimuli conditionnés annonçant la présentation de nourriture à des chiens. Au cours du conditionnement de ses sujets, les réponses aversives habituellement données lors des chocs ont été remplacées par des branlements de la queue et la salivation, deux comportements associés au plaisir chez ces animaux. Dans les années mille neuf cent soixante-dix, Deutsch et ses collaborateurs ont grandement contribué à populariser ce concept d'adaptation à des stimuli aversifs^{52,55,56,105}. Leurs recherches ont en effet pu établir qu'il est possible de s'adapter à la stimulation électrique de certaines régions aversives et que cette adaptation est influencée par deux paramètres de stimulation. Certaines données recueillies dans les expérimentations précédemment nommées ont montré que le processus d'adaptation était directement lié à la fréquence de pulsion utilisée et inversement associé à l'intensité de la stimulation. Il semble donc que l'adaptation est un phénomène qu'on peut généraliser autant à des éléments neuronaux qu'à des vertébrés.

Quant à la perspective motivationnelle, elle nous informe que l'aversion et le renforcement sont deux facettes d'une même force vitale (*drive*) qui pousse les vertébrés à agir. On peut donc supposer qu'en tant que composantes d'une même énergie, aversion et renforcement pourraient partager certains substrats ou mécanismes neurophysiologiques. Une étude de Merali¹²⁴ conclut qu'un organisme soumis à un événement stressant (aversif) et à un événement plaisant produit, dans les deux cas, des sécrétions biochimiques identiques. Leurs résultats viennent donc renforcer les recherches qui avaient démontré que certaines substances généralement associées à un type d'expérience (expérience stressante ou expérience plaisante) pouvaient aussi être impliquées dans un événement de nature opposée^{104.152}. Voilà donc d'autres raisons de supposer qu'un système central ou commun existerait pour le renforcement positif et le renforcement aversif.

Selon le schème de référence qui définit le plaisir comme étant l'absence de douleur et cette dernière comme l'absence de plaisir, on peut dire que le plaisir et la douleur constitueraient les deux extrêmes d'un même potentiel d'expériences sensorielles et psychologiques qui s'actualise ou s'incarne dans le circuit central¹⁷⁷. Dans cet optique, ce sont les systèmes sensoriels qui perçoivent les stimuli de plaisir ou de douleur, mais c'est le système nerveux central qui crée les expériences qui sont vécues. Ce raisonnement appuie plusieurs suppositions plus ou moins divergentes dont certaines présument l'existence de structures neuronales qui ne percevraient qu'un type d'expérience. Ainsi, un circuit neuronal ne régirait que le plaisir alors qu'un autre ne régirait que la douleur. Cette dernière hypothèse semble cependant peu probable car même si nous savons que le faisceau télencéphalique médian module majoritairement les expériences plaisantes, nous savons aussi que plus d'un système de projections et de

neurotransmetteurs traitent l'expérience douloureuse^{163,177}. Nous savons encore que l'utilisation de certains paramètres de stimulation peut produire des conséquences aversives dans L'HL et dans l'ATV, deux sites faisant partie du circuit responsable du renforcement¹¹. On sait, de plus, que l'aversion mesurée dans le NGR, site reconnu pour son implication dans le traitement de la douleur, peut se transformer en un renforcement de faible intensité. Des informations aussi différentes compliquent l'interprétation des recherches visant à comprendre le ou les mécanismes gérant les deux types de renforcement chez le vertébré et nous rappellent que le cerveau est d'une extrême complexité et qu'il serait sans doute réducteur de spéculer que l'un de ses circuits soit entièrement consacré à la gestion d'une seule fonction. Comme il l'a été mentionné plus haut, on sait déjà qu'un faisceau neuronal peut gouverner deux types d'expérience; ainsi, la région grise périaqueductale et le site gris central sont des structures qui sont impliquées dans diverses fonctions dont le plaisir, l'aversion et l'analgésie⁵³, cette dernière étant d'ailleurs elle-même une preuve qu'il y a interaction entre les deux types de renforcement opposés. Si la région grise périaqueductale commande le processus analgésique, il serait logique de supposer qu'elle puisse être l'endroit d'intégration des signaux renforçants et aversifs et des réseaux qui les régissent. De plus, il est déjà reconnu que le PAG sert de station de relais où convergent les signaux renforçants et aversifs^{6,32,49,53,72,177}. D'autres expériences appuyées sur l'ensemble de ce que nous connaissons déjà sur les réseaux régissant le plaisir et la douleur nous amèneront probablement à déterminer que c'est le PAG qui est l'ultime gestionnaire des sensations plaisantes ou aversives que nous ressentons.

Établir que le PAG est le lieu central où sont traités les deux extrêmes du renforcement ou convenir qu'il est la structure responsable de l'intégration des signaux nous permettrait de répondre à plusieurs questions de recherche et pourrait éventuellement contribuer à l'élargissement des applications de la stimulation électrique. Cette prémisse nous amènerait probablement à démystifier les mécanismes gouvernant l'influence réciproque des stimuli aversifs et renforçants et introduirait plus de cohérence, plus de convergence et plus de clarté à l'intérieur des résultats d'expérimentation recueillis jusqu'à maintenant sur le sujet. Quant à la stimulation électrique du cerveau, il faut aussi ajouter qu'elle a déjà été utilisée pour soulager la douleur chronique^{2,4,17,89,92,153,198} et que si elle a été délaissée au profit de l'approche pharmacologique, elle semble maintenant en passe de redevenir une voie encourageante à ce chapitre. La recrudescence de cette approche serait attribuable à quatre raisons principales : 1) les méthodes traditionnelles sont plus souvent qu'autrement inadéquates pour inhiber la douleur chronique^{18,19,116} ; 2) les traitements pharmacologiques provoquent souvent de l'accoutumance et leurs effets secondaires sont susceptibles de créer des complications^{108,109,116} ; 3) le perfectionnement des techniques chirurgicales et de la neuro-imagerie rend la procédure stéréotaxique plus précise et plus sécuritaire¹¹⁶ ; 4) son efficacité comme méthode de traitement de la douleur a été récemment reconfirmée^{86,109,155,190,191}. De plus, depuis quelques années, on se sert de la stimulation électrique cérébrale à d'autres fins médicales, c'est-à-dire qu'on l'utilise pour contrôler les symptômes de maladies aussi sérieuses que l'épilepsie^{8,41,70,192} et la maladie de Parkinson^{8,61,108,181,207}. Cet ensemble de faits permet de conclure finalement que la stimulation électrique du cerveau pourrait bien être un moyen thérapeutique dont l'avenir est prometteur. D'autant plus que les résultats présentés dans ce document permettent d'avancer que la

stimulation électrique intracérébrale serait probablement encore plus efficace si on procédait à l'activation simultanée d'une structure cérébrale renforçante et du site traitant l'information douloureuse provenant spécifiquement de la partie souffrante de l'organisme.

Références

- 1 Altier, N., & Stewart, J. (1993). Intra-VTA infusions of the substance P analogue DiMe-C7 and intra-accumbens infusions of amphetamine induce analgesia in the formalin test for tonic pain. *Brain Res.*, **628**, 279-285.
- 2 Amano, K., Tanikawa, T., Kawamura, H., Iseki, H., Notani, M., Kawabatake, H., Shiwaku, T., Suda, T., Demura, H., Kitamura, K. (1982). Endorphins and pain relief: Further observations on electrical stimulation of the lateral part of the periaqueductal gray matter during rostral mesencephalic reticulotomy for pain relief. *Appl. Neurophysiol.*, **45**, 123-135.
- 3 Anderson, R., Diotte, M., and Miliaressis, E. (1995). The bidirectional interaction between ventral tegmental rewarding and hindbrain aversive stimulation in the rat. *Brain Res.*, **688**, 15-20.
- 4 Andy, O.J. (1980). Parafascicular-center median nuclei stimulation for intractable pain and dyskinesia (painful-dyskinesia). *Appl. Neurophysiol.*, **43**, 133-144.
- 5 Azami, J., Green D.L., Roberts M.H.T., Monhemius, R. (2001). The behavioural importance of dynamically activated descending inhibition from the nucleus reticularis gigantocellularis pars alpha. *Pain*, **92**, 53-62.
- 6 Beitz A.J. (1995). Periaqueductal gray. In G. Paxinos (Ed.), *The Rat Nervous System*. (2nd ed., pp.173-182). San Diego: Academic Press.
- 7 Belluzzi J., & Stein L. (1977). Enkephalin may mediate euphoria and drive-reduction reward. *Nature (Lond.)*, **266**, 556-558.
- 8 Benabid, A.L., Koudsie, A., Benazzouz, A., Vercueil, L., Fraix, V., Chabardes, S., Lebas, J.F., Pollak, P. (2001). Deep brain stimulation of the corpus luyisi (subthalamic nucleus) and other targets in Parkinson's disease. Extension to new indications such as dystonia and epilepsy. *J. Neurol.*, **248**, (3), 37-47.
- 9 Besson, J.M., & Chaouch, A. (1987). Peripheral and spinal mechanisms of nociception, *Physiol. Rev.*, **67**, 67-186.
- 10 Besson, J.M., Fardin, V., Oliveras, J.L. (1991). Analgesia produced by stimulation of the periaqueductal gray matter: True antinociceptive effects versus stress effects. *In: The midbrain periaqueductal gray matter*. (pp. 121-138). Edited by Depaulis, A.; Bandler, R. New York: Plenum Press.

- 11 Bielajew, C., & Shizgal, P. (1980). Dissociation of the substrates for medial forebrain bundle self-stimulation and stimulation-escape using two-electrode stimulation technique. *Physiol. Behav.*, **25**, 705-711.
- 12 Bielajew, C., Jordan, C., Ferme-Enright, J., Shizgal, P. (1981). Refractory periods and anatomical linkage of the substrates for lateral hypothalamic and periaqueductal gray self-stimulation. *Physiol. Behav.*, **27**, 95-104.
- 13 Bielajew, C., & Shizgal, P. (1982). Behaviorally derived measures of conduction velocity in the substrate for rewarding medial forebrain bundle stimulation. *Brain Res.*, **237**, 107-119.
- 14 Bielajew, C., & Shizgal, P. (1986). Evidence implicating descending fibers in self-stimulation of the medial forebrain bundle. *J. Neurosci.*, **6**, 919-929.
- 15 Bielajew, C., Bushnik, T., Konkle, A.T.M., Schindler, D. (2000). The substrate for brain stimulation reward in the lateral preoptic area: II. Connections to the ventral tegmental area. *Brain Res.*, **881**, 112-120.
- 16 Bielajew, C., Konkle, A.T.M., Fouriezos, G., Boucher-Thrasher, A., Schindler, D. (2001). The substrate for brain stimulation reward in the lateral preoptic area: III. Connections to the lateral hypothalamic area. *Behav. Neurosci.*, **115**, 900-909.
- 17 Bishop, M.P., Elder, S.T., and Heath, R.G. (1963). Intracranial self-stimulation in man. *Science*, **140**, 394-396.
- 18 Blake M.J., & Stein EA. (1987). Brain stimulation of the ventral tegmental area attenuates footshock escape: an in vivo autoradiographic analysis of opiate receptors. *Brain Res.*, **435**, 181-194.
- 19 Bonica, J.J. (1990). History of pain concepts and therapies. In J.J. Bonica (Ed.). *The Management of Pain, Vol. 1, (2d Ed., pp. 2-17)*. Philadelphia: Lea & Fibiger.
- 20 Bonica, J.J. (1990). History of pain concepts and therapies. In J.J. Bonica (Ed.). *The Management of Pain, Vol. 1, (2d Ed., pp.180-196)*. Philadelphia: Lea & Fibiger.
- 21 Boyd, E.S., & Gardner, L.C. (1962). Positive and negative reinforcement from intracranial stimulation of a teleost. *Science*, **136**, 648-649.
- 22 Boyd, E.S., & Gardner, L.C. (1967). Effect of some brain lesions on intracranial self-stimulation in the rat. *Am. J. Physiol.*, **213**, 1044-1052.
- 23 Boye, S.M., & Rompré, P-P. (1996). Mesencephalic substrate of reward: Axonal connections. *J. Neurosci.*, **16**, 3511-3520.

- 24 Bruner, A. (1966). Facilitation of classical conditioning in rabbits by reinforcing brain stimulation. *Psychonomic Sci.*, **6**, 211-212.
- 25 Butkevich, I.P., & Kassil, V.G. (1999). Antinociceptive effects of brain rewarding system in the developing rabbit: behavioral and electrophysiological analysis. *Brain Res.*, **834**, (1-2), 13-24.
- 26 Caggiula, A.R., & Hoebel, B.G. (1966). "Copulation-reward site" in the posterior hypothalamus. *Science*, **153**, 1284-1285.
- 27 Carr, K.D., Bonnet, K.A., Simon, E.J., (1982). Mu and kappa opioid agonists elevate brain stimulation threshold for escape by inhibiting aversion. *Brain Res.*, **245**, 389-393.
- 28 Carr, K.D., Bonnet, K.A., Simon, E.J., (1982). Medial thalamic lesions reduce the aversion-gating action of lateral hypothalamic stimulation. *Brain Res.*, **246**, 342-346.
- 29 Carr, K.D., & Coons, E.E. (1982). Rats self-administer non-rewarding brain stimulation to ameliorate aversion. *Science*, **215**, 1516-1517.
- 30 Carr, K.D., & Coons, E.E. (1982). Lateral hypothalamic stimulation gates nucleus gigantocellularis-induced aversion via a reward-independent process. *Brain Res.*, **232**, 293-316.
- 31 Carr, K.D., & Uysal, S. (1985). Evidence of supraspinal opioid analgesic mechanism engaged by lateral hypothalamic electrical stimulation. *Brain Res.*, **335**, 55-62.
- 32 Carr, K.D., & Bak, T.H. (1987). Lateral hypothalamic stimulation-produced analgesia: Inferred refractory period of directly stimulated neurons and resistance to pimozone antagonism. *Physiol. Behav.*, **41**, 371-378.
- 33 Carr, K.D. (1990). Effects of antibodies to dynorphin A and beta-endorphin on lateral hypothalamic self-stimulation in ad libitum fed and food-deprived rats. *Brain Res.*, **534**, 8-14.
- 34 Carr, K.D., Papadouka, V., Wolinsky, T.D. (1993). Nalbinaltorphimine blocks the feeding but not the reinforcing effect of lateral hypothalamic electrical stimulation. *Psychopharmacology (Berl)*, **111**, 345-350.
- 35 Carr, K.D., Papadouka, V., (1994). The role of multiple opioid receptors in the potentiation of reward by food restriction. *Brain Res.*, **639**, 253-260.
- 36 Casey, K.L. (1971). Somatosensory responses of bulboreticular units in awake cat: Relation to escape-producing stimuli. *Science*, **173**, 77-80.
- 37 Cazala, P., Zielinski, A. (1983). A Y-maze test reveals the positively reinforcing properties of electrical stimulation of the mesencephalic gray area. *Brain Res.*, **273**, 143-146.

- 38 Cazala, P. (1986). Self-stimulation behavior can be elicited from various 'aversive' brain structures. *Behav. Brain Res.*, **22**, 163-171.
- 39 Cazala, P., David, V. (1991). Differential effects of naloxone on approach and escape responses induced by electrical stimulation of the lateral hypothalamus or the mesencephalic central gray area in mice. *Pharmacol Biochem Behav.*, **40**, 323-327.
- 40 Chan, J.Y.H., Tsai, H.F., Kuo, T.B.J., Chan, S.H.H. (1994). Modulation by angiotensin III of nociception-related and arterial pressure-related neuronal responsiveness in the nucleus reticularis gigantocellularis of the rat. *Regulatory Peptides*, **50**, 247-257.
- 41 Chkenkeli, S.A., & Chkenkeli, I.S. (1997). Effects of therapeutic stimulation of nucleus caudatus on epileptic electrical activity of brain in patients with intractable epilepsy. *Stereotact. Funct. Neurosurg.*, **69**, (1-4 Pt 2), 221-224.
- 42 Cohen, R.S., & Melzack, R. (1993). The habenula and pain: Electrical stimulation produces prolonged analgesia but lesions have no effect on formalin pain or morphine analgesia. *Behav. Brain Res.*, **54**, 171-178.
- 43 Coimbra, N.C., Eichenberger, G.C.D., Gorchinski, R.T., Maisonnnette, S. (1996). Effects of the blockade of opioid receptor on defensive reactions elicited by electrical stimulation within the deep layers of the superior colliculus and DPAG. *Brain Res.*, **73**, 348-352.
- 44 Conover, K. L., & Shizgal, P. (1994). Competition and summation between rewarding effects of sucrose and lateral hypothalamic stimulation in the rat. *Behav. Neurosci.*, **108**, 537-548.
- 45 Conover, K.L., & Shizgal, P. (1994). Differential effects of postingestive feedback on the reward value of sucrose and lateral hypothalamic stimulation in rats. *Behav. Neurosci.*, **108**, 559-572.
- 46 Cooper, R., & Taylor, L. (1967). Thalamic reticular system and central grey: self-stimulation. *Science*, **156**, 102-103.
- 47 Corbett, D., & Wise, R.A. (1979). Intracranial self-stimulation in relation to the ascending noradrenergic fiber systems of the pontine tegmentum and caudal midbrain: a moveable electrode mapping study. *Brain Res.*, **177**, 423-436;
- 48 Cosyns, P., & Gybels, J. (1979). Electrical central gray stimulation for pain in man, *In: Advances in pain research and therapy*. (Vol. 3., pp. 511-514). Edited by Fessard, A.D.; Liebeskind, J.C., New York: Raven Press.
- 49 Dafny, N., Dong, W.Q., Prieto-Gomez, C., Reyes-Vazquez, C., Stanford, J., and Qiao, J.T. (1996). Lateral hypothalamus: Site involved in pain modulation. *Neurosci.*, **70**, 449-460.

- 50 Delgado, J.M.R., Warren, W.R., Miller, N.E. (1954). Learning motivated by electrical stimulation of the brain. *Am. Physiol. Soc.*, **179**, 587-593.
- 51 Delgado, J.M.R. (1955). Cerebral structures involved in transmission and elaboration of noxious stimulation. *J. Neurophysiol.*, **18**, 261-275.
- 52 Dennis, S.G., Yemans, J.S., Deutsch, J.A. (1976). Adaptation of aversive brain stimulation III. Excitability characteristics of behaviorally relevant neural substrates. *Behav. Biol.*, **18**, 531-544.
- 53 Depaulis, A., & Bandler, R. (1991). *The midbrain periaqueductal gray matter*. Functional, Anatomical, and neurochemical organisation. Life Sciences (Vol. 213., pp 464). Edited by Depaulis, A., & Bandler, R. New York: Plenum Press.
- 54 Deutsch, J.A. (1964). Behavioral measurement of the neural refractory period and its application to intracranial self-stimulation. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, **58**, 1-9.
- 55 Deutsch, J.A., Hawkins, R.D. (1972). Adaptation as a cause of apparent aversiveness of prolonged rewarding brain stimulation. *Behav. Biol.*, **7**, 285-290.
- 56 Deutsch, J.A., Dennis, S.G. (1975). Adaptation of aversive brain stimulation: Effects of pulses frequency. *Behav. Biol.*, **13**, 345-250.
- 57 Diener, H.C., Schack, R.V., and Kastrup, O. (1995). Pain and depression. Pain in the brain: From nociception to cognition. *Adv. in Pain Res. and Therapy*, **22**, 345-351.
- 58 Diotte, M., & Miliareisis, E. (1997). Interaction properties between hindbrain aversive stimulation and dorsal raphe rewarding stimulation in the rat. *Soc. for Neurosci. Abstr.*, **23**, 1063.
- 59 Diotte, M., Miguez, M., Miliareisis, E., Bielajew, C. (2000). Interactions between rewarding lateral hypothalamic and aversive reticularis gigantocellularis stimulation. *Behav Brain Res.*, **116**, 149-156.
- 60 Diotte, M., Bielajew, C., Miguez, M., Miliareisis, E. (2001). Factors that influence the persistence of stimulation-induced aversion. *Physiol Behav.*, **72**, 661-667.
- 61 Dowsey-Limousin, P., Fraix, V., Benabid, A.L., Pollak, P. (2001). Deep brain stimulation in Parkinson's disease. *Funct. Neurol.*, **16**, (1), 67-71.
- 62 Durivage, A., & Miliareisis, E. (1987). Anatomical dissociation of the substrate of medial forebrain bundle self-stimulation and exploration. *Behav. Neurosci.*, **101**, 57-61.

- 63 Edmonds, D.E., & Gallistel, C.R. (1974). Parametric analysis of brain stimulation reward in the rat: III. Effect of performance variables on the reward summation function. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, *87*, 876-883.
- 64 Edmonds, D.E., Stellar, J.R., & Gallistel, C.R. (1974). Parametric analysis of brain stimulation reward in the rat: II. Temporal summation in the reward system. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, *87*, 860-869.
- 65 Edmonds, D.E., & Gallistel, C.R. (1977). Reward versus performance in self-stimulation: electrode-specific effects of α -methyl-p-tyrosine on reward in the rat. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, *91*, 962-974.
- 66 Esposito, R.U., Perry, W., Kornetsky, C. (1980). Effects of D-amphetamine and naloxone on brain stimulation reward. *Psychopharmacology*, *69*, 187-191.
- 67 Esposito, R.U., Perry, W., Kornetsky, C. (1981). Chlorpromazine and brain-stimulation reward: Potentiation of effects by naloxone. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, *1*, 903-905.
- 68 Fardin, V., Oliveras, J.L., Besson, J.M. (1984). A reinvestigation of the analgesic effects induced by stimulation of the periaqueductal gray matter in the rat I: The production of behavioral side effects together with analgesia. *Brain Res.*, *306*, 105-123.
- 69 Fardin, V., Oliveras, J.L., Besson, J.M. (1984). A reinvestigation of the analgesic effects induced by stimulation of the periaqueductal gray matter in the rat II: Differential characteristics of the analgesia induced by ventral and dorsal PAG stimulation. *Brain Res.*, *306*, 125-139.
- 70 Feindel, W. (1998). Brain stimulation combined with electrocorticography in the surgery of epilepsy: Historical highlights. *Electroencephalogr. Clin. Neurophysiol. Suppl.*, *48*, 1-8.
- 71 Fouriez, G., Bielajew, C., Pagotto, W. (1990). Task difficulty increases thresholds of rewarding brain stimulation. *Behav. Brain Res.*, *37*, 1-7.
- 72 Franco, A.C.J., & Prado, W.A. (1996). Antinociceptive effects of stimulation of discrete sites in the rat hypothalamus: Evidence for the participation of the lateral hypothalamus area in descending pain suppression mechanisms. *Brazilian J. Med. Biol. Res.*, *29*, 1531-1541.
- 73 Frank, R., & Williams, H. (1985). Both response effort and current intensity affect self-stimulation train duration thresholds. *Physiol. Biochem. Behav.*, *22*, 527-530.
- 74 Franklin, K.B.J. (1989). Analgesia and the neural substrate of reward. *Neurosci Biobehav. Rev.*, *13*, 149-154.
- 75 Freedman, N.L., Pangborn, D. (1984). Site-specific naloxone blockage of brain self-stimulation duration. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, *20*, 361-366.

- 76 Fuchs, P.N., Balinsky, M., Melzack, R. (1996). Electrical stimulation of the cingulum bundle and the surrounding cortical tissue reduces formalin-test pain in the rat. *Brain Res.*, **743**, 116-123.
- 77 Gallistel, C.R., Shizgal, P., Yeomans, J.S. (1981). A portrait of the substrate for self-stimulation. *Psychol. Rev.*, **88**, 228-273.
- 78 Gallistel, C.R. (1983). Self-stimulation. *The physiological basis of memory*. (pp. 269-349). Academic Press.
- 79 Gallistel, C.R., & Leon, M. (1991). Measuring the subjective magnitude of brain stimulation reward by titration with rate of reward. *Behav. Neurosci.*, **105**, 913-925.
- 80 Gamsa, A. (1994). The role of psychological factors in chronic pain I: A half century of study. *Pain*, **57**, 5-15.
- 81 German, D., Dalsass, M., Kiser, R. (1980). Electrophysiological examination of the ventral (A10) area in the rat. *Brain Res.*, **181**, 191-197.
- 82 Goldstein, A. (1976). Opioid peptides (endorphins) in pituitary and brain. *Science*, **193**, 1081-1086.
- 83 Goodman, I.J., & Brown, J. L. (1966). Stimulation of positively and negatively reinforcing sites in the avian brain. *Life Sci.*, **5**, 693-704.
- 84 Gratton, A., & Wise, R.A. (1988). Comparisons of connectivity and conduction velocities for medial forebrain bundle fibers subserving stimulation-induced feeding and brain stimulation reward. *Brain Res.*, **438**, 264-270.
- 85 Guyenet, P.G., & Aghajanian, G.K. (1978). Antidromic identification of dopaminergic and other output neurons in the rat substantia nigra. *Brain Res.*, **150**, 69-84.
- 86 Gybels, J. (2001). Thalamic stimulation in neuropathic pain: 27 years later. *Acta Neurol. Belg.*, **101**, (1), 65-71.
- 87 Hamilton, A., Stellar, J., & Hart, E. (1985). Reward, performance, and the response strength method in self-stimulating rats: validation and neuroleptics. *Physiol. Behav.*, **35**,
- 88 Hawkins, M., Stein E.A. (1991). Effects of continuous naloxone administration on ventral tegmental self-stimulation. *Brain Res.*, **560**, 315-320.
- 89 Heath, R.G. (1964). Pleasure response of human subjects to direct stimulation of the brain: Physiologic and psychodynamic considerations. *Role of Pleasure in Behavior*. In R.G. Heath (Ed.). New York: Harper & Row, Publishers.

- 90 Hoebel, B.G., & Teitelbaum, P. (1961). Hypothalamic control of feeding and self-stimulation. *Science*, *135*, 375-376.
- 91 Holden, J.E., Proudfit, H.K. (1998). Enkephalin neurons that project to the A7 catecholamine cell group are located in nuclei that modulate nociception: ventromedial medulla. *Neuroscience*, *83*, 929-947.
- 92 Hosobuchi, Y., Rossier, J., Bloom, F.E., Guillemin, R. (1979). Stimulation of human periaqueductal gray for pain relief increases immunoreactive beta-endorphin in ventricular fluid. *Science*, *203*, 311-314.
- 93 Hosobuchi, Y. (1980). The current status of analgesic brain stimulation. *Acta Neurochirurgica*, *30*, 219-227.
- 94 Howell, D.C. (1997). *Statistical Methods for Psychology*. (4th Ed.). New York: Wadsworth Publishing Company, 724 p.
- 95 Jaffe, J.H., Martin, W.R. (1975). Narcotic analgesics and antagonists. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Goodman, L.S., Gilman, A. eds. Macmillan: New York, pp. 245-283.
- 96 Jenck, F., Schmitt, P., Karli, P. (1983). Morphine applied to the mesencephalic central gray suppresses brain stimulation induced escape. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, *1*, 301-308.
- 97 Jenck, F., Schmitt, P., Karli, P. (1986). Morphine injected into the periaqueductal gray attenuates brain stimulation-induced aversive effects: an intensity discrimination study. *Brain Res.*, *378*, 274-284.
- 98 Jenck, F., Gratton, A., Wise, R.A. (1987). Opioid receptor associated with ventral tegmental facilitation of lateral hypothalamic brain stimulation reward. *Brain Res.*, *423*, 34-38.
- 99 Kaada, R.B. (1951). Somatomotor, autonomic and electrocorticographic responses to electrical stimulation of "Rhinencephalon" and other structures in primate, cat and dog. *Acta Physiol. Scan.*, *83*, (24), 1-285.
- 100 Kandel, E.R., Schwartz, J.H., Jessell, T.M. (2000). *Principles of neural science*. (4 th ed., 1414p.). Edited by E.R. Kandel, J.H. Schwartz, T.M. Jessell. New York: Mc Graw-Hill.
- 101 Katama, K., Yoshida, S., Kameyama, T. (1986). Antagonism of footshock stress-induced inhibition of intracranial self-stimulation by naloxone or methamphetamine. *Brain Res.*, *371*, 197-200.
- 102 Katon, W., & Sullivan, M.D. (1990). Depression and chronic medical illness. *J. Clin. Psychiat.*, *51*, 3-11.

- 103 Kelsey, J.E., Belluzzi, J.D., Stein, L. (1984). Does naloxone suppress self-stimulation by decreasing reward or by increasing aversion ? *Brain Res.*, **307**, 55-59.
- 104 Kent, P., Anisman, H., Merali, Z. (1998). Are bombesin-like peptides involved in the mediation of stress response ? *Life Sci.*, **62**, 103-114.
- 105 Kestenbaum, R.S., Deutsch, J.A., Coons, E.E. (1973). Inference of refractory period, temporal summation, and adaptation from behavior in chronic implants: Midbrain pain systems. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, **83**, 412-428.
- 106 Kitahata, L.M. (1993). Pain pathways and transmission. *Yale J. Biol. Med.*, **66**, 437-442.
- 107 Kornetsky, C., & Bain, G. (1990). Brain-stimulation reward: a model for drug-induced euphoria. *Modern Methods in Pharmacology*. Testing and evaluation of drugs of abuse. (Vol. 6., pp. 211-231). Wiley-Liss, Inc.
- 108 Krause, M., Fogel, W., Heck, A., Hacke, W., Bonsato, M., Trenkwalder, C., Tronnier, V. (2001). Deep brain stimulation for the treatment of parkinson's disease: subthalamic nucleus versus globus pallidus internus. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*, **70**, (4), 464-470.
- 109 Kumar, K., Toth, C., Nath, R.K. (1997). Deep brain stimulation for intractable pain: a 15 year experience. *Neurosurgery*, **40**, (4), 736-747.
- 110 Kuz'min, A.V., Zvartau, E.E. (1993). A comparative study of the reinforcing and analgesic properties of cocaine. *Eksp. Klin, Farmakol.*, **56**, 8-16.
- 111 LaGasse, J.M., Wetstein, L.M., Czirr, S.A., Reid, L.D. (1987). Morphine and diprenorphine together potentiate responding for positively reinforcing brain stimulation. *Psychobiology*, **15**, 261-264.
- 112 Leclerc, R., St-Laurent, J., Baum, M. (1973). Effects of rewarding, aversive and neutral intracranial stimulation administered during flooding (response prevention) in rats. *Physiol. Psychol.*, **1**, 24-28.
- 113 Leibman, J.M., Mayer, D.J., Leibeskind, J.C. (1973). Self-stimulation loci in the midbrain central gray matter of the rat. *Behav. Biol.*, **9**, 299-306.
- 114 Lopez, R., & Cox, V.C. (1992). Analgesia for chronic pain by self-administered lateral hypothalamic stimulation. *NeuroReport*, **3**, 311-314.
- 115 Lovick, T.A. (1991). Interactions between descending pathways from dorsal and ventrolateral periaqueductal gray matter in the rat. *In: The periaqueductal gray matter*. (pp.101-120). Edited by Depaulis, A.; Bandler, R. New York: Plenum Press.

- 116 Lozano, A., Hutchison, W., Kiss, Z., Tasker, R., Davis, K., Dostrovsky, J. (1996). Methods for microelectrode-guided posteroventral pallidotomy. *J. Neurosurg.*, **84**, 194-202.
- 117 Manning, B.H., Morgan, M.J., Franklin, K.B.J. (1994). Morphine analgesia in the formalin test: Evidence for forebrain and midbrain sites of action. *Neurosci.*, **63**, (1), 289-294.
- 118 Mantz, J., Thierry, A.M., Glowinski, J. (1989). Effects of noxious tail pinch on the discharge rate of mesocortical and mesolimbic dopamine neurons: selective activation of the mesocortical system. *Brain Res.*, **476**, 377-381.
- 119 Margules, D.L., & Olds, J. (1961). Identical "feeding" and "rewarding" systems in the lateral hypothalamus of rats. *Science*, **135**, 374-375.
- 120 Margules, D.L. (1969). Noradrenergic rather than serotonergic basis of reward in the dorsal tegmentum. *J. comp. physiol. Psychol.*, **67**, 32-35.
- 121 Mayer, D. J., & Liebeskind, J.C. (1974). Pain reduction by focal electrical stimulation of the brain: An anatomical and behavioral analysis. *Brain Res.*, **68**, 73-93.
- 122 Mayer, D., Wolfe, T., Akil, H., Carder, B., Liebeskind, J. (1971). Analgesia from electrical stimulation in the brainstem of the rat. *Science*, **174**, 1351-1354.
- 123 Mendelson, J. (1967). Lateral hypothalamic stimulation in satiated rats: The rewarding effects of self-induced drinking. *Science*, **157**, 1077-1079.
- 124 Merali, Z., McIntosh, J., Kent, P., Michaud, J., Anisman, H. (1998). Aversive and appetitive events evoke the release of corticotropin releasing hormone and bombesin-like peptides at the central nucleus of the amygdala. *J. Neurosci.*, **18**, 4758-4766.
- 125 Meyerson, B.A., Boethius, J., Carlsson, A.M. (1979). Alleviation of malignant pain by electrical stimulation in the periventricular-periaqueductal region: pain relief as related to stimulation sites. *Advances in pain research and therapy*. (Vol. 3., pp.526-533). Edited by J.J. Bonica et al. New York: Raven Press.
- 126 Miliareisis, E., & Rompré, P-P. (1980). Self-stimulation and circling: Differentiation of the neural substrata by behavioral measurement with the use of a double pulse technique. *Physiol. Behav.*, **25**, 939-943.
- 127 Miliareisis, E. (1981). A miniature, moveable electrode for brain stimulation in small animals. *Brain Res. Bull.*, **7**, 715-718.
- 128 Miliareisis, E., & Rompré, P.P. (1985). Pontine and mesencephalic substrates of self-stimulation. *Brain Res.*, **359**, 246-259.

- 129 Miliaressis, E., Malette, J., Coulombe, D. (1986). The effects of pimozide on the reinforcing efficacy of central grey stimulation in the rat. *Behav. Brain Res.*, **21**, 95-100.
- 130 Miliaressis, E., & Rompré, P.P. (1987). Effects of concomitant motor reactions on the measurement of rewarding efficacy of brain stimulation. *Behav. Neurosci.*, **101**, 827-831.
- 131 Miserendino, M.J.D., Coons E.E. (1989). Hedonic interactions of medial prefrontal cortex and nucleus reticularis gigantocellularis. *Brain Res.*, **483**, 233-250.
- 132 Monhemius, R., Azami, J., Green, D.L., Roberts, M.H.T. (2001). CB1 receptor mediated analgesia from the nucleus reticularis gigantocellularis pars alpha is activated in an animal model of neurophatic pain. *Brain Res.*, **908**, 67-74.
- 133 Monteillet-Agius, G., fein, J., Anton, B., Evans, C.J. (1998). ORL-1 and mu opioid receptor antisera label different fibers in ares involved in pain processing. *J. Comp. Neurol.*, **399**, 373-383.
- 134 Morgan, M. J., & Franklin, K.B.J. (1988). Stimulation-produced analgesia (SPA) from brain-stem and diencephalic sites in the rat: Relationships between analgesia, aversion, seizures and catalepsy. *Pain*, **33**, 109-121.
- 135 Morgan, M.M. (1991). Differences in antinociception evoked from dorsal and ventral regions of the caudal periaqueductal gray matter. *The midbrain periaqueductal gray matter*. (pp. 139-150). Edited by A. Depaulis and R. Bandler. New York: Plenum Press.
- 136 Moriyama, M., Gomita, Y., Ichimaru, Y., Araki, Y. (1991). Differential effect of morphine on operant escape behavior and aversive symptom induced by dorsal central gray stimulation in rats. *Japan J. Pharmacol.*, **55**, 169-173.
- 137 Mundl, W.J. (1980). A constant-current stimulator. *Physiol. Behav.*, **24**, 991-993;
- 138 Murray, B., & Shizgal, P. (1994). Evidence implicating both slow- and fast-conducting fibers in the rewarding effect of medial forebrain bundle stimulation. *Behav. Brain Res.*, **63**, 47-60.
- 139 Murray, B., & Shizgal, P. (1996). Behavioral measures of conduction velocity and refractory period for reward-relevant axons in the anterior LH and VTA. *Physiol. Behav.*, **59**, 643-652.
- 140 Nashold, B.S. Jr., Wilson, W.P., Slaughter, D.G. (1969). Sensations evoked by stimulation in the midbrain of man. *Neurosurg.*, **30**, 14-24;
- 141 Nashold, B.S. Jr., Wilson, W.P., Slaughter, D.G. (1974). The midbrain on pain. *In: Advances in Neurology*. (Vol. 4., pp. 156-157). Bonica. J.J. (Ed.). New York: Raven Press.

- 142 Oades, R.D., Halliday, G.M. (1987). Ventral tegmental (A10) system: neurobiology. 1. Anatomy and connectivity. *Brain Res. Rev.*, **12**, 117-165.
- 143 Olds, J., Milner, P.M. (1954). Positive reinforcement produced by electrical stimulation of the septal area and other regions of rat brain. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, **47**, 419-427.
- 144 Olds, M.E., Olds, J. (1962). Approach-escape interactions in rat brain. *Am. J. Physiol.*, **203**, 803-810.
- 145 Olds, M.E., Olds, J. (1963). Approach-avoidance analysis of rat diencephalon. *J. Comp. Neurol.*, **120**, 259-295.
- 146 Oliveras, J.L., Besson, J.M., Guilbaud, G., & Liebeskind, J.C. (1974). Behavioral and electrophysiological evidence of pain inhibition from midbrain stimulation in the cat. *Exp. Brain Res.*, **20**, 32-44.
- 147 Olson, G.A., Olson, R.D., Kastin, A.J. (1997). Endogenous opiates. *Peptides*, **18**, 1651-1688.
- 148 Paxinos, G. (1985). (Ed.). *The Rat Nervous System: Hindbrain and Spinal Cord*. (Vol. 2., 355 p.). Kensington: Academic Press.
- 149 Paxinos, G., & Watson, C. (1986). *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. (2d Ed.). Toronto: Academic Press.
- 150 Pearl, G.S., & Anderson, K.V. (1976). Effects of nociceptive and innocuous stimuli on the firing patterns of single neurons in the feline nucleus reticularis gigantocellularis. In J.J. Bonica and A. Fessard (Eds.) *Advances in Pain Research*. (Vol. 1., pp.259-265). New York: Raven Press.
- 151 Perry, W., Esposito, R.U., Kornetsky, C. (1981). Effects of chronic naloxone treatment on brain-stimulation reward. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **14**, 247-249.
- 152 Piazza, P.V., LeMoal, M. (1997). Glucocorticoids as a biological substrate of reward: physiological and pathological implications. *Brain Res. Brain Res. Rev.*, **25**, 359-372.
- 153 Plotkin, R. (1982). Result in 60 cases of deep brain stimulation for chronic intractable pain. *Appl. Neurophysiol.*, **45**, 173-178.
- 154 Pollock, J., Kornetsky, C. (1990). Pharmacologic evidence for nociception resulting from noncontingent "rewarding" brain stimulation. *Physiol. Behav.*, **47**, 761-765.
- 155 Richardson, D.E. (1995). Deep brain stimulation for the relief of chronic pain. *Neurosurg. Clin. N. Am.*, **6**, (1), 135-144.

- 156 Roberts, V.J. (1992). NGC-evoked nociceptive behaviors: I. Effect of nucleus gigantocellularis stimulation. *Physiol. Behav.*, *51*, 65-71.
- 157 Roberts, W.W. (1958). Both rewarding and punishing effects from stimulation of posterior hypothalamus of cat with same electrode at same intensity. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, *51*, 400-407.
- 158 Rolls, E.T. (1974). The neural basis of brain stimulation reward. *Progr. Neurobiol.*, *3*, 71-160.
- 159 Rompré, P.P., & Miliareisis, E. (1980). A comparison of the excitability cycles of the hypothalamic fibers involved in self-stimulation and exploration. *Physiol. Behav.*, *24*, 995-998.
- 160 Rompré, P.P., & Miliareisis, E. (1985). Pontine and mesencephalic substrates of self-stimulation. *Brain Res.*, *359*, 246-259;
- 161 Rompré, P.P., & Miliareisis, E. (1987). Behavioral determination of refractory periods of the brainstem substrates of self-stimulation. *Behav. Brain Res.*, *23*, 205-219.
- 162 Rosenfeld, J.P., Stocco, S. (1980). Differential effects of systemic versus intracranial injection of opiates on central, orofacial and low body nociception: somatotopy in bulbar analgesia systems. *Pain*, *9*, 307-318.
- 163 Rosenweig, M.R., Leiman, A.L., Breedlove, M. (1996). *Psychobiologie*. Paris: De Boeck Université.
- 164 Sandkuhler, J. (1996). The organization and function of endogenous antinociceptive systems. *Progress in Neurobiol.*, *50*, 49-81.
- 165 Sasson, S., Kornetsky, C. (1983). Naloxone lowers brain-stimulation escape thresholds. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, *18*, 231-233.
- 166 Scheafer, G.J., Michael, R.P. (1981). Threshold differences for naloxone and naltrexone in the hypothalamus and midbrain using fixed ratio brain stimulation in rats. *Psychopharmacology*, *74*, 17-22.
- 167 Scheafer, G.J., Michael, R.P. (1985). Effects of opioid antagonists and their quaternary derivatives on locomotor activity and fixed ratio responding for brain self-stimulation in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, *23*, 797-802.
- 168 Scheafer, G.J. (1988). Opiate antagonists and rewarding brain stimulation. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, *12*, 1-17.

- 169 Scheaffer, G.J., Michael, R.P. (1988). Naloxone and diprenorphine reduce responding for brain stimulation in a fixed ratio schedule in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **29**, 209-212.
- 170 Schenk, S., Williams, T., Coupal, A., Shizgal, P. (1980). A comparison between the effects of morphine on the rewarding and aversive properties of lateral hypothalamic and central gray stimulation. *Physiol. Behav.*, **8**, 372-378.
- 171 Schenk, S., Coupal, A., William, T., Shizgal, P. (1981). A within subject -comparison of the effect of morphine on lateral hypothalamic and central gray self-stimulation. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **15**, 37-41.
- 172 Schenk, S., & Robinson, B. (1988). Differentiation of the substrate for analgesia and vocalizations elicited by midbrain stimulation in rats. *Behav. Brain Res.*, **31**, (2), 105-110.
- 173 Shizgal, P., Bielajew, C., Corbett, D., Skelton, R., and Yeomans, J. (1980). Behavioral methods for inferring anatomical linkage between rewarding brain stimulation sites. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, **94**, 227-237.
- 174 Simmons, J.M., & Gallistel, C.R. (1994). Saturation of subjective reward magnitude as a function of current and pulses frequency. *Behav. Neurosci.*, **108**, (1), 151-160.
- 175 Singh, J., Desiraju, T., Nagaraja, T.N., Raju, T.R. (1994). Facilitation of self-stimulation of ventral tegmentum by microinjection of opioid receptor subtype agonists. *Physiol. Behav.*, **55**, 627-631.
- 176 Skelton, R., & Shizgal, P. (1980). Parametric analysis of ON- and OFF- responding for hypothalamic stimulation. *Physiol. Behav.*, **25**, 699-706.
- 177 Smock, T.K. (1999). *Physiological Psychology*. New Jersey: Prentice-Hall.
- 178 Snyder, S. (1975). Opiate receptor in normal and drug altered brain function. *Nature*, **257**, 185-189.
- 179 Sotres-Bayon, F., Torres-Lopez, E., Lopez-Avila, A., del Angel, R., Pellicer, R. (2001). Lesion and electrical stimulation of the ventral tegmental area modify persistent nociceptive behavior in the rat. *Brain Res.*, **898**, 342-349.
- 180 Spinella, M., Znamensky, V., Moroz, M., Ragnauth, A., Bonar, R.J. (1999). Actions of NMDA and cholinergic receptor antagonists in the rostral ventromedial medulla upon β -endorphin analgesia elicited from the ventrolateral periaqueductal gray. *Brain Res.*, **829**, 151-159.
- 181 Starr, P.A., Vitek, J.L., Bakay, R.A. (1998). Ablative surgery and deep brain stimulation for parkinson's disease. *Neurosurgery*, **43**, (5), 989-1015.

- 182 Stein, L. (1962). An analysis of stimulus-duration preference in self-stimulation of the brain. *J. Comp. Physiol. Psychol.*, *55*, 405-414.
- 183 Stein, L., Belluzzi, J.D. (1978). Brain endorphins and the sense of well-being. *In: The endorphins: Advances in biochemical psychopharmacology.* (pp. 299-311). Edited by Costa E, and Trabucchi M. New York: Raven Press.
- 184 Stein, E.A. (1985). Effects of intracranial self-stimulation on brain opioid peptides. *Peptides*, *6*, 67-73.
- 185 Stellar, J.R., & Stellar, E. (1985). *The neurobiology of motivation and reward.* New York: Springer-Verlag.
- 186 St-Laurent, J. (1988). Behavioral correlates of self-stimulation, flight and ambivalence. *Brain Res. Bull.*, *21*, 61-77.
- 187 St-Laurent, J. & Beaugard, J. (1972). Brain stimulation reinforcement and behavior. *Revue Can.de Biol.*, *31*, 193-213.
- 188 *Statistica for Windows.* (1997). General Conventions and Statistics I. Copyright 1984-1994 by Statsoft Inc., USA.
- 189 Szreniawski, Z., Meszaros, J., Gajewska, S., Tarchalska-Krynska, B. (1977). The effects of lesion of mesolimbic dopamine neurons on pain thresholds and morphine analgesia in rats. *Pol. J. Pharmacol. Pharm.*, *29*, 521-525.
- 190 Taira, T., Kawamura, H., Takakura, K. (1998). Posterior occipital approach in deep brain stimulation for both pain and involuntary movement. A case report. *Stereotact. Funct. Neurosurg.*, *70*, (1), 52-56.
- 191 Tasker, R.R., Vilela Filho, O. (1995). Deep brain stimulation for neuropathic pain. *Stereotact. Funct. Neurosurg.*, *65*, (1-4), 122-124.
- 192 Taylor, R.B., Wennberg, R.A., Lozano, A.M., Sharpe, J.A. (2000). Central nystagmus induced by deep brain stimulation for epilepsy. *Epilepsia*, *41*, (12), 1637-1641.
- 193 Tehovnik, E., & Yeomans, J.S. (1986). Two converging brainstem pathways mediating circling behavior. *Brain Res.*, *385*, 329-342.
- 194 Tehovnik, E., & Yeomans, J.S. (1988). Contraversive circling elicited from internal capsule and substantia nigra: evidence for continuous axon bundle mediating circling. *Brain Res.*, *441*, 269-280.

- 195 Trujillo, K.A., Belluzzi, J.D., Stein, L. (1989). Naloxone suppression of self-stimulation is independent of response difficulty. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **33**, 147-155.
- 196 Trujillo, K.A., Belluzzi, J.D., Stein, L. (1989). Opiate antagonists and self-stimulation: extinction-like response patterns suggest selective reward deficit. *Brain Res.*, **492**, 15-28.
- 197 Tsai, H.F., Kuo, T.B.J., Chan, J.Y.H., and Chan, S.H.H. (1994). Interaction between neural responses to nociception and hypertension in the nucleus reticularis gigantocellularis of the rat. *Neurosci. Lett.*, **165**, 137-140.
- 198 Turnbull, I.M. (1984). Brain stimulation. In P.D. Wall & R. Melzack (Eds.). *Textbook of pain*. New York: Churchill Livingstone.
- 199 Vaccarino, A.L., & Melzack, R. (1989). Analgesia produced by injection of lidocaine into the anterior cingulum bundle of the rat. *Pain*, **39**, 213-219.
- 200 Vaccarino, A.L., & Melzack, R. (1992). Temporal processes of formalin pain: Differential role of the cingulum bundle, fornix pathway and medial bulboreticular formation. *Pain*, **49**, 257-271.
- 201 Vaccarino, A.L. (1994). Descending modulation of central neural plasticity in the formalin pain test. *Brain Res.*, **666**, 104-108.
- 202 Valenstein, E. S. (1964). Problems of measurement and interpretation with reinforcing brain stimulation. *Psychol. Rev.*, **71**, 415-436.
- 203 Valenstein, E. S., & Valenstein, T. (1964). Interaction of positive and negative reinforcing neural systems. *Science*, **145**, 1456-1458.
- 204 Valenstein, E. S. (1965). Independence of approach and escape reactions to electrical stimulation of the brain. *J. comp. physiol. Psychol.*, **60**, 20-30.
- 205 Van Wolfswinkel, L., Seifert, W.F., Van Ree, J.M. (1985). Long-term changes in self-stimulation threshold by repeated morphine and naloxone treatment. *Life Sci.*, **37**, 169-176.
- 206 Van Wolfswinkel, L., Seifert, W.F., Van Ree, J.M. (1988). Catecholamines and endogenous opioids in ventral tegmental self-stimulation reward. *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **30**, 589-595.
- 207 Vesper, J., Funk, T., Kern, B.C., Klostermann, F., Straschill, M., Brock, M. (2001). Neurosurgical therapy of parkinson's disease. Deep brain stimulation. *MMW Fortschr. Med.*, **28**, (143), 50-53.

- 208 Villanueva, L., Bouhassira, D., and Le Bars, D. (1996). The medullary subnucleus reticularis dorsalis (SRD) as a key link in both the transmission and modulation of pain signals. *Pain*, **67**, 231-240.
- 209 Walker, S., & Fouriez, G. (1995). Integration of free pulses in electrical self-stimulation of the rat brain. *Behav. Neurosci.*, **109**, 168-179.
- 210 Ward, N.G. (1988). Pain and Depression. *Chronic Pain Syndromes of Psychologic/Psychosocial Origin*. pp. 310-319.
- 211 Waxman, S.G., Bennett, M.V.L. (1972). Relative conduction velocities of small myelinated fibers in the central nervous system. *Nature*, **238**, 217-219.
- 212 Willis, W.D., & Coggeshall, R.E. (1991). *Sensory Mechanisms of the Spinal Cord*. (2nd Ed.). New York: Plenum Press.
- 213 Wilson, A.M., Soignier, R.D., Zadina, J.E., Kastin, A.J., Nores, W.L., Olson, R.D., Olson, G.A. (2000). Dissociation of analgesic and rewarding effects endomorphin-1 in rats. *Peptides*, **21**, 1871-1874.
- 214 Wolfe, T. L., Mayer, D.J., Carder, B., Leibesking, J. C. (1971). Motivational effects of electrical stimulation in dorsal tegmentum of the rat. *Physiol. Behav.*, **7**, 569-574.
- 215 Yeomans, J.S. (1975). Quantitative measurement of neural post-stimulation excitability with behavioral methods. *Physiol. Behav.*, **15**, 593-602.
- 216 Yeomans, J.S., & Davis, J.K. (1975). Behavioral measurement of post-stimulation excitability of neurons mediating self-stimulation by varying the voltage of paired pulses. *Behav. Biol.*, **15**, 435-447.
- 217 Yeomans, J.S. (1979). The absolute refractory periods of self-stimulation neurons. *Physiol. Behav.*, **22**, 911-919.
- 218 Yeomans, J.S., & Tehovnik, E.J. (1988). Turning responses evoked by stimulation of visuomotor pathways. *Brain Res. Rev.*, **13**, 235-259.
- 219 Yeomans, J.S. (1990). *Principles of brain stimulation*. New York: Oxford University Press.
- 220 Yien, H.W., Chan, J.Y.H., Tsai, H.F., Lee, T.Y., Chan, S.H.H. (1993). Participation of nucleusreticularis gigantocellularis in the antinociceptive effect of angiotensin III in the rat. *Neurosci. Lett.*, **159**, 9-12.