

THÈSE

Pour l'obtention du grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE POITIERS
UFR des sciences fondamentales et appliquées
Laboratoire de neurosciences expérimentales et cliniques - LNEC (Poitiers)
(Diplôme National - Arrêté du 7 août 2006)

École doctorale : Biologie-santé - Bio-santé (Limoges)
Secteur de recherche : Biomolécules, pharmacologie, thérapeutique

Présentée par :
Céline Nicolas

Étude des modifications à long terme induites par la prise chronique de cocaïne : approches anatomique, métabolique et comportementale

Directeur(s) de Thèse :
Marcello Solinas, Claire Lafay-Chebassier

Soutenue le 18 décembre 2014 devant le jury

Jury :

Président	Afsaneh Gaillard	Professeur des Universités, Université de Poitiers
Rapporteur	Serge Ahmed	Directeur de recherche CNRS, Université de Bordeaux
Rapporteur	Mickaël Naassila	Professeur des Universités, Université de Picardie Jules Verne
Membre	Marcello Solinas	Directeur de recherche CNRS, Université de Poitiers
Membre	Claire Lafay-Chebassier	Maître de conférences, Université de Poitiers
Membre	Michael T. Bardo	Professor, University of Kentucky

Pour citer cette thèse :

Céline Nicolas. *Étude des modifications à long terme induites par la prise chronique de cocaïne : approches anatomique, métabolique et comportementale* [En ligne]. Thèse Biomolécules, pharmacologie, thérapeutique. Poitiers : Université de Poitiers, 2014. Disponible sur Internet <<http://theses.univ-poitiers.fr>>

THESE

pour l'obtention du Grade de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE POITIERS
(Faculté des Sciences Fondamentales et Appliquées)
(Diplôme National - Arrêté du 7 août 2006)

Ecole Doctorale : BioSanté N°524
Secteur de Recherche : Biomolécules, Pharmacologie, Thérapeutique

Présentée par :
Céline NICOLAS

Etude des modifications à long terme induites par la prise chronique de cocaïne : approches anatomique, métabolique et comportementale

Directeur de Thèse :
Marcello SOLINAS et Claire LAFAY-CHEBASSIER

Soutenue le 18 Décembre 2014
devant la Commission d'Examen :

Monsieur le Docteur Serge AHMED	Rapporteur
Monsieur le Professeur Mickaël NAASSILA	Rapporteur
Monsieur le Professeur Michael BARDO	Examineur
Madame le Professeur Afsaneh GAILLARD	Examineur
Madame le Docteur Claire LAFAY-CHEBASSIER	Examineur
Monsieur le Docteur Marcello SOLINAS	Examineur

A mes parents,

A Julien,

REMERCIEMENTS

Je tiens pour commencer à exprimer mes remerciements aux membres du jury. Je remercie Monsieur le Docteur Serge Ahmed et Monsieur le Professeur Mickael Naassila d'avoir accepté d'évaluer cette thèse en tant que rapporteurs. Merci à Monsieur le Professeur Mikael Bardo de m'avoir fait l'honneur de participer à ce jury de thèse en tant qu'examineur.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance et mon respect au Docteur Marcello Solinas. Tout d'abord, je tiens à vous remercier de la confiance que vous m'avez accordée en me permettant de réaliser cette thèse qui me tenait tant à cœur. Au delà des remerciements formels de tous thésards envers son encadrant je souhaite vous remercier pour vos qualités scientifiques et humaines. Merci pour votre disponibilité, votre implication, et votre bonne humeur. Merci de m'avoir fait partager votre passion pour la recherche et votre rigueur scientifique. J'ai énormément appris à vos coté, au travers des conversations scientifiques toujours stimulantes et ponctuées d'une pointe d'humour qui vous caractérise et font qu'il fait bon vivre dans « l'équipe Solinas ». J'ai passé trois années très agréables à travailler à vos coté, je ne pouvais espérer plus enrichissant pour débiter dans le monde de la recherche. Merci pour tout, en espérant que la fin de cette thèse ne soit que le début d'une longue histoire scientifique dans laquelle nos chemins professionnels se recroiseront.

Je tiens également à remercier très sincèrement le Docteur Claire Lafay Chebassier. Un grand merci pour votre aide, très précieuse dans la dernière ligne droite de cette thèse, et tout au long de

ces trois années. Merci pour votre gentillesse et votre bonne humeur communicative.

Je souhaite remercier le Professeur Mohamed Jaber de m'avoir accueillie dans son laboratoire dès mon stage de master 1 et de m'avoir permis de poursuivre l'aventure en réalisant cette thèse au sein de son laboratoire. Merci à vous de nous offrir un cadre de travail très enrichissant, nous permettant de nous épanouir scientifiquement mais également humainement. Je suis très heureuse d'avoir pu faire partie de cette belle famille qu'est le « LNEC ».

Au Docteur Nathalie Thiriet, merci pour tes conseils précieux et ta gentillesse. Je tiens également à te remercier pour ton aide tout au long de ces trois années, ainsi que pour les bons moments passés au laboratoire.

Je souhaite également remercier très chaleureusement le Professeur Afsaneh Gaillard pour m'avoir fait l'honneur de présider mon jury de thèse. Je tiens à vous présenter toute ma reconnaissance. Merci pour votre gentillesse et votre richesse scientifique. Merci pour vos conseils précieux et pour votre soutien lors de mes premiers pas en tant qu'enseignant.

Je tiens également à remercier l'ensemble des personnes m'ayant apporté leur collaboration dans l'élaboration de mes projets scientifiques. Au Docteur Pierre Olivier Fernagut, merci pour ton aide dans la mise en place de la technique de stéréologie mais également pour ton implication et tes conseils précieux. Merci également au Docteur Laurent Galineau pour son investissement et son aide dans la réalisation du projet d'imagerie.

Pour ces belles années passées avec vous, merci à l'ensemble des membres du LNEC, chercheurs, enseignants chercheurs, ingénieurs, techniciens et personnels administratifs. Merci pour votre gentillesse de tous les jours et votre bonne humeur.

Virginie, Maureen, Laetitia je tiens à vous remercier très chaleureusement pour votre aide de tous les jours. Merci pour votre bonne humeur et votre gentillesse qui ont largement contribué à mon épanouissement pendant ces trois années. Merci pour tous les bons moments que l'on a passé ensemble au labo ou ailleurs... Une petite pensée pour notre voyage au Liban, merci les filles ! Je vous souhaite maintenant le meilleur dans votre vie professionnelle mais également personnelle.

Un clin d'œil à Joëlle et Sophie, se fut un bonheur de partager ces premières années de thèse avec vous. Merci pour votre aide, votre bonne humeur et tous les bons moments passés ensemble.

Un très grand merci à Emilie, Mejda, Marine et Sandie. Je tiens sincèrement à vous remercier pour votre aide de tous les jours mais également pour votre implication dans la dernière ligne droite de ma rédaction de thèse. Merci pour les nocturnes au labo, votre bonne humeur, votre humour, votre gentillesse et nos longues conversations scientifiques... Cette thèse n'aurait pas eu la même saveur sans vous... Marine, un très grand merci pour ton aide, ta gentillesse et ton humour. Mejda, je suis très heureuse de pouvoir partager avec toi tes premiers pas de doctorante. C'est toujours agréable de travailler avec toi, je suis très fière que tu reprennes le flambeau et je te souhaite le meilleur pour la suite... Emilie, merci pour tout. Merci pour ton investissement et ton aide de tous les jours. C'est un bonheur de

travailler avec toi ! Au delà de tes qualités scientifiques, je tiens à te remercier sincèrement pour ton soutien et tes qualités humaines. Je te souhaite ce que l'on peut souhaiter de meilleur...

Merci à mes compatriotes de bureau Audrey et François pour leur gentillesse et leur bonne humeur. Merci à Nissrine, Sébastien, Joanna, Tristan, Marie-Laure pour votre gentillesse et les agréables moments passés ensemble.

Je remercie également toutes les personnes qui ont facilité cette thèse à travers les démarches administratives et les soins apportés à mes rats...



A ma famille adorée,

Papa, maman je profite de ces quelques mots pour vous adresser tout mon amour. Merci, pour les valeurs que vous nous avez inculqué et le soutien inconditionnel que vous m'avez apporté. Cette thèse m'a demandé beaucoup d'investissements et de sacrifices mais vous les avez toujours accepté et pour cela merci. Et même si la passion de la recherche m'éloigne quelque temps de vous, sachez que la place que vous occupez dans mon cœur sera toujours aussi grande.

Dadou, saches que je suis très fière de toi. Merci d'être toi, ne changes pas...

A mes grands-mères.

A toi Julien, je n'aurai jamais assez de mots pour t'écrire l'ensemble des choses pour lesquelles je veux te remercier... Merci de partager ma vie... De m'avoir supportée tout au long de ces trois

années et particulièrement lors de cette longue et difficile dernière ligne droite. Merci de m'avoir toujours soutenue et d'avoir toujours cru en moi. Merci de vivre l'aventure avec moi et de me suivre là où ma passion nous emportera. Ma plus belle découverte c'est toi...

SOMMAIRE

REMERCIEMENTS	2
SOMMAIRE	7
RESUME	12
ABSTRACT	13
Liste des travaux.....	14
Liste des illustrations.....	15
Liste des abréviations.....	20
INTRODUCTION.....	22
Chapitre 1 : L'Addiction.....	23
I. Un problème de santé publique.....	23
II. Définition.....	24
III. Le cycle de l'addiction	27
IV. Différences interindividuelles et facteurs de vulnérabilité	28
A. Les facteurs génétiques.....	29
B. Les facteurs environnementaux.....	31
C. L'influence de la drogue	33
Chapitre 2 : La Cocaïne.....	35
I. Historique.....	35
II. Effets neurobiologiques	36
A. Mode d'action, cibles moléculaires	36
B. Les circuits neuronaux impliqués dans l'addiction aux drogues : le système mésocorticolimbique.....	38
Chapitre 3 : Influence d'une prise chronique de cocaïne sur les modifications cérébrales à long terme : approche vasculaire et métabolique.....	51
I. Le système vasculaire cérébral	51
A. Le système artériel	52
B. Le système veineux	53
C. La microvasculature cérébrale	55
II. Influence d'une prise chronique de cocaïne sur le système vasculaire.....	57

A.	Etudes de cas cliniques.....	57
B.	Etudes pré-cliniques.....	60
C.	Résumé.....	62
III.	Addiction et imagerie cérébrale : données répertoriées chez l'Homme.....	62
A.	Etude de l'activité cérébrale, en période de sevrage et en absence de stimulation	63
B.	Etude de l'activité cérébrale en période de sevrage et suite à une stimulation par des signaux associés à la drogue.....	65
IV.	Addiction et imagerie cérébrale : études réalisées chez des modèles animaux.....	66
A.	Modulation de l'activité cérébrale induite par la prise de cocaïne.....	67
B.	Effet du sevrage à la cocaïne sur l'activité cérébrale.....	68
V.	Résumé.....	70
Chapitre 4 : Influence de l'exposition à un environnement positif sur les comportements addictifs.....		72
I.	L'environnement enrichi (EE).....	72
A.	Description.....	72
B.	Effets préventifs de l'EE sur l'addiction aux drogues.....	75
C.	Effets curatifs de l'EE sur l'addiction aux drogues.....	77
II.	Comment l'EE diminue-t-il la vulnérabilité à l'addiction ? Hypothèse d'une récompense alternative.....	78
Chapitre 5 : Effet de l'exposition à une récompense alternative sur les comportements addictifs.....		80
I.	Qu'est-ce qu'une récompense alternative chez les rongeurs ?.....	80
II.	Effets de l'exposition à une récompense alternative naturelle sur l'addiction aux drogues.....	81
III.	Effet de la consommation de drogue sur la réponse comportementale aux récompenses alternatives naturelles.....	85
IV.	L'exposition à une activité récréationnelle peut-elle être envisagée comme stratégie thérapeutique dans le cas d'une addiction chez l'Homme ?.....	86
V.	Résumé.....	88
OBJECTIFS DE LA THESE.....		90
DESCRIPTION DES TECHNIQUES UTILISEES.....		93
I.	L'auto-administration de drogue.....	94
II.	Modèle de rechute.....	95

III. La stéréologie non biaisée.....	96
IV. La Tomographie par Emission de Positons (TEP)	99
MATERIELS ET METHODES.....	101
I. Procédure expérimentale comportementale utilisée pour l'ensemble des études réalisées.....	102
A. Modèle animal et condition d'hébergement.....	102
B. Cathétérisation de la veine jugulaire	102
C. Procédure d'auto-administration.....	104
D. Drogues	105
II. Procédure expérimentale suivie pour l'étude des modifications à long terme induites par une prise chronique de cocaïne : aspect vasculaire et métabolique	105
A. Schéma expérimental général.....	105
B. Procédure d'auto-administration.....	106
C. Sevrage	107
D. Perfusion et préparation des tissus	107
E. Immunohistochimie	107
F. Quantification de la longueur du réseau vasculaire par la méthode de stéréologie non biaisée	108
G. Etude du métabolisme cérébral à long terme suite à la prise chronique de cocaïne par Tomographie par Emission de Positons (TEP).....	109
H. Analyses statistiques	112
III. Procédure expérimentale suivie pour l'étude de l'effet de l'exposition à une récompense alternative pendant une période de sevrage sur le comportement de recherche de cocaïne	113
A. Procédure expérimentale générale	113
B. Procédure d'auto-administration.....	115
C. Sevrage et exposition à une roue d'activité.....	115
D. Test comportemental de recherche de drogue	116
E. Analyses statistiques	117
RESULTATS EXPERIMENTAUX	118
PROJET 1 : Etude des modifications vasculaires à long terme induites par la prise chronique de cocaïne	119
I. Résultats.....	120

A.	Auto-administration de cocaïne.....	120
B.	Effet du sevrage à la cocaïne sur le système vasculaire cérébral : analyse quantitative	122
C.	Comparaison de la densité vasculaire dans les différentes régions cérébrales du groupe témoin.....	126
II.	Discussion : Réarrangement du réseau vasculaire cérébral induit lors du sevrage suite à une prise chronique de cocaïne	127
A.	Conclusion	131
B.	Perspectives	131
	PROJET 2 : Etude des modifications à long terme du métabolisme cérébral consécutives à la prise chronique de cocaïne	133
I.	Résultats.....	135
A.	Auto-administration de cocaïne.....	135
B.	Modulation du métabolisme cérébral induite par une prise chronique de cocaïne lors de la période de sevrage	137
II.	Discussion : Modifications métaboliques induites lors du sevrage suite à la prise chronique de cocaïne	153
III.	Perspectives	159
	PROJET 3 : Etude de l'influence de l'exposition chronique à une récompense alternative pendant le sevrage sur le comportement de recherche de cocaïne chez le rat.....	160
	Article 1 : Chronic exposure to an alternative natural reward during periods of withdrawal does not reduce cocaine-seeking behavior in rats	162
	Projet 4 : Etude de l'influence de l'exposition chronique à une récompense alternative pendant le sevrage sur le comportement de recherche de cocaïne chez le rat : effet de l'exercice physique.....	195
I.	Résultats.....	197
A.	Auto-administration de cocaïne.....	197
B.	Evaluation des profils de course effectués lors de la période de sevrage.....	198
C.	Comportement de recherche de drogue	205
II.	Discussion : l'exercice physique exerce-t- il un effet anti craving dans l'addiction à la cocaïne	207
	DISCUSSION GENERALE	212
I.	Modifications cérébrales induites lors du sevrage à la cocaïne : aspect vasculaire et métabolique	213
II.	Modifications métaboliques induites à long terme, rechute	214

III. Implication du système vasculaire dans les modifications métaboliques induites à long terme	220
IV. L'exposition à une récompense alternative ne réduit par le comportement de recherche de cocaïne	221
V. Perspectives	222
A. Effets de l'exposition à l'EE sur le métabolisme cérébral	222
B. De nouveaux modèles animaux d'addiction	224

RESUME

L'addiction aux drogues est une pathologie psychiatrique chronique qui représente un problème de santé publique majeur. Malgré des avancées importantes permettant de mieux comprendre les modifications cérébrales induites par les drogues d'abus, les thérapies restent encore limitées. Ainsi, l'étude des processus cérébraux qui sous-tendent les risques de rechute à long terme semble être centrale à l'élaboration de nouvelles stratégies thérapeutiques. Une partie de cette thèse vise à déterminer les modifications cérébrales induites à long terme lors du sevrage, suite à une prise chronique de cocaïne. Notre première étude a révélé une réduction de la densité vasculaire cérébrale lors du sevrage précoce, exclusivement localisée dans le cortex cingulaire. Dans la seconde étude, nous avons mis en évidence des modifications du métabolisme cérébral et étudié leur évolution lors du sevrage. Après un mois de sevrage, période où l'on trouve le phénomène d'incubation du « craving », nous avons mis en évidence une réduction du métabolisme cortical et striatal alors que l'amygdale se voit hyperactivée témoignant d'une dérégulation des fonctions cérébrales. Enfin, nous avons caractérisé le mécanisme sous-jacent à l'effet « anti-craving » de l'environnement enrichi (EE). Nous avons émis l'hypothèse que l'EE agirait comme une récompense alternative pour diminuer la recherche de cocaïne, ainsi nous avons testé les effets de l'exposition au sucrose et à l'exercice physique sur le comportement de recherche de drogue. Nous avons montré que l'accès à une récompense alternative pendant le sevrage ne permet pas de réduire la recherche de cocaïne suggérant que l'EE n'agit pas exclusivement comme une récompense alternative.

Mots clés : addiction, cocaïne, abstinence, neuro-adaptation, récompense alternative, rechute

ABSTRACT

Drugs addiction is a chronic brain disorder representing a major public health problem. Although important advances allowed a better understanding of the cerebral modifications induced by chronic exposure to drugs, the therapies still nowadays limited. Therefore the investigation of cerebral processes that underlie the persistent risks of relapse, seem to be crucial to offer new therapeutic strategies. A part of this thesis aims at investigating the cerebral modifications induced in a long term during the withdrawal, due to a chronic voluntary intake of cocaine. In our first study we found a reduction of the density of cerebral vessels during the early withdrawal selectively localized in the cingular cortex. In our second study we found that cocaine intake leads to modifications of cerebral metabolism that evolve during the withdrawal. After one month of withdrawal, at a time when the phenomenon of incubation of craving is found, we found a decrease in cortical and striatal metabolism and a hyperactivation of the amygdala which demonstrates a persistent dysregulation of brain functioning. Finally, in our third study, we tried to dissect the mechanism underlying the anti-craving effect of the enriched environment (EE). We hypothesized that the EE acts as an alternative reward to decrease the cocaine seeking behavior. Thus we tested the effects of exposure to sucrose or the physical exercise on relapse to cocaine. We demonstrated that the access to an alternative reward during the withdrawal does not allow reducing cocaine seeking which suggests that the EE does not act exclusively as an alternative reward.

Key words: addiction, cocaine, withdrawal, neuroadaptation, alternative reward, relapse

Liste des travaux

Publications

Claudia Chauvet, Céline Nicolas, Nathalie Thiriet, Virginie Lardeux, Andrea Duranti, Marcello Solinas. **Chronic stimulation of the endogenous anandamide tone reduces cue and stress-induced relapse in rats.** The International Journal of Neuropsychopharmacology. In press.

François-Xavier Lepelletier, Clovis Tauber Ph.D, Céline Nicolas Ph.D, Marcello Solinas Ph.D, Pierre Castelnau M.D, Catherine Belzung Ph.D, Samuele Cortese M.D, Stephen V Faraone M.D, Sylvie Chalon Ph.D and Laurent Galineau Ph.D. **Prenatal exposure to methylphenidate affects the dopamine system and the reactivity to natural and synthetic reward in adulthood in rats.** The International Journal of Neuropsychopharmacology. In press.

Céline Nicolas, Claire Lafay-Chebassier, Marcello Solinas. **Chronic exposure to an alternative natural reward during periods of withdrawal does not reduce cocaine-seeking behavior in rats.** En préparation.

Communications (*L'auteur souligné est celui qui a présenté le travail*)

Nicolas Céline, Lafay-Chabassier Claire, Solinas Marcello. Exposure to an alternative reward does not reduce cocaine-seeking behavior. **Journée Recherche Tours-Poitiers**, Tours, 2012 ; **Workshop European College of Neuropsychopharmacology**, ECNP Nice, 2013 ; **11^e colloque de la Société Française des Neurosciences**, Lyon, 2013 ; **Journée de la SFR Tours-Poitiers**, Tours, 2013.

Nicolas Céline, Istin Marine, Solinas Marcello. Generalization of anti-craving effects of environmental enrichment to different classes of drugs of abuse. **European Behavioural Pharmacology Society**, EBPS La Rochelle, 2013 ; **Journée Recherche Tours-Poitiers**, Poitiers, 2013.

Solinas Marcello, Chauvet Claudia, **Nicolas Celine**, Thiriet Nathalie, Jaber Mohamed. Anti-craving effects of the cholesterol-lowering drug simvastatin in rats. **European Behavioural Pharmacology Society**, EBPS La Rochelle, 2013.

Nicolas Céline, Francheteau Maureen, Fernagut Pierre Olivier, Solinas Marcello. Long-term consequences of the chronic administration of cocaine on brain vascular structure. **9th FENS Forum**, Milan, 2014.

Solinas Marcello, Istin Marine, **Nicolas Celine**, Thiriet Nathalie. Low performance in behavioral flexibility predicts methamphetamine taking and escalating after long, but not short, periods of self-administration. **9th FENS Forum**, Milan, 2014.

Liste des illustrations

Tableau 1 : Critères de la dépendance d'après le DSM-V	25
Tableau 2 : Critères de la dépendance selon la CIM-10	26
Tableau 3 : Résumé des différences de diagnostic de la dépendance entre le DSM-IV et le DSM-V.....	27
Tableau 4 : Paramètres de quantification par stéréologie	109
Tableau 5 : Tableau récapitulatif de l'analyse par Z-scores de l'absorption de ¹⁸ F _{FDG} pour les rats ayant eu un accès limité (ShA) ou prolongé (LgA) à la cocaïne et ayant subi l'analyse métabolique en TEP-scan après 7 jours (ShA7j n=7, LgA7j n=8) et 28 jours (ShA28j n=7 et LgA28j n=8) de sevrage en comparaison au groupe contrôle (n=8)	138
Schéma 1 : Représentation schématique du procédé expérimental utilisé. Après 7 jours d'entraînement d'auto-administration de cocaïne (2h/j), les rats sont divisés en deux groupes, Short Access (ShA, 1h/j) et Long Access (LgA, 6h/j) pour 20 jours d'auto-administration. A l'issue de cette période les rats sont placés en sevrage	106
Schéma 2 : Représentation schématique de la procédure expérimentale utilisée. Après 10 jours d'auto-administration de cocaïne ou de solution saline, les rats sont placés en sevrage pendant 30 jours	114
Figure 1 : Représentation schématique du cycle de l'addiction (d'après Kreek et al., 2002) .	28
Figure 2 : Implication du patrimoine génétique, des facteurs environnementaux et des effets de la drogue sur la vulnérabilité à l'addiction.....	29
Figure 3 : La cocaïne induit une augmentation de la dopamine synaptique.	37

Figure 4 : Illustration schématique et simplifiée du système mésocorticolimbique dans le cerveau de rat	38
Figure 5 : Représentation schématique des veines superficielles du cerveau.	54
Figure 6 : Représentation schématique des veines cérébrales profondes.....	55
Figure 7 : Représentation schématique des relations cellulaires dans le système nerveux central (SNC).	56
Figure 8 : Métabolisme cérébral chez des sujets normaux et des sujets addicts à la cocaïne..	64
Figure 9 : Représentation schématique d'un environnement enrichi constitué d'un ensemble de stimulations visuelles, somatosensorielles, cognitives et motrices	73
Figure 10 : Photographies illustrant l'environnement enrichi au sein de notre laboratoire..	75
Figure 11 : Illustration schématique de la procédure de quantification par stéréologie 3-D non biaisée	98
Figure 12 : Représentation schématique d'une cellule illustrant le métabolisme du glucose et du ¹⁸ FDG.	100
Figure 13 : Photographie représentant le cathéter utilisé pour la chirurgie de cathétérisation de la veine jugulaire	103
Figure 14 : Cage d'auto-administration	104
Figure 15 : Photographie du dispositif de la caméra microTEP utilisée	110
Figure 16 : Photo du dispositif expérimental utilisé pour le sevrage avec libre accès à une roue d'activité	116

Figure 17 : Nombre de nose-pokes actifs (A) et inactifs (B) effectués au cours de la période d'entraînement (2h/jour pendant 7 jours) et de la procédure d'auto-administration de cocaïne pour les futurs groupes Short Access (ShA, 1h/jour, n=10) et Long Access (LgA, 6h/jour, n=12). Décours temporel de la prise de cocaïne (C) pendant la procédure d'auto-administration comprenant 7 jours d'entraînement avant que les rats ne soient répartis dans les deux groupes expérimentaux, ShA et LgA..... 121

Figure 18 : Illustration du marquage immunohistochimique du réseau vasculaire cérébral par l'anticorps, anti-RECA-1, sur une coupe coronale de rat du groupe contrôle..... 123

Figure 19 : Effet du sevrage à la cocaïne sur la densité vasculaire cérébrale. La quantification de la densité des vaisseaux a été réalisée après 7 ou 28 jours de sevrage pour les quatre groupes expérimentaux ShA7j, ShA28j, LgA7j et LgA28j. Des rats naïfs servent de groupe contrôle. L'analyse a été réalisée dans plusieurs régions, le cortex cingulaire antérieur (ACC), le noyau accumbens Core (NAc Core) et Shell (NAc Shell), l'aire tegmentale ventrale (VTA), l'amygdale basolatérale (BLA), l'amygdale basomédiale (BMA), et l'amygdale centrale (CeA). Pour toutes les structures, ShA7j n=5, ShA 28j n=5, LgA7j n= 5 et LgA 28j n=7. En ce qui concerne les rats contrôles, n=5 excepté pour la VTA, et les noyaux amygdaliens où n=4. L'analyse statistique a été réalisée en appliquant un test two-way ANOVA suivi par un post-hoc test de Fischer, *<0,05 comparé au groupe contrôle et au groupe LgA28j..... 125

Figure 20 : Densité vasculaire en condition basale dans les régions d'intérêts que sont le cortex cingulaire antérieur (ACC, n=5), l'aire tegmentale ventrale (VTA, n=4), le noyau accumbens Core (NAc Core, n=5) et Shell (NAc Shell, n=5), l'amygdale basolatérale (BLA, n=4), l'amygdale basomédiale (BMA, n=4) et l'amygdale centrale (CeA, n=4). L'analyse statistique a été effectuée en appliquant un test one-way ANOVA suivi par un post-hoc Student Newman Keuls, *<0,05 comparé aux six autres régions..... 126

Figure 21 : Nombre de nose-pokes actifs (A) et inactifs (B) réalisés lors de la période d'entraînement (2h/jour pendant 7 jours) et de la procédure d'auto-administration de cocaïne pour les futurs groupes Short Access (ShA, 1h/jour, n=14) et Long Access (LgA, 6h/jour, n=16). Décours temporel de la prise de cocaïne (C) pendant la procédure d'auto-administration composée de 7 jours d'entraînement avant la répartition des rats dans les deux groupes expérimentaux, ShA et LgA 137

Figure 22 : Représentation des modifications significatives de la capture de ¹⁸FDG dans le cortex orbitofrontal (OFC) des rats ayant suivi une procédure d'accès limité (ShA) ou prolongé (LgA) à la cocaïne dont l'analyse métabolique a été effectuée après 7 (ShA7j n=7, LgA7j n=8) et 28 (ShA28j n=7, LgA28j n=8) jours de sevrage par rapport au groupe contrôle

de rats naïfs (n=8). Pour chaque groupe expérimental (A, C, E, G) les variations de capture de ^{18}F FDG ont été rapportées en pourcentage par rapport au groupe contrôle pour l'hémisphère gauche et droit. L'analyse statistique a été effectuée avec un t-test, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$. Les cartes de Z-scores générées (B,D,F,H à gauche) ont été fusionnées avec des modèles IRM. De plus, un résumé des modifications sur l'axe antéro-postérieur de capture de ^{18}F FDG statistiquement significatives a été réalisé sur des coupes coronales de l'atlas Paxinos et Watson (B,D,F,G à droite) 140

Figure 23 : Illustration des modifications significatives de l'absorption de ^{18}F FDG dans le cortex cingulaire antérieur (ACC) 142

Figure 24 : Représentation des changements significatifs de l'accumulation de ^{18}F FDG dans le noyau accumbens (NAc) 144

Figure 25 : Illustration des variations significatives de l'absorption de ^{18}F FDG dans le striatum dorsal..... 146

Figure 26 : Illustration des modifications de l'activité métabolique mesurée par l'accumulation de ^{18}F FDG dans l'aire tegmentale ventrale (VTA) 148

Figure 27 : Illustration des variations de l'activité métabolique évaluée par l'accumulation de ^{18}F FDG dans la substance noire (SN)..... 150

Figure 28 : Représentation des variations de l'activité métabolique mesurée par l'accumulation de ^{18}F FDG dans l'amygdale 152

Figure 29 : Nombre de nose-pokes actifs (A) et inactifs (B) effectués au cours des sessions d'auto-administration par les futurs groupes Saline Sédentaire (Fut Sal Sed, n=6), Saline Exercice (Fut Sal Exe, n=7), Cocaïne Sédentaire (Fut Coc Sed, n=10) et Cocaïne Exercice (Fut Coc Exe, n=10). Décours temporel de la prise (C) et prise totale (D) de cocaïne pendant les 10 sessions d'auto-administration. Il est important de noter que la prise de cocaïne ne diffère pas entre les deux groupes expérimentaux, futur cocaïne sédentaire (Fut Coc Sed) et futur cocaïne exercice (Fut Coc Exe) 198

Figure 30 : Distance parcourue sur la période « nuit » (A) sur la période « jour » (B) et la journée entière (C) au cours des 30 jours de sevrage, pour les deux groupes Saline Exercice

(Sal Exe, n=7) et Cocaïne Exercice (Coc Exe, n=10). Pourcentage de course effectuée sur la période « nuit » par rapport à la course réalisée sur une journée, pendant les 30 jours de sevrage (D)..... 201

Figure 31 : Distance parcourue sur la période « nuit » (A), la période « jour » (B) et la journée entière (C) pendant les 5 premiers jours de sevrage pour les deux groupes Saline Exercice (Sal Exe, n=7) et Cocaïne Exercice (Coc Exe, n=10). Pourcentage de course effectuée pendant la période « nuit » en fonction de la course réalisée sur une journée, pendant les 5 premiers jours de sevrage (D)..... 203

Figure 32 : Distribution individuelle des rats des deux groupes, saline et cocaïne, en fonction de la distance totale parcourue lors des 30 jours de sevrage 204

Figure 33 : L'activité physique pendant la période de sevrage n'a pas d'effet sur le comportement de recherche de cocaïne. Décours temporel de la recherche de cocaïne (A) et cumul total de la recherche de cocaïne (B), mesuré par le nombre de nose-pokes actifs effectués pendant les 6h de session chez les rats préalablement exposés à la saline ou à la cocaïne et ayant eu accès à une roue d'activité bloquée (Sal Sed n=6, Coc Sed n=10) ou fonctionnelle (Sal Exe n=7, Coc Exe n=10) pendant les 30 jours de sevrage..... 206

Figure 34 : Modèle proposant un réseau de quatre circuits impliqués dans l'addiction : la récompense (comprenant la VTA et le NAc), la conduite motivationnelle (comprenant le striatum dorsal), la mémoire (comprenant l'amygdale et l'hippocampe) et le contrôle (comprenant le PCF avec l'ACC et l'OFC) 219

Liste des abréviations

ACA : Artère Cérébrale Antérieure

ACC : Cortex Cingulaire Antérieur

ACM : Artère Cérébrale Moyenne

AMPH : Amphétamine

AMY : Amygdale

BCAEC : Cellules Endothéliales Coronariennes Artérielles Bovines

BDNF : Brain Derived Neurotrophic Factor

BHE : Barrière Hémato-Encéphalique

BLA : Amygdale Basolatérale

BMA : Amygdale Basomédiane

BNST : Bed Nucleus of the Stria Terminalis

BSA : Sérum d'Albumine Bovine

CeA : Amygdale Centrale

CMI-10 : Classification statistique Internationale des Maladies et des problèmes de santé connexes – 10^{ème} édition

COMT : Catéchol-O-Methyltransférase

CPP : Préférence de Place Conditionnée

CPu : Noyau Caudé Putamen

CRF : Corticotropin-Releasing Factor

DA : Dopamine

DAB : 3,3'-Diaminobenzidine

DAT : Transporteur à la Dopamine

DOPAC : 3,4-Dihydroxyphenylacetic acid

DSM-V : Diagnostic and Statistical manual of Mental disorders - 5^{ème} édition

EE : Environnement enrichi

¹⁸FDG : 2-deoxy-2-(¹⁸F)fluoro-d-glucose

FR1 : Ratio Fixe de 1

HP : Hippocampe

5-HT : Sérotonine

IE : Condition d'hébergement isolée

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

IRMf : Imagerie par Résonance Magnétique fonctionnelle

MAO : Monoamine Oxydase

METH : Méthamphétamine

NAc : Noyau Accumbens

NE : Norépinéphrine

OFC : Cortex Orbitofrontal

OFDT : Observatoire Français des Drogues et des Toxicomanies

6-OHDA : 6-Hydroxydopamine

PB : Phosphate Buffer

PBS : Phosphate Buffer Saline

PFA : Paraformaldéhyde

PFC : Cortex Préfrontal

SC : Groupe Sucrose Continu

SN : Substance Noire

SNC : Système Nerveux Central

Str D : Striatum Dorsal

TEP : Tomographie par Emission de Positons

VP : Pallidum Ventral

VTA : Aire Tegmentale Ventrale

INTRODUCTION

Chapitre 1 : L'Addiction

I. Un problème de santé publique

L'addiction aux drogues est un problème de santé publique dans les pays industrialisés de par l'augmentation de la disponibilité de ces drogues et de leur expérimentation par la population. En France, une étude de 2010, menée sur une cohorte d'individus âgés de 18 à 44 ans, montre que la prévalence de la consommation de drogues illicites n'a cessé d'augmenter depuis les années 2000. En effet, 45% des 18-44 ans ont déjà expérimenté le cannabis, 5,6% la cocaïne, 4,8% l'amphétamine (AMPH) et 1,7% l'héroïne (OFDT, www.ofdt.fr).

Après le cannabis, la cocaïne est la seconde drogue illicite la plus consommée en France. En effet, sa circulation au sein du territoire a nettement augmenté permettant ainsi une démocratisation de son usage alors qu'elle était, jusqu'alors, principalement consommée par les classes sociales aisées (OFDT, www.ofdt.fr). De plus, la prévalence de la consommation de cocaïne chez les 18-44 ans a doublé entre les années 2000 et 2010, passant de 2,5% à 5,6% (OFDT, www.ofdt.fr). De surcroît, une évolution des tranches d'âge des personnes ayant déjà expérimenté la cocaïne a également pu être démontrée puisqu'elle apparaît maximale pour les 26-34 ans. Enfin, en 2010, toutes les tranches d'âge en dessous de 50 ans comptaient de nouveaux expérimentateurs (*Tendance n°76*, OFDT).

L'ensemble de ces données épidémiologiques mettent en évidence l'augmentation du nombre de personnes consommant de la cocaïne mais également du nombre d'hospitalisations pour des problèmes de consommation de drogues (Drogues, Chiffres clés, Janvier 2012, Drogues et addictions, données essentielles, OFDT). Cette constatation met l'accent sur la nécessité de mieux comprendre les mécanismes cérébraux sous-jacent aux comportements additifs afin de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques pour palier à cette pathologie qu'est l'addiction à la cocaïne.

II. Définition

L'addiction est une pathologie cérébrale chronique caractérisée par une recherche et une prise compulsive de drogue, une perte de contrôle sur la prise en dépit des conséquences négatives et l'émergence d'un état affectif négatif lorsque la drogue n'est plus disponible (Leshner, 1997; Koob et al., 1998; Hyman and Malenka, 2001; Kreek et al., 2002). De plus, l'addiction est également marquée par un très fort taux de rechute qui persiste même après une longue période d'abstinence lorsque les symptômes de sevrage ont disparu (Hyman and Malenka, 2001).

D'un point de vue clinique, la définition et le diagnostic de la dépendance aux drogues d'abus se basent sur deux manuels : le DSM-V (Diagnostic and Statistical manual of Mental disorders - 5^{ème} édition) (Tableau 1) et la CIM-10 (Classification statistique Internationale des Maladies et des problèmes de santé connexes – 10^{ème} édition ; *Organisation Mondiale de la Santé, 1992*) (Tableau 2). Le DSM-V, édité en 2013, a fait débat au sein de la sphère médicale et scientifique. En effet, dans ce nouveau manuel, il n'y a plus de distinction entre l'abus et la dépendance mais une nouvelle catégorie apparaît sous le nom de « Substance-Related and Addictive Disorders » englobant l'ensemble des troubles addictifs liés à l'utilisation d'une substance. Les critères de diagnostic ont vu évoluer leur nombre d'items, passant de 7 pour le diagnostic de la dépendance selon le DSM-IV, à 11 pour le DSM-V. Ces nouveaux items mettent l'accent sur les problèmes psychosociaux associés à l'utilisation de la substance et introduisent un item dédié au « craving », ce désir irrésistible pour la substance utilisée. Enfin, l'autre changement au sein du DSM-V est la diminution du seuil d'entrée dans le diagnostic qui n'exige plus que la présence d'au moins 2 des 11 critères au cours des 12 derniers mois, alors que le DSM-IV en nécessitait 3 (Tableau 3).

A. A pattern of substance use leading to clinically significant impairment or distress, as manifested by **at least two of the following**, occurring within a 12-month period:

- 1- The substance is often taken in larger amounts or over a longer period than was intended.
 - 2- There is a persistent desire or unsuccessful efforts to cut down or control substance use.
 - 3- A great deal of time is spent in activities necessary to obtain the substance, use the substance, or recover from its effects.
 - 4- Craving, or a strong desire or urge to use the substance.
 - 5- Recurrent substance use resulting in a failure to fulfill major role obligations at work, school, or home.
 - 6- Continued substance use despite having persistent or recurrent social or interpersonal problems caused or exacerbated by the effects of the substance.
 - 7- Important social, occupational, or recreational activities are given up or reduced because of substance use.
 - 8- Recurrent substance use in situations in which it is physically hazardous.
 - 9- Substance use is continued despite knowledge of having a persistent or recurrent physical or psychological problem that is likely to have been caused or exacerbated by the substance.
 - 10- Tolerance, as defined by either of the following:
 - a. A need for markedly increased amounts of the substance to achieve intoxication or desired effect.
 - b. A markedly diminished effect with continued use of the same amount of the substance.
- Note: This criterion is not considered to be met for those taking substance medications solely under appropriate medical supervision, such as medications for attention- deficit/hyperactivity disorder or narcolepsy.
- 11- Withdrawal, as manifested by either of the following:
 - a. The characteristic withdrawal syndrome for the substance
 - b. The substance is taken to relieve or avoid withdrawal symptoms.

DSM-V : Diagnostic and Statistical manual of Mental disorders - 5ème édition ; American Psychiatric Association, 2013

Tableau 1 : Critères de la dépendance d'après le DSM-V.

Le diagnostic d'une dépendance nécessite l'apparition d'**au moins trois des manifestations suivantes**, en même temps, au cours de la dernière année :

- 1- Désir puissant ou compulsif d'utiliser une substance psychoactive
- 2- Difficultés à contrôler l'utilisation de la substance (début ou interruption de la consommation au niveau de l'utilisation)
- 3- Emergence d'un syndrome de sevrage physiologique quand le sujet diminue ou arrête la consommation d'une substance psychoactive, comme en témoignent la survenue d'un syndrome de sevrage caractéristique de la substance, ou l'utilisation de la même substance (ou d'une substance apparentée) pour soulager ou éviter les symptômes de sevrage
- 4- Mise en évidence d'une tolérance aux effets de la substance psychoactive : le sujet a besoin d'une quantité plus importante de la substance pour obtenir l'effet désiré
- 5- Désintérêt progressif pour toute autre activité au profit de l'utilisation de la substance psychoactive, et augmentation du temps passé à se la procurer, la consommer ou récupérer ses effets
- 6- Poursuite de la consommation de la substance malgré ses conséquences nocives.

CIM-10 : Classification statistique Internationale des Maladies et des problèmes de santé connexes – 10ème édition ; Organisation Mondiale de la Santé, 1992

Tableau 2 : Critères de la dépendance selon la CIM-10

Diagnostic Criteria	DSM-IV	DSM-V
	Dependence	Substance use disorder
Using more or over a longer period than was intended	×	×
Persistent desire/unsuccessful efforts to cut down	×	×
Great deal of time spent in activities to obtain substance	×	×
Craving	—	×
Failure to fulfill obligations	—	×
Social/interpersonal problems	—	×
Neglect of important activities	×	×
Hazardous use	—	×
Psychological/Physical problems	×	×
Tolerance	×	×
Withdrawal	×	×
Diagnostic Threshold	≥ 3 Criteria	≥ 2 Criteria

Tableau 3 : Résumé des différences de diagnostic de la dépendance entre le DSM-IV et le DSM-V

Bien que les nouveaux critères de diagnostic du DSM-V aient fait débat au sein de la communauté médicale, ces manuels de diagnostic sont des outils indispensables et couramment utilisés pour le diagnostic de dépendance liée à l'usage d'une substance.

III. Le cycle de l'addiction

Le phénomène d'addiction peut être décomposé en différentes phases successives qui constituent un cycle (Figure 1).

La première, la phase d'acquisition, correspond à la première exposition de l'individu à la drogue. Par la suite, l'individu va augmenter sa fréquence de consommation, passant progressivement d'une prise intermittente à une prise régulière appelée phase de maintien ou d'intoxication. Cette phase est largement associée aux effets récompensants de la drogue, l'individu est alors soumis aux effets physiques et psychiques de la drogue (Koob and Le Moal, 2001a). L'individu bascule ensuite d'un usage régulier à une consommation non contrôlée qui, progressivement, aboutira à l'addiction. Par la suite, le sujet peut entrer dans une phase d'abstinence qui est volontaire ou non, et qui se conclut, dans plus de 80% des cas lors d'une addiction à la cocaïne, par une rechute. Le sujet replonge alors dans la phase précédente de consommation non contrôlée de la substance et donc, dans l'addiction.

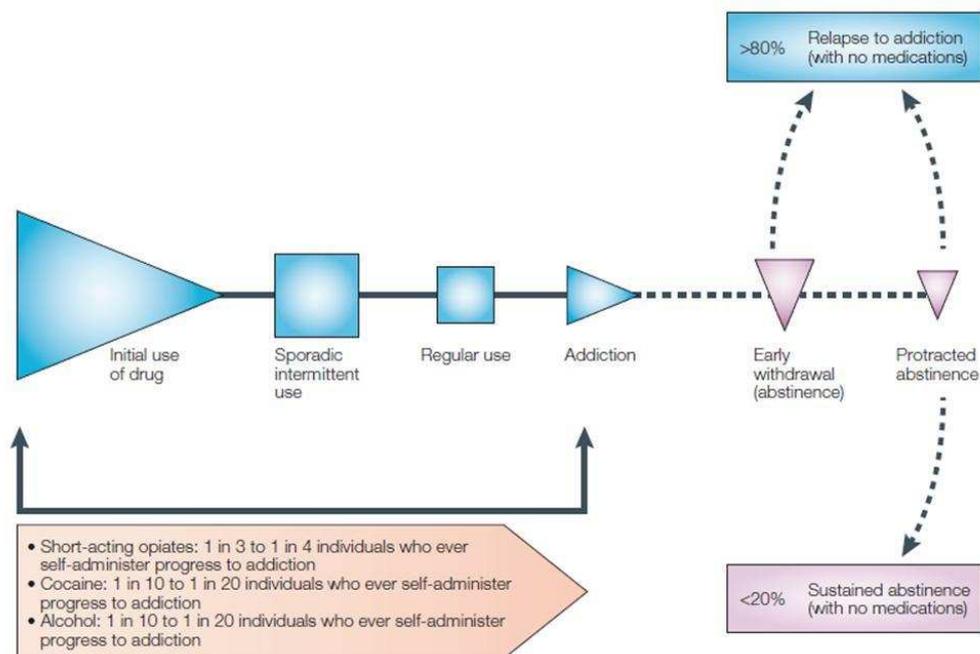


Figure 1 : Représentation schématique du cycle de l'addiction (d'après Kreek et al., 2002)

IV. Différences interindividuelles et facteurs de vulnérabilité

Bien que le nombre de personnes expérimentant des drogues d'abus pendant leur vie soit important, seul un faible pourcentage (15 à 20%) de ces individus développe une addiction (Hyman and Malenka, 2001). En effet, la transition entre une prise contrôlée de

drogue et la mise en place d'un comportement compulsif de la consommation est la résultante de l'interaction entre des facteurs de vulnérabilité, rendant l'individu plus sensible aux effets renforçants des drogues. Ces facteurs de vulnérabilité englobent la composante génétique, mais aussi environnementale et la drogue elle-même (Kreek et al., 2002) (Figure 2). Chacun de ces trois facteurs représente individuellement un facteur de risque de vulnérabilité à développer une addiction, mais ce risque est potentialisé lorsque plusieurs de ces facteurs sont associés.

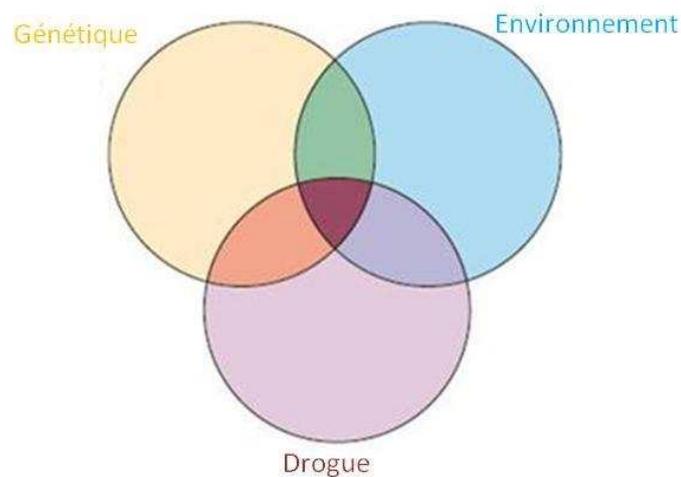


Figure 2 : Implication du patrimoine génétique, des facteurs environnementaux et des effets de la drogue sur la vulnérabilité à l'addiction. Chacun de ces facteurs présente un risque de vulnérabilité à l'addiction qui sera augmenté lorsque plusieurs de ces facteurs sont combinés (D'après Kreek et al., 2002).

A. Les facteurs génétiques

Parmi l'ensemble des individus consommant de façon occasionnelle et récréative des drogues d'abus, seule une faible proportion développe une addiction pour la substance consommée. Partant de ce constat, l'hypothèse de l'existence d'une vulnérabilité intrinsèque à l'individu a été avancée. Il existerait donc des facteurs de vulnérabilité génétique chez certains individus les rendant plus vulnérables à développer une addiction.

Ces différences génétiques pourraient expliquer, en partie, pourquoi certains individus consomment toute leur vie des drogues de façon contrôlée alors que d'autres perdent le contrôle sur leur consommation et plongent dans un comportement addictif.

Les premières études sur l'influence de la composante génétique dans la vulnérabilité à développer une addiction ont montré l'implication du gène codant pour le récepteur à la dopamine D2. Ces études ont été menées majoritairement sur des cohortes de patients alcooliques. Plus particulièrement, Blum et ses collaborateurs ont montré que des individus exprimant un allèle spécifique (A1) du gène codant pour le récepteur dopaminergique D2 avaient une vulnérabilité accrue pour l'alcoolisme (Blum et al., 1990; Noble, 2000). Par la suite, des études épidémiologiques ont étendu l'influence de l'allèle A1 du gène codant le récepteur dopaminergique D2 à l'addiction à d'autres classes de drogues comme les psychostimulants (cocaïne et AMPH), les opiacés (héroïne) et la nicotine (Comings and Blum, 2000; Noble, 2000). Par ailleurs, afin de mieux évaluer l'influence de la carte génétique dans la vulnérabilité à l'addiction, de nombreuses études cliniques ont été réalisées sur des jumeaux et des enfants adoptés (Koob and Le Moal, 2001a). Les études sur des jumeaux ont mis en avant l'importance de l'influence génétique dans la mise en place d'une addiction à l'alcool (Heath et al., 1997). Ainsi, les jumeaux monozygotes montrent un plus fort taux d'alcoolisme que les jumeaux dizygotes (Koob and Le Moal, 2001a). Parallèlement, des études épidémiologiques effectuées chez des enfants adoptés montrent que des enfants de parents biologiques alcooliques et placés dans une famille d'adoption, développent eux-mêmes plus souvent une addiction à l'alcool que des enfants adoptés « contrôles » nés de parents biologiques non alcooliques (Koob and Le Moal, 2001a). Des conclusions similaires ont été amenées pour l'addiction au tabac (Koob and Le Moal, 2001a).

De plus, des études en neuro-imagerie, effectuées chez des sujets issus de familles avec une prévalence importante pour l'alcoolisme mais n'ayant, eux-mêmes, pas développé cette pathologie, montrent un niveau d'expression élevé des récepteurs dopaminergiques D2 dans le striatum (Volkow et al., 2009). Des données similaires ont été obtenues pour la réponse aux psychostimulants. En effet, les individus ayant un niveau élevé de récepteurs dopaminergiques D2 dans le striatum ont un effet aversif aux psychostimulants par rapport aux individus avec un faible niveau d'expression de ces mêmes récepteurs (Volkow et al.,

1999). La forte expression des récepteurs dopaminergiques D2 semble donc être protectrice envers l'addiction aux drogues, et notamment, l'alcool et les psychostimulants. Bien que le gène codant le récepteur dopaminergique D2 soit considéré comme le gène candidat majeur dans la vulnérabilité à l'addiction, d'autres gènes ont pu être identifiés comme jouant un rôle dans la susceptibilité à cette psychopathologie. Il s'agit, entre autres, des gènes codant pour les enzymes de type monoamine oxydase (MAO), et catéchol-oxy-méthyltransférase (COMT) ainsi que pour le transporteur de la dopamine (DAT) (Blum et al., 1990; Comings and Blum, 2000).

B. Les facteurs environnementaux

Le terme « environnement » englobe une variété de facteurs divers tels que le niveau socio-économique, les conditions de vie familiale, les relations sociales auxquelles un individu va être exposé pendant sa vie pré- et post-natale et qui pourront influencer les réponses cérébrales et comportementales de sa vie future. De façon générale, les facteurs environnementaux négatifs (niveau socio-économique faible, maltraitance, faibles relations sociales, faible niveau d'éducation) vont rendre les individus plus vulnérables au développement d'une addiction (De Bellis, 2002). Chez des modèles animaux d'addiction, il a largement été décrit que diverses conditions stressantes, telles qu'une agression sociale, un stress physique ou chimique et même un stress prénatal, augmentent la vulnérabilité individuelle face à l'acquisition d'un comportement d'auto-administration de drogue, ou encore, accroît la rechute lors de la période d'abstinence (Piazza and Le Moal, 1996; De Bellis, 2002).

A l'opposé, des conditions de vie positives et stimulantes (bonnes relations familiales et sociales, haut niveau d'éducation, pratique d'activités stimulantes) sont protectrices envers l'addiction aux drogues. En laboratoire, des conditions de vie positives peuvent être modélisées par un EE (Voir Chapitre 4 « *Influence de l'exposition à un environnement positif sur les comportements addictifs* »). L'hébergement de rongeurs dans un tel environnement a permis de démontrer que l'EE possède à la fois des effets préventifs et curatifs sur des modèles animaux d'addiction (Solinas et al., 2010a). En effet, de nombreuses études ont

montré que l'exposition de souris à un EE permet de diminuer la réponse comportementale face à diverses drogues d'abus. Ainsi, des souris élevées en EE présentent une diminution de la sensibilisation comportementale à l'AMPH (Bardo et al., 1995b), à la nicotine (Adams et al., ; Green et al., 2003), à la morphine (Bardo et al., 1995a) et à la cocaïne (Solinas et al., 2009). L'effet préventif de l'EE a également été démontré dans des modèles d'auto-administration ; des rats élevés en EE s'auto-administrent moins d'AMPH (Bardo et al., 2001; Green et al., 2002) et de cocaïne (Gipson et al., ; Puhl et al., 2012) que des rats contrôles. De plus, les rats hébergés en EE ont une motivation diminuée pour la prise d'AMPH (Bardo et al., 2001; Green et al., 2002) et montrent un niveau de rechute également abaissé (Stairs et al., 2006). Les vertus positives de l'EE ont pu, par la suite, être élargies vers un effet « curatif » dans l'addiction. En effet, l'exposition des animaux à l'EE après l'exposition à la drogue a permis de montrer une diminution de la sensibilisation comportementale induite par la cocaïne dans un modèle de souris (Solinas et al., 2008; Chauvet et al., 2011a). De plus, l'exposition de rats à un EE pendant une période de sevrage consécutive à une procédure d'auto-administration de cocaïne permet de diminuer le comportement de recherche de drogue.

Parallèlement aux études effectuées sur l'EE, plusieurs travaux rapportent un effet bénéfique d'une stimulation environnementale *via* des récompenses alternatives sur les comportements addictifs. Par exemple, Vendruscolo et ses collaborateurs ont montré que la consommation de sucrose chez le rat, pendant la période d'adolescence, diminue la réponse comportementale aux drogues à l'âge adulte, notamment la consommation d'alcool (Vendruscolo et al., 2010a) . De plus, dans des procédures d'auto-administration, où le rat doit choisir entre la cocaïne et une solution sucrée, l'animal montre une nette préférence pour la solution sucrée (Lenoir et al., 2007; Ahmed, 2012). Ainsi, l'accès à des stimulations environnementales moins complexes que l'EE, comme par exemple une solution sucrée qui est une récompense pour les rongeurs, conduit à des effets bénéfiques envers les comportements addictifs.

Par ailleurs, l'influence de l'environnement sur la vulnérabilité aux drogues a pu être mise en évidence dans des études de dominance chez le singe. En effet, des singes élevés individuellement puis assignés par la suite dans des groupes sociaux de quatre individus

montrent une modification de la fonction dopaminergique en fonction du rang social. Les singes dominants présentent une augmentation du niveau d'expression des récepteurs dopaminergiques D2 par rapport aux singes subordonnés et cet effet est associé à une diminution de la prise de cocaïne (Morgan et al., 2002). Cette étude met donc en avant l'implication des modifications environnementales dans la genèse de modifications cérébrales, avec, pour conséquences, des changements comportementaux majeurs comme par exemple la vulnérabilité à la cocaïne.

L'effet protecteur d'une stimulation environnementale sur l'addiction aux drogues est développé dans le chapitre 4 « *Influence de l'exposition à un environnement positif sur les comportements addictifs* » et le chapitre 5 « *Effet de l'exposition à une récompense alternative sur les comportements addictifs* ».

C. L'influence de la drogue

La mise en place d'une addiction résulte du passage d'une prise occasionnelle de drogue à une prise chronique, compulsive, par l'individu. La prise chronique de drogue va engendrer des neuro-adaptations durables au niveau du cerveau (Leshner, 1997; Hyman and Malenka, 2001) qui vont rendre l'individu vulnérable aux effets renforçants des drogues et ainsi jouer un rôle prépondérant dans le maintien de la consommation. Plus spécifiquement, les neuro-adaptations moléculaires et cellulaires induites par les drogues sont observées au niveau du circuit de la récompense qui a un rôle physiologique dans la motivation et l'appétence pour les récompenses naturelles (Robinson and Berridge, 2003). Le modèle de la sensibilisation comportementale a été un modèle instrumental de référence pour mettre en évidence les changements durables induits par la prise chronique de drogue. En effet, l'administration répétée de drogue provoque une sensibilisation du circuit neuronal de la récompense induisant alors une augmentation des effets des drogues au fil du temps (Robinson and Berridge, 2003). De façon générale, l'utilisation chronique de cocaïne altère le fonctionnement cérébral, notamment en ciblant le système dopaminergique dans le noyau accumbens (NAc), qui entraîne le renforcement positif de la drogue. En effet, une diminution significative du niveau basal de dopamine (DA), ainsi qu'une diminution de l'élévation de DA

suite à chaque injection de cocaïne, est mesurée dans le NAc et le striatum dorsal (Str D) après une administration en « binge » de cocaïne (Maisonneuve et al., 1995). A l'inverse, suite à une administration chronique de cocaïne, une augmentation de la libération de DA induite par la cocaïne est observée dans ces mêmes régions (Kalivas and Duffy, 1993; Pierce and Kalivas, 1997). Dans les modèles animaux, les effets de la prise chronique de drogue semblent donc être modulés par le mode d'administration de la drogue. De surcroît, la prise répétée de drogue permettrait de conférer à un stimulus initialement neutre, une valeur motivationnelle et incitative de type Pavlovien. Ce processus conditionné joue un rôle important dans l'émergence d'un état de manque et de désir irrésistible de consommer la substance (le « craving »), augmentant alors la vulnérabilité à la rechute (Dackis and O'Brien, 2001; Robinson and Berridge, 2003).

Par ailleurs, des études réalisées sur des modèles animaux d'auto-administration de drogue et chez l'Homme ont mis en avant une diminution de l'activité cérébrale suite à la prise chronique de drogue. En effet, il a été mis en évidence que l'effet récompensant d'une stimulation électrique intracérébrale est diminué suite à une administration chronique de cocaïne (Ahmed et al., 2002b). De plus, l'accès répété et sur de longues périodes à la cocaïne induit une escalade de la prise par les rats au fil des sessions (Ahmed and Koob, 1998) mettant en avant une augmentation du seuil hédonique. De surcroît, une étude récente, menée par Willuhn et ses collaborateurs, montre que la libération phasique de dopamine dans le striatum diminue au fil des sessions d'auto-administration de cocaïne (Willuhn et al.). Ainsi, il semblerait que les modifications comportementales dues à la consommation répétée de cocaïne soient liées, au moins en partie, à une diminution fonctionnelle du système de la récompense et plus particulièrement du système dopaminergique. L'hypofonctionnalité de ce système a été également mis en évidence chez des sujets addicts à la cocaïne grâce à des études de neuro-imagerie (Volkow et al., 1990a; Volkow et al., 1993; Volkow et al., 1997b; Goldstein and Volkow, 2002; Parvaz et al., 2011). La mise en place des phénomènes neuro-adaptatifs induits par la prise chronique de cocaïne sera développée plus en détails dans le chapitre suivant, Chapitre 2 « *La Cocaïne* ».

Chapitre 2 : La Cocaïne

I. Historique

La cocaïne est un alcaloïde extrait des feuilles du cocaïer « *Erythroxylon coca* », plante originaire d'Amérique du Sud, dans la cordillère des Andes. La transformation de la feuille de coca amène à différents modes de consommation. L'utilisation du cocaïer remonte à plus de 5000 ans où il était utilisé comme plante sacrée lors des cérémonies religieuses. Par la suite, les feuilles de coca ont été fumées ou utilisées dans des tisanes afin de bloquer la faim et la fatigue. A partir des feuilles de coca, une pâte masticatoire de coca est obtenue mais peu consommée. Cette pâte permet la fabrication du chlorhydrate de cocaïne, poudre blanche, qui est la forme de cocaïne la plus consommée par injection, inhalation ou ingestion. L'utilisation première de la cocaïne a été réalisée pour ses vertus médicinales. En effet, la cocaïne possède des propriétés d'anesthésique local et a également été employée dans le traitement des troubles respiratoires comme l'asthme, la tuberculose ou les insuffisances respiratoires. De plus, la cocaïne a également été utilisée, à Vienne par Sigmund Freud à la fin du 19^e siècle, pour ses vertus euphorisantes et comme substitut dans l'addiction à l'alcool, la morphine et l'opium.

A la fin du 19^e siècle, la cocaïne est introduite dans des produits du quotidien comme par exemple, le chewing-gum, les cigares et cigarettes, ainsi que dans le coca-cola et le vin Mariani (A brief history of cocaine. Steven B. Karch, 2006). Ainsi au début du 20^e siècle, les doses de cocaïne consommées étaient très élevées, précipitant de nombreux cas d'addiction. Suite à ce constat, les Etats-Unis ont mis en place une réglementation de la distribution et de l'utilisation de cocaïne par l'adoption en 1914 du « Harrison Act » qui interdit l'usage non médical de la cocaïne et son importation afin également de diminuer la criminalité liée à l'usage de cette drogue.

En France, il a fallu attendre le début du 20^e siècle pour qu'un texte de loi interdise la consommation de drogue et qu'une liste des stupéfiants soit publiée. Bien que la cocaïne ait longtemps été consommée dans le cercle fermé des classes aisées, son utilisation est maintenant démocratisée, notamment suite à la baisse de son prix et l'augmentation de sa

disponibilité, avec un record historique des saisies en 2011 de 11 tonnes (OFDT). Aujourd'hui la cocaïne, sous sa forme chlorhydrate, est la drogue illicite la plus consommée après le cannabis, ce qui en fait un problème de santé publique majeur.

II. Effets neurobiologiques

A. Mode d'action, cibles moléculaires

La cocaïne est un psychostimulant possédant des effets anti-fatigue, euphorisants et stimulants. Comme la majorité des psychostimulants, la cible pharmacologique première de la cocaïne est le système monoaminergique. La cocaïne agit en bloquant les transporteurs aux monoamines situés au niveau des terminaisons synaptiques monoaminergiques. Ainsi la cocaïne va bloquer la recapture des trois principaux neurotransmetteurs à monoamines que sont la dopamine (DA), la sérotonine (5-HT) et la norépinéphrine (NE), et par conséquent, augmenter la transmission monoaminergique sera augmentée (Rothman et al., 2001; Broderick et al., 2003).

Bien que la cible pharmacologique principale de la cocaïne englobe le système monoaminergique de façon générale, les effets locomoteurs stimulants et les propriétés renforçantes de la cocaïne semblent être attribués à son action sur le système dopaminergique mésocorticolimbique (Ritz et al., 1987). Au niveau des terminaisons neuronales dopaminergiques, la cocaïne va se fixer sur le DAT, bloquant alors la recapture de la DA et provoquant une augmentation du taux de ce neurotransmetteur dans la synapse (Figure 3) (Kuhar et al., 1991). Cette accumulation synaptique de DA va accroître la transmission dopaminergique, mécanisme crucial pour la mise en place des effets locomoteurs et renforçants de la cocaïne. Des études de microdialyse ont mis en évidence une augmentation rapide et dose-dépendante du taux de DA extracellulaire suite à une injection aigüe de cocaïne, notamment dans le noyau accumbens (NAc), le noyau caudé putamen (CPu) et le cortex préfrontal (PFC) (Church et al., 1987; Ritz et al., 1987; Maisonneuve and Kreek, 1994). De plus, des études, réalisées sur des souris Knock-Out pour

le DAT, ont mis en avant l'implication de ce transporteur dans les effets, notamment locomoteurs, de la cocaïne puisque ces souris ne montrent pas d'augmentation locomotrice suite à l'injection de cocaïne (Giros et al., 1996). Enfin, l'importance de la DA dans les effets renforçants de la cocaïne a été mise en évidence dans des modèles animaux suite à la lésion des terminaisons dopaminergiques dans le NAc ou à l'inhibition, par des antagonistes, des récepteurs dopaminergiques, qui abolissent le comportement d'auto-administration de cocaïne (De Wit and Wise, 1977; Pettit et al., 1984; Zito et al., 1985; Giros et al., 1996).

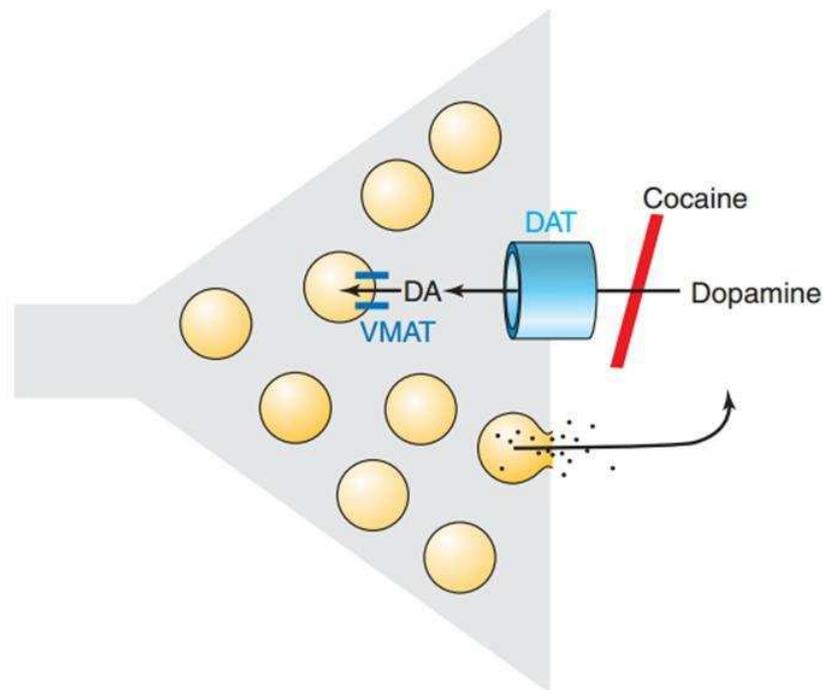


Figure 3 : La cocaïne induit une augmentation de la dopamine synaptique. La cocaïne bloque le transporteur de recapture de la dopamine (DAT) localisé au niveau de la membrane pré-synaptique provoquant alors une augmentation accrue de dopamine dans la synapse (Hyman et al., 2006b)

B. Les circuits neuronaux impliqués dans l'addiction aux drogues : le système mésocorticolimbique

La cocaïne, comme les autres drogues d'abus, agit principalement au niveau cérébral sur le circuit de la récompense qui, dans des conditions physiologiques, est impliqué dans les effets récompensants et renforçants de stimuli naturels (nourriture, eau, sexe) (Salamone et al., 2005). Ce circuit, appelé le système mésocorticolimbique, est constitué de neurones dopaminergiques dont les corps cellulaires sont situés au niveau de l'aire tegmentale ventrale (VTA) (Figure 4). Ces neurones émettent des projections vers deux grands types de structures : limbiques (circuit mésolimbique) et corticales (circuit mésocortical). Les régions de projections limbiques comptent le noyau accumbens (NAc), l'amygdale (AMY), l'hippocampe (HP) et le pallidum ventral (VP) (Feltenstein and See, 2008). Les régions corticales quant à elles comprennent le cortex préfrontal (PFC), le cortex orbitofrontal (OFC) et le cortex cingulaire antérieur (ACC).

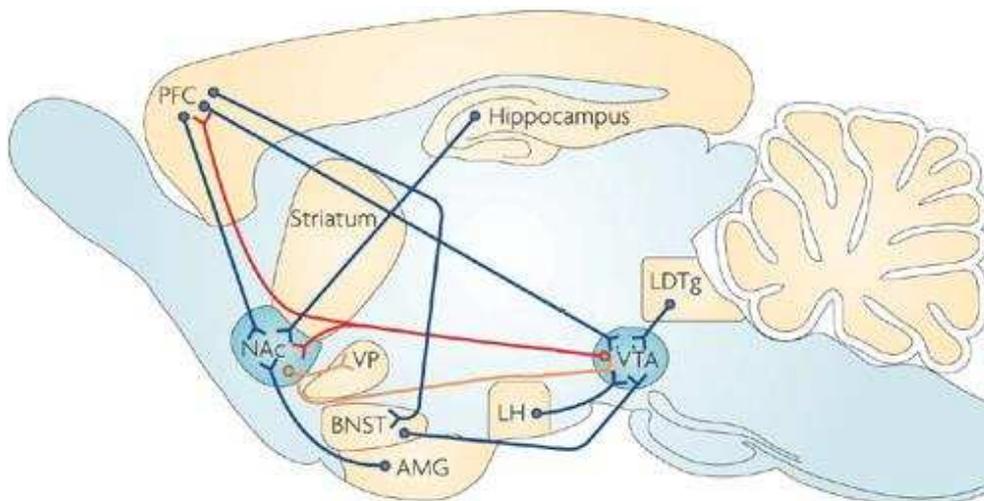


Figure 4 : Illustration schématique et simplifiée du système mésocorticolimbique dans le cerveau de rat mettant en avant les principales efférences du noyau accumbens (NAc) et de l'aire tegmentale ventrale (VTA). Les neurones dopaminergiques issus de la VTA (en rouge) projettent vers le NAc et le cortex préfrontal (PFC). Ces neurones sont contrôlés par les systèmes GABAergiques (en orange) et glutamatergiques (en bleu). Les neurones glutamatergiques proviennent du PFC, de l'amygdale, de l'hippocampe et du Bed Nucleus of the Stria Terminalis (BNST), et projettent notamment vers la VTA et le NAc. Les neurones GABAergiques issus du NAc projettent vers la VTA. PFC : cortex préfrontal ; NAc : noyau accumbens ; VP : pallidum ventral ; BNST : bed nucleus of the stria terminalis ; LH : hypothalamus latéral ; VTA : aire tegmentale ventrale. (Kauer and Malenka, 2007).

1. Circuits neuronaux impliqués dans les effets renforçants de la cocaïne.

a. L'Aire Tegmentale Ventrale (VTA)

La VTA est majoritairement composée de neurones dopaminergiques qui sont la cible pharmacologique des drogues d'abus. Ces neurones sont régulés par a) les neurones GABAergiques, seconde population neuronale présente au sein de la VTA, b) les afférences GABAergiques inhibitrices provenant du NAc et c) les afférences excitatrices glutamatergiques émises par le PFC (White, 1996) (Figure 4). Au niveau fonctionnel, par ses afférences dopaminergiques sur le NAc, la VTA est responsable des effets récompensants des facteurs naturels mais également des drogues d'abus (Koob and Le Moal, 1997). En effet, une lésion de la VTA par une injection de 6-OHDA induit une sévère réduction du comportement d'auto-administration de cocaïne (Roberts and Koob, 1982), démontrant le rôle critique du système dopaminergique de la VTA dans les effets récompensants de la cocaïne.

b. Le Noyau Accumbens (NAc)

Le NAc est la région cible de l'action pharmacologique des drogues car c'est au niveau de cette région que les drogues vont induire une augmentation du taux de DA extracellulaire (Bradberry and Roth, 1989; Dackis and O'Brien, 2001), conséquence pharmacologique première des drogues d'abus. Le NAc est une structure cérébrale située dans la partie ventrale du striatum. D'un point de vue anatomique et fonctionnelle, le NAc peut être subdivisé en deux sous-régions, le Core et le Shell (Ikemoto and Panksepp, 1999; Zahm, 1999; Di Chiara, 2002). Le NAc envoie des projections inhibitrices GABAergiques vers la substance noire (SN), la VTA et le VP (White, 1996) (Figure 4). En retour, le NAc reçoit principalement des afférences dopaminergiques de la VTA, ainsi que des afférences excitatrices glutamatergiques corticales du PFC et de l'ACC, et sous-corticales en provenance de l'amygdale et de l'hippocampe. Le NAc a un rôle d'intégrateur des informations sensorielles, cognitives et affectives lors de la prise de drogue, permettant alors l'évaluation

des effets récompensants et renforçants des drogues entraînant par la suite les réponses locomotrices. L'implication du NAc dans les effets renforçants des drogues a été mis en évidence grâce à des modèles animaux de lésions du système dopaminergique du NAc induisant une diminution, voire une interruption complète, du comportement d'auto-administration de cocaïne (Roberts and Koob, 1982; Zito et al., 1985; Ikemoto and Panksepp, 1999; Salamone et al., 2005). De plus, la diminution du comportement d'auto-administration de cocaïne est en corrélation avec le niveau de perte neuronale dopaminergique dans le NAc (Roberts and Koob, 1982; Zito et al., 1985). Enfin, l'injection d'agonistes ou d'antagonistes dopaminergiques dans le NAc facilite ou abolit respectivement l'auto-administration de psychostimulants comme la cocaïne (McGregor and Roberts, 1993; Ikemoto and Panksepp, 1999). Plus spécifiquement, les effets récompensants ont pu être attribués au Shell du NAc, alors que les effets locomoteurs sont modulés par le Core du NAc (Alcaro et al., 2007). En effet, Rodd-Henricks et ses collaborateurs ont montré que les rats, lors d'une procédure d'auto-administration intracérébrale, s'auto-administrent la cocaïne dans le Shell, mais pas dans le Core du NAc (Rodd-Henricks et al., 2002). Toutes ces études mettent en avant le rôle fondamental du NAc dans la perception des effets renforçants et récompensants de la cocaïne.

c. L'amygdale (Amy)

L'amygdale est une structure limbique complexe composée d'un ensemble de noyaux possédant des caractéristiques anatomiques et histochimiques différentes. Sur le plan de ses interactions, l'amygdale reçoit principalement des afférences glutamatergiques d'origine corticale (Alheid, 2003) et envoie majoritairement des efférences pour connecter le PFC, le NAc et le Bed Nucleus of the Stria Terminalis (BNST), ceci de façon dépendante de chaque noyau amygdalien. Les premières études réalisées sur l'influence de l'amygdale dans la réponse aux drogues d'abus ont été effectuées sur des rats ayant subi une lésion neurotoxique de l'amygdale. Ces animaux montrent une augmentation du comportement d'auto-administration de cocaïne ou d'AMPH, notamment pour des doses qui ne sont pas renforçantes pour les rats contrôles ; ceci de façon concomitante à une augmentation de l'activité dopaminergique dans le NAc, mis en évidence par l'accroissement du ratio

DOPAC/DA (Deminiere et al., 1988; McGregor et al., 1994). Des résultats similaires ont été démontrés par Whitelaw et ses collaborateurs dans une étude où des rats lésés au niveau de l'amygdale baso-latérale (BLA) montrent un accroissement de la réponse comportementale d'auto-administration (Whitelaw et al., 1996). Une lésion de l'amygdale induit donc une hypersensibilité à la cocaïne et l'AMPH, démontrant l'implication de cette structure dans l'augmentation des effets renforçants de ces drogues. Parallèlement aux techniques lésionnelles, l'injection d'antagonistes dopaminergiques dans l'amygdale provoque également un accroissement de la prise de cocaïne dans des procédures d'auto-administration (McGregor and Roberts, 1993). Ceci montre donc que l'amygdale semble jouer un rôle de relais dans l'intégration des effets renforçants des drogues *via* la neurotransmission dopaminergique afférente de la VTA. A noter que l'amygdale semble également moduler les effets récompensants des drogues *via* le NAc puisque ce dernier est suractivé lorsque l'amygdale est lésée ou inhibée (63). Pour résumer, la réponse comportementale face aux drogues d'abus comme la cocaïne semble donc être modulée par le système dopaminergique amygdalien qui joue un rôle régulateur sur le NAc.

d. Le cortex préfrontal (PFC)

Le cortex préfrontal est l'une des régions corticales cibles du système dopaminergique mésocortical. En effet, il reçoit des afférences dopaminergiques provenant de la VTA et émet en retour des efférences excitatrices glutamatergiques vers la VTA et le NAc (Figure 4). L'influence de la composante dopaminergique du PFC dans les effets renforçants de la cocaïne a pu être mise en évidence grâce à des études de microdialyse qui ont montré une libération de DA dans le PFC médian immédiatement après une injection de cocaïne (Maisonneuve et al., 1990). Par ailleurs, des études d'auto-administration intracérébrale ont montré que les rats s'auto-administrent directement la cocaïne dans le PFC et maintiennent un comportement stable, qui est aboli par l'injection d'antagonistes des récepteurs dopaminergiques D2 (Goeders and Smith, 1983). De plus, le PFC, par son innervation dopaminergique, joue un rôle dans l'initiation des processus récompensants de la cocaïne. Enfin, des rats lésés à la 6-OHDA dans le PFC ne montrent pas de modification de leur comportement d'auto-administration de cocaïne bien qu'une diminution

dopaminergique soit observée au niveau de la région lésée (Martin-Iverson et al., 1986; Schenk et al., 1991; McGregor et al., 1996). Le système dopaminergique du PFC ne semble donc pas influencer le maintien des effets renforçants de la cocaïne. Cependant, au sein de ces mêmes études, les différents auteurs ont mis en évidence que la lésion du PFC induit une augmentation de la réponse comportementale des rats pour des faibles doses de cocaïne pour lesquelles les animaux contrôles ne répondent pas (Martin-Iverson et al., 1986; Schenk et al., 1991; McGregor et al., 1996). Le PFC joue un rôle de modulateur au sein du système mésocorticolimbique dans l'appréciation des effets renforçants de la cocaïne. Cette structure serait donc une interface entre les régions corticales et limbiques dans la réponse aux drogues. Plus précisément, de par ses projections glutamatergiques vers des régions sous-corticales, comme la VTA et le NAc jouant un rôle majeur dans l'intégration des effets renforçants des drogues et notamment de la cocaïne.

e. Le cortex orbitofrontal (OFC)

Le cortex orbitofrontal est une région du PFC. Il reçoit des afférences en provenance de la VTA, de l'amygdale et du thalamus et émet en retour des projections principalement vers le NAc (Schoenbaum et al., 2006). Des études effectuées sur des modèles de lésion de l'OFC ont mis en évidence un défaut de prise de décision dans des exercices cognitifs nécessitant une modulation de la réponse en fonction des éléments environnementaux pour obtenir une récompense dans des modèles animaux, mais également chez l'Homme (Perry et al., 2010). Des études pré-cliniques ont mis en avant que la prise chronique de cocaïne induit des déficits cognitifs chez des modèles animaux semblables à une lésion de l'OFC, et que ces déficits persistent lors du sevrage (Lucantonio et al., 2012). Ainsi il semblerait que la prise de cocaïne induise des modifications dans l'OFC qui perturberaient la capacité des circuits associés à utiliser les informations environnantes pour émettre une réponse adéquate (Lucantonio et al., 2012). Par ailleurs, l'implication de l'OFC dans le comportement de prise de drogue a été évaluée grâce à des modèles animaux d'auto-administration lésés dans cette région corticale. Plusieurs études ont montré que la lésion de l'OFC chez le rat induit une acquisition plus rapide et irrégulière du comportement d'auto-administration de cocaïne en comparaison à des rats « sham » contrôles (Hutcheson and Everitt, 2003; Grakalic

et al., 2010). L'ensemble de ces données montre le rôle majeur de l'OFC dans la capacité à ajuster la réponse comportementale émise en fonction des associations et des modulations environnementales.

2. Circuits neuronaux impliqués dans la phase d'abstinence à la cocaïne.

Le rôle des différentes régions du système mésocorticolimbique dans les effets renforçants de la cocaïne a largement été étudié comme nous venons de le décrire. A l'inverse, l'implication neuroanatomique et neurofonctionnelle de ce circuit dans la phase de sevrage est nettement moins riche en littérature.

De façon générale et similaire aux données obtenues chez l'Homme, les études chez des modèles animaux de rongeurs ont mis en évidence une forte dérégulation du système dopaminergique pendant une période d'abstinence. Par exemple, Samuvel et ses collaborateurs ont montré une augmentation importante de la capture de DA dans le CPU et le NAc ainsi qu'une augmentation de l'expression du DAT après 3 semaines de sevrage à la cocaïne chez le rat (Samuvel et al., 2008). De façon similaire, il a été montré que, suite à 7 jours de sevrage de cocaïne, le niveau basal de DA est diminué dans le NAc (Mateo et al., 2005). Ces résultats suggèrent une dérégulation importante du système dopaminergique dans les phases précoces de sevrage. De plus, les modulations du système dopaminergique pendant le sevrage sont proposées comme sous-jacentes à une augmentation de la sensibilité aux drogues d'abus au détriment de la motivation pour les récompenses naturelles. En effet, il est proposé que l'addiction aux drogues résulte d'une dérégulation du système de la récompense et plus spécifiquement d'une réduction de l'activité de ce système. Chez le rat, par exemple, le seuil de stimulation intracrânienne est augmenté après une courte, mais pas une longue, période d'abstinence à la cocaïne (Ahmed et al., 2002b). D'autre part, il a également été mis en évidence chez l'Homme une hypofonctionnalité du système dopaminergique mise en évidence par une diminution de l'expression des récepteurs à la dopamine D2 ainsi qu'une diminution de la libération de ce même neurotransmetteur dans le striatum chez des patients addicts à la cocaïne, en sevrage depuis plusieurs semaines (Volkow et al., 1997b; Koob and Volkow, 2010).

Parallèlement à ces modifications de la neurotransmission dopaminergique, des études ont également mis l'accent sur les modulations à long terme du système glutamatergique. Chez le rat, 90 jours de sevrage suite à une prise chronique de cocaïne induisent une sur-régulation de l'expression des récepteurs au glutamate dans la VTA et le NAc (Lu et al., 2003). De plus, la modulation du système glutamatergique est aussi observée dans l'amygdale. Lu et ses collaborateurs ont mis en évidence une augmentation du niveau d'expression des récepteurs GluR1 dès le 1^{er} jour de sevrage et qui perdure à long terme (30 jours) à la fois dans la BLA et l'amygdale centrale (CeA) (Bossert et al., 2005; Lu et al., 2005a).

Enfin, plusieurs études effectuées chez le primate non-humain ont également permis de mieux caractériser les modifications cérébrales et notamment métaboliques qui ont lieu pendant le sevrage. Tout d'abord, des modulations du système dopaminergique ont, là encore, pu être mises en évidence suite au sevrage d'une prise chronique de cocaïne. En effet, après 30 jours de sevrage, le « binding » des récepteurs D1 dopaminergiques et du DAT est diminué au niveau du striatum puis retourne à un niveau basal après 90 jours de sevrage (Beveridge et al., 2009). L'exposition chronique à la cocaïne produit donc une dérégulation du système dopaminergique après 30 jours de sevrage qui semble retourner à un niveau basal à long terme (après 90 jours). De plus, l'activité métabolique mesurée par l'utilisation locale de glucose est diminuée dans le cortex frontal, l'ACC, le CPu, le NAc et la BLA, lors du sevrage aigu, 48h après la dernière prise de cocaïne (Calipari et al., 2013). Cette réduction du métabolisme cérébral a également pu être démontré lors de la ré-exposition à la cocaïne suite à un sevrage prolongé de 30 jours dans des régions similaires que sont le PFC, le CPu, le NAc et l'amygdale (Porrino et al., 2007; Beveridge et al., 2014). La dérégulation du métabolisme cérébral, suite à la ré-exposition à la cocaïne, semble perdurer à long terme (après 90 jours de sevrage) dans les aires corticales et les ganglions de la base mais retrouve un niveau basal dans des aires limbiques comme l'amygdale (Porrino et al., 2007; Beveridge et al., 2014). Le sevrage à la cocaïne induit donc un dérèglement des fonctions dopaminergiques qui sont rétablies à long terme ainsi qu'une diminution du métabolisme cérébral dans des régions corticales comme l'ACC et le PFC ainsi que le striatum, le NAc et l'amygdale.

Les techniques d'imagerie ont permis, principalement chez l'Homme, une étude longitudinale des modulations neurofonctionnelles mises en place lors du sevrage à la cocaïne. Cette partie sera développée plus en détails dans le chapitre 3 « *Influence d'une prise chronique de cocaïne sur les modifications cérébrales à long terme : approche vasculaire et métabolique* ». De façon générale, il a été montré que le métabolisme cérébral du glucose, utilisé comme marqueur de l'activité neuronale, est augmenté lors d'un sevrage aigu à la cocaïne et se voit par la suite diminué à long terme lors d'un sevrage prolongé (Parvaz et al., 2011). Ces modulations de l'activité cérébrale lors du sevrage sont principalement observées au niveau des régions du cortex frontal comme par exemple, l'OFC, le PFC et l'ACC.

3. Circuits neuronaux impliqués dans la recherche de drogue et la rechute à la cocaïne

Les principales régions impliquées dans la rechute sont le PFC, le NAc, la VTA ainsi que l'amygdale. Le rôle de ces régions sera évoqué plus en détail dans la suite de ce paragraphe.

a. L'Aire Tegmentale Ventrale (VTA)

Le système glutamatergique projetant sur la VTA semble jouer un rôle dans le phénomène de rechute. En effet, You et ses collaborateurs ont montré que l'administration d'antagonistes des récepteurs ionotropiques dans la VTA bloque le comportement de recherche de drogue (You et al., 2007). De plus, l'inactivation de la VTA atténue la rechute induite par la cocaïne (McFarland and Kalivas, 2001). Tout comme le NAc, l'intégrité de la VTA est nécessaire et indispensable dans le processus de recherche de drogue, et donc, dans la rechute.

b. Le Noyau Accumbens (NAc)

Le NAc est une région largement impliquée dans le phénomène de rechute. En effet, il a été mis en évidence que l'inactivation de cette région chez le rat provoque une diminution de la rechute à la cocaïne induite par les signaux de rappel (Fuchs et al., 2004; Fuchs et al., 2008). De plus, la présentation de signaux préalablement associés à la cocaïne produit une augmentation de DA extracellulaire dans le NAc (Weiss et al., 2000). Parallèlement, des études ont également mis en avant le rôle du système glutamatergique du NAc dans la rechute à la cocaïne. En effet, l'activation des récepteurs AMPA induit un comportement de recherche de drogue (Cornish et al., 1999), alors que le blocage de ces récepteurs par des antagonistes diminue la rechute induite par les signaux de rappel (Cornish et al., 1999). De plus, l'administration de DA ou de glutamate directement dans le NAc induit un comportement de recherche de drogue (Cornish et al., 1999). Cette observation est en concordance avec les études de microdialyse montrant une augmentation de DA et de glutamate dans le NAc pendant la rechute induite par la cocaïne (McFarland et al., 2003). Le NAc, par les composantes dopaminergique et glutamatergique, a un rôle central dans le comportement de recherche de drogue et dans la réponse comportementale face aux stimuli préalablement associés à la drogue.

c. L'Amygdale Basolatérale (BLA)

L'amygdale basolatérale est un noyau composant l'amygdale, elle émet des projections glutamatergiques majoritairement vers le PFC médian, le NAc et le striatum ; en retour elle reçoit des afférences dopaminergiques de la VTA et glutamatergiques de nombreuses régions corticales sensorielles ainsi que du PFC médian (Loughlin and Fallon, 1983; Sah and Lopez De Armentia, 2003). Les études sur la BLA se sont centrées sur le rôle de cette région dans l'association contingente entre un stimulus et une récompense, qu'elle soit naturelle ou d'abus. Plus précisément, Everitt et ses collaborateurs ont montré qu'une lésion bilatérale de la BLA abolit la préférence de place conditionnée préalablement établie

pour le sucrose (Everitt et al., 1991). Parallèlement, la lésion ou l'inhibition de la BLA abolit la recherche de drogue induite par les signaux préalablement associés à la drogue (Meil and See, 1996; Stefanik and Kalivas, 2013). De plus, le rôle de la BLA dans l'association contingente entre des stimuli environnementaux et la drogue a été mis en avant grâce à une étude de Ciccocioppo et ses collaborateurs. En effet, ils montrent, au sein de leur étude, une activation significative de la BLA, mesurée par l'expression de la protéine c-fos, suite à la présentation de signaux préalablement associés à la drogue à des rats ayant un historique avec la drogue en comparaison à des rats contrôles. Cet effet est également évalué dans le PFC (Ciccocioppo et al., 2001). De surcroît, l'inhibition spécifique du réseau BLA-NAc Core par optogénétique induit également une inhibition comportementale de recherche de cocaïne induite par les signaux préalablement associés à la drogue (Stefanik and Kalivas, 2013). Il est donc démontré que la BLA joue un rôle prépondérant dans l'association contingente d'un stimulus à une récompense, en l'occurrence une drogue d'abus, et que, par conséquent, elle joue un rôle crucial dans la recherche de drogue précipitée par les signaux et/ou le contexte préalablement associés à la substance. Mais de façon plus spécifique, il semblerait que ce soit le circuit BLA-NAc qui soit majoritairement impliqué dans ce phénomène (Everitt et al., 1991; Stefanik and Kalivas, 2013)

d. L'amygdale centrale (CeA)

L'amygdale centrale est un autre noyau qui constitue l'amygdale, il présente une forme arrondie et est situé à côté de la BLA. Plus précisément, elle est localisée dans la partie rostrale de l'amygdale en position dorsomédiale. La CeA, envoie majoritairement des projections GABAergiques vers le BNST et l'hypothalamus, et reçoit en retour des afférences corticales glutamatergiques notamment du PFC médian tout comme la BLA (Alheid, 2003; Sah and Lopez De Armentia, 2003). L'une des caractéristiques de la CeA est qu'elle est considérée comme le noyau de sortie de l'amygdale. Elle est donc en relation directe avec les autres noyaux de l'amygdale comme par exemple la BLA. L'amygdale centrale est majoritairement composée de neurones GABAergiques et d'une minorité de neurones glutamatergiques. Le rôle premier de ce noyau est son implication dans la réponse

comportementale à la peur. En effet, plusieurs études ont montré que la lésion de la CeA bloque l'expression d'une réponse comportementale conditionnée à la peur (Sah and Lopez De Armentia, 2003). Par ailleurs, l'amygdale centrale joue un rôle dans la recherche de drogue à long terme. En effet, le niveau de recherche de drogue induit par les signaux, préalablement associés à la cocaïne, augmente au cours du temps ; on parle d'incubation du « craving » (Grimm et al., 2001). Ce phénomène est conjoint à une augmentation de la phosphorylation de la protéine ERK dans la CeA même après 30 jours de sevrage. Cet effet qui, une fois bloqué par un inhibiteur de phosphorylation, provoque une diminution de la recherche de cocaïne (Lu et al., 2005b). De plus, l'injection d'antagonistes dopaminergiques ou glutamatergiques dans la CeA diminue le comportement de recherche de drogue induit par les signaux préalablement associés à la drogue sur le long terme mais pas sur le court terme (Lu et al., 2007; Xi et al., 2012). Pour résumer, l'amygdale centrale joue donc un rôle important dans le phénomène de recherche de drogue induit par les signaux de rappel et ceci à long terme, témoignant d'un rôle important dans le phénomène d'incubation du « craving ». Par ailleurs, la CeA est connue pour jouer un rôle important dans la réponse au stress. En effet, la lésion de la CeA chez le rat, atténue la réponse comportementale face au stress. De plus, l'intégrité de cette région est nécessaire pour établir une réponse comportementale anxieuse face à un stress mais n'influence pas l'anxiété en elle-même (Ventura-Silva et al., 2013). La cocaïne est connue pour induire une libération de CRF par la CeA, effet qui est potentialisé par des injections répétées (Richter et al., 1995). Les neurones de la CeA exprimant le CRF projettent majoritairement vers le BNST. De plus, l'inhibition pharmacologique des récepteurs au CRF exprimés dans le BNST diminue la réponse de recherche de cocaïne induite par le stress (Erb et al., 2001). L'amygdale centrale joue donc un rôle clé dans la recherche de drogue à long terme induite par les signaux de rappel et, de par son expression du CRF, dans la réponse comportementale au stress et donc dans la recherche de drogue induite par un stress.

e. Le cortex cingulaire antérieur (ACC)

Le cortex cingulaire antérieur fait partie intégrante du PFC. De façon similaire, il est majoritairement constitué de neurones glutamatergiques dont il émet des projections vers le striatum, l'hippocampe et l'amygdale. En retour, il reçoit majoritairement des afférences dopaminergiques du NAc (Perry et al., 2010). L'implication de l'ACC dans les comportements addictifs a tout d'abord été évaluée dans un modèle animal d'auto-administration de cocaïne suite à la lésion excitotoxique de cette région. Des auteurs ont montré que la lésion de l'ACC dans un modèle de rat ne modifie ni l'acquisition ni le comportement d'auto-administration en comparaison à des rats « sham » contrôles, mais elle bloque le comportement de recherche de cocaïne induit par les signaux préalablement associés à la drogue (Weissenborn et al., 1997). D'autres études ont également montré l'implication de l'ACC dans la recherche de drogue induite par les signaux de rappel. Tout d'abord, Thomas et ses collaborateurs ont mis en évidence une augmentation de l'activité de l'ACC chez des rats préalablement conditionnés et mis en présence de signaux préalablement associés à la drogue (Thomas et al., 2003). De plus, l'inactivation de l'ACC provoque une diminution de la recherche de cocaïne induite par les signaux de rappel (Perry et al., 2010) témoignant de l'implication de cette région dans le comportement de recherche de drogue. L'ACC joue donc un rôle important dans l'apprentissage conditionné et notamment dans le conditionnement entre des signaux environnementaux et la drogue. Ce type d'apprentissage participe de façon accrue à la mise en place du comportement de recherche de drogue lorsque ces stimuli sont représentés pendant une période d'abstinence. L'ACC est donc une région clé dans le phénomène de rechute précipité par les stimuli associés préalablement à la drogue.

f. Le cortex orbitofrontal (OFC)

Le cortex orbitofrontal joue un rôle important dans le processus de recherche de cocaïne et de rechute après une ré-exposition des animaux aux signaux préalablement associés à la drogue (Lucantonio et al., 2012). En effet, la présentation de signaux associés à la prise de cocaïne aux animaux préalablement conditionnés induit une activation de l'OFC (Thomas et al., 2003; Everitt et al., 2007). Ces données montrent le rôle majeur de l'OFC

dans la capacité à ajuster la réponse comportementale émise en fonction des associations et des modulations environnementales. De plus, l'OFC joue un rôle important dans l'association contingente entre la prise de cocaïne et les différents signaux associés, et, par conséquent, dans le processus de recherche de drogue induit par les signaux de rappel.

g. Les cortex prélimbic et infralimbique

Les cortex prélimbique et infralimbique sont localisés respectivement dans la partie dorsale et ventrale du PFC médian. Ils émettent tous les deux des efférences glutamatergiques vers le NAc, cependant, le cortex prélimbique envoie spécifiquement des projections vers le Core du NAc alors que le cortex infralimbique connecte le Shell du NAc.

Ces deux régions corticales sont connues pour avoir un rôle majeur dans le comportement de recherche de drogue. En effet, plusieurs études rapportent que l'inhibition du cortex prélimbique réduit le comportement de recherche de drogue qu'il soit induit par les signaux associés à la drogue, le stress ou la drogue elle-même (McFarland and Kalivas, 2001; Capriles et al., 2003; McLaughlin and See, 2003; McFarland et al., 2004). A l'opposé, l'inhibition du cortex infralimbique induit le comportement de recherche de cocaïne (Peters et al., 2008) alors que son activation réduit ce comportement (LaLumiere et al., 2012). De plus, le cortex infralimbique semble jouer un rôle dans la consolidation et l'expression de l'extinction du comportement de recherche de drogue (LaLumiere et al., 2010). L'ensemble de ces données suggèrent que les cortex prélimbique et infralimbique ont des rôles dissociables dans le comportement de recherche de drogue. En effet, le cortex prélimbique semble jouer un rôle majeur dans l'établissement du comportement de recherche de drogue alors que le cortex infralimbique semble plutôt impliqué dans l'extinction du comportement et donc dans l'effet modulateur de la recherche de drogue.

Chapitre 3 : Influence d'une prise chronique de cocaïne sur les modifications cérébrales à long terme : approche vasculaire et métabolique

La nature chronique et récurrente de l'addiction a permis d'avancer l'hypothèse que l'administration répétée de drogues produit des neuro-adaptations à long terme et un « recablage » du cerveau provoquant une réactivité accrue à la drogue elle-même ainsi qu'aux signaux associés à cette drogue (Nestler, 2001; Hyman et al., 2006a; Thomas et al., 2008; Koob and Volkow, 2010). Les neuro-adaptations induites par la prise de cocaïne sont aujourd'hui bien documentées, cependant l'étude de l'évolution à long terme de ces modifications lors de l'arrêt de la consommation, et ce pendant le sevrage, reste peu décrite. Par conséquent, l'étude des processus cérébraux qui sous-tendent l'établissement de ces neuro-adaptations, semble être centrale pour proposer de nouvelles stratégies afin de traiter cette pathologie. Dans ce chapitre, je me concentrerai sur deux aspects de ces modifications à long terme induites par la cocaïne. Le premier aspect est centré sur l'influence de la consommation de cocaïne sur le système vasculaire cérébral et le second, sur les modifications de l'activité métabolique cérébrale consécutives à une prise de cocaïne, tous deux en relation avec mon travail de thèse.

I. Le système vasculaire cérébral

De façon générale, le tissu nerveux est composé d'éléments neuronaux et gliaux associés à des vaisseaux sanguins, en particulier des capillaires. Le système vasculaire, par son rôle premier de transporteur du sang, détient une importance majeure dans la physiologie du système nerveux central (SNC) car il est la source de nutriments (glucose et acides aminés par exemple) et d'oxygène nécessaires à la survie et au fonctionnement cellulaire.

A. Le système artériel

1. Le système circulatoire carotidien

L'artère carotide primitive monte dans le cou et se divise pour donner naissance aux artères carotides externe et interne. La partie externe vascularise la face alors que la branche interne s'insère dans le crâne pour alimenter le cerveau. L'artère carotide interne est composée de quatre segments : cervical, intra-pétreux, caverneux et cérébral. Ce dernier donne naissance à trois collatérales principales que sont : l'artère ophtalmique, l'artère communicante postérieure et l'artère choroïdienne antérieure. L'artère ophtalmique vascularise le nerf optique, la rétine, ainsi que les sinus de chaque côté du nez. L'artère choroïdienne antérieure quant à elle pénètre la corne inférieure du ventricule latéral par la fenêtre choroïdienne et alimente les plexus choroïdes, le globus pallidus, la formation hippocampique et une partie de la capsule interne de l'amygdale et de la queue du noyau caudé. L'artère communicante postérieure permet de connecter l'artère carotide interne à la circulation postérieure provenant des artères vertébrales (NEUROSCIENCES MEDICALES. Les bases neuroanatomiques et neurophysiologiques. Pritchard TC, Allowau KD., 2002)

L'artère cérébrale antérieure (ACA) prend son origine de l'artère carotidienne interne, elle croise le nerf optique et pénètre dans la scissure inter-hémisphérique. Les deux branches de l'ACA que sont les artères fronto-polaire et orbitaire vascularisent le pôle frontal et les faces orbitaire et médiale du cortex frontal (NEUROSCIENCES MEDICALES. Les bases neuroanatomiques et neurophysiologiques. Pritchard TC, Allowau KD., 2002).

L'artère cérébrale moyenne (ACM), qui est la continuité de l'artère carotide interne, présente la distribution la plus large et la plus complexe des artères cérébrales principales. L'ACM passe latéralement entre l'insula et le pôle antérieur du lobe temporal. Sur son passage, des petites branches perforantes alimentent la grande partie des bras antérieur et postérieur de la capsule interne ainsi qu'une partie du globus pallidus et du putamen (NEUROSCIENCES MEDICALES. Les bases neuroanatomiques et neurophysiologiques. Pritchard TC, Allowau KD., 2002).

2. Le système circulatoire vertébral

Les artères vertébrales proviennent des artères sous-clavières et montent vers le cerveau en traversant les six vertèbres cervicales supérieures. Après leur entrée dans la boîte crânienne, les deux artères vertébrales fusionnent pour former l'artère basilaire dont quatre artères principales émergent : l'artère méningée postérieure, l'artère cérébelleuse postéro-inférieure et les artères spinales antérieure et postérieure. Les deux artères vertébrales perfusent le tronc cérébral et le cervelet ainsi qu'une partie de la moelle épinière (NEUROSCIENCES MEDICALES. Les bases neuroanatomiques et neurophysiologiques. Pritchard TC, Allowau KD., 2002).

B. Le système veineux

Le drainage veineux du cerveau est effectué *via* un système élaboré de veines qui dérivent le sang vers les sinus, puis le déversent dans la veine jugulaire interne pour retourner dans la circulation générale.

1. Les veines superficielles

Les veines superficielles comptent les veines cérébrales supérieures et inférieures, la veine supérieure moyenne et deux grandes veines anastomotiques (Figure 5). Les veines cérébrales supérieures drainent les régions médiales des lobes frontal et pariétal. Les veines cérébrales inférieures drainent la face ventrale du cerveau et la veine cérébrale superficielle moyenne draine le lobe temporal, frontal et pariétal adjacent (NEUROSCIENCES MEDICALES. Les bases neuroanatomiques et neurophysiologiques. Pritchard TC, Allowau KD., 2002).

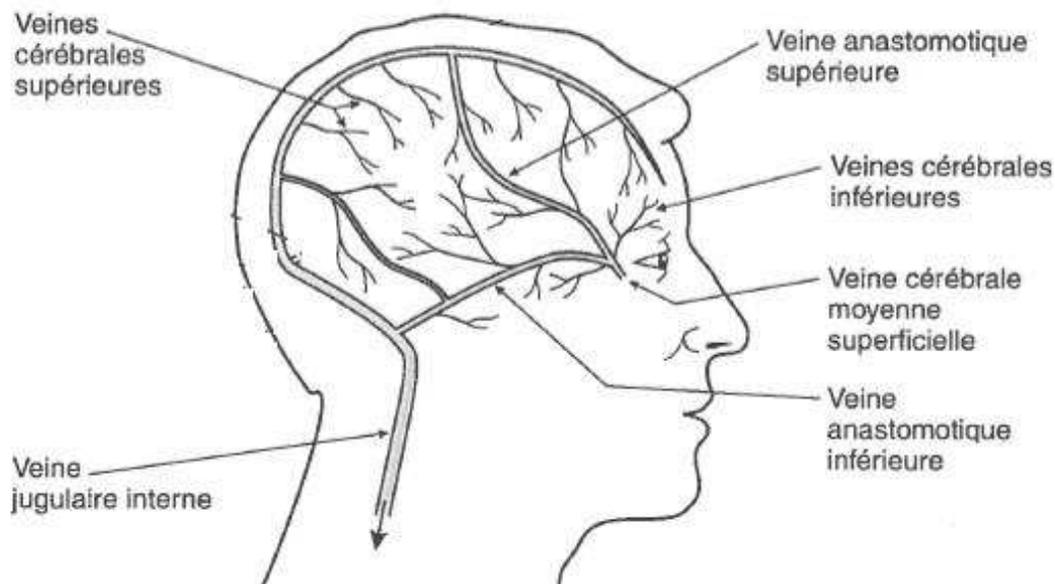


Figure 5 : Représentation schématique des veines superficielles du cerveau. Sont représentées, les veines cérébrales supérieures et inférieures, la veine cérébrale moyenne et les veines anastomotiques. D'après Neurosciences Médicale, Les bases neuroanatomiques et neurophysiologiques. Thomas C Pritchard, Kevin D Alloway. DeBoeck Université, 2002.

2. Les veines cérébrales profondes

Les deux veines cérébrales profondes principales sont la veine cérébrale interne et la veine basilaire de Rosenthal (Figure 6). Les veines cérébrales internes collectent le sang veineux du striatum, du thalamus, de l'hippocampe et des plexus choroïdes du ventricule latéral et se dirigent en arrière le long du thalamus. A la limite postérieure du thalamus, les veines cérébrales droite et gauche fusionnent pour donner naissance à la grande veine de Galien (Figure 6).

La veine basilaire de Rosenthal collecte le sang veineux de la face médiale du lobe temporal, du lobe frontal et du cortex insulaire avant de se jeter dans la grande veine de Galien (NEUROSCIENCES MEDICALES. Les bases neuroanatomiques et neurophysiologiques. Pritchard TC, Allowau KD., 2002).

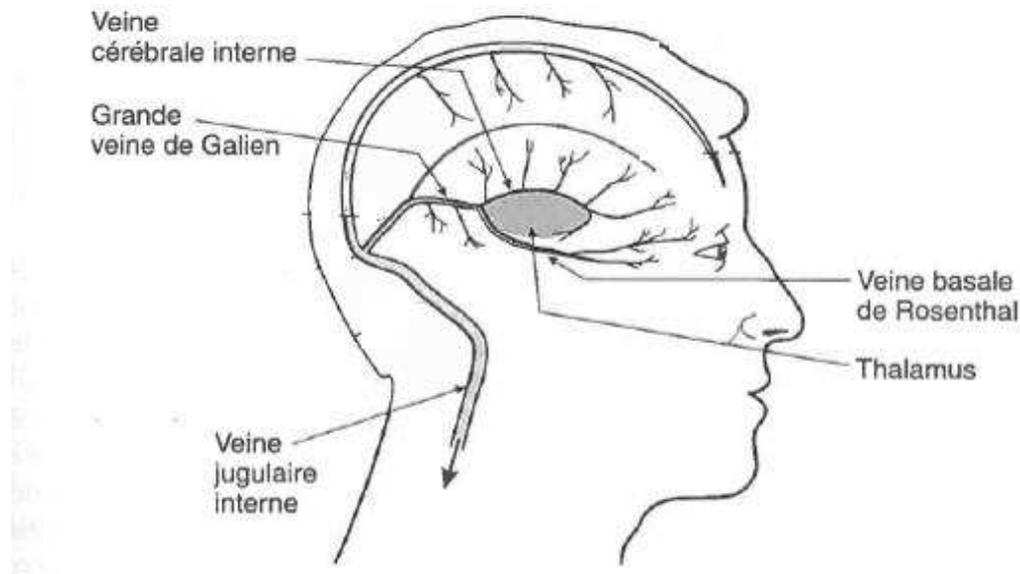


Figure 6 : Représentation schématique des veines cérébrales profondes. Sont représentées sur le schéma les veines cérébrale interne et basilaire de Rosenthal ainsi que la grande veine de Galien. D'après Neurosciences Médicale, Les bases neuroanatomiques et neurophysiologiques. Thomas C Pritchard, Kevin D Alloway. DeBoeck Université, 2002.

C. La microvasculature cérébrale

La microvasculature du SNC est spécialisée puisque les capillaires qui la constituent sont composés de cellules endothéliales non fenêtrées et liées entre elles par des jonctions serrées étanches contrairement au reste de l'organisme (HISTOLOGIE, L'essentiel. Fawcett DW et Jensch RP., 2002). Cette caractéristique anatomique crée une résistance au passage des ions et des petites molécules protégeant alors le cerveau des variations brutales de concentration ionique du liquide extracellulaire ou de toutes autres molécules de la circulation pouvant interférer avec le fonctionnement cérébral physiologique (HISTOLOGIE, L'essentiel. Fawcett DW et Jensch RP., 2002). Ainsi, l'ensemble des composés métaboliques nécessaires au fonctionnement cellulaire cérébral passent du sang vers le cerveau par diffusion facilitée ou transport actif (HISTOLOGIE, L'essentiel. Fawcett DW et Jensch RP.,

2002, HISTOLOGIE HUMAINE, Stevens A et Lowe J., 2009). D'un point de vue anatomique, l'endothélium des capillaires repose sur une lame basale, elle-même cernée vers l'extérieur par des expansions astrocytaires servant d'interface entre la lame basale et les neurones. Cet ensemble, épithélium capillaire, lame basale, et pieds astrocytaires, forme la barrière hémato-encéphalique (BHE), véritable barrière protectrice entre le sang et le tissu cérébral (Figure 7).

Parmi l'ensemble du réseau vasculaire cérébral, la microvasculature est le type vasculaire qui, *via* les astrocytes, est en relation la plus étroite avec les neurones. Ainsi, dans notre étude, ayant pour objectif d'évaluer les modifications vasculaires à long terme induites par la prise chronique de cocaïne, nous nous sommes focalisés sur les modifications induites par la cocaïne sur la microvasculature, étant donné que ces modifications sont les plus importantes pour déterminer les changements du fonctionnement neuronal.

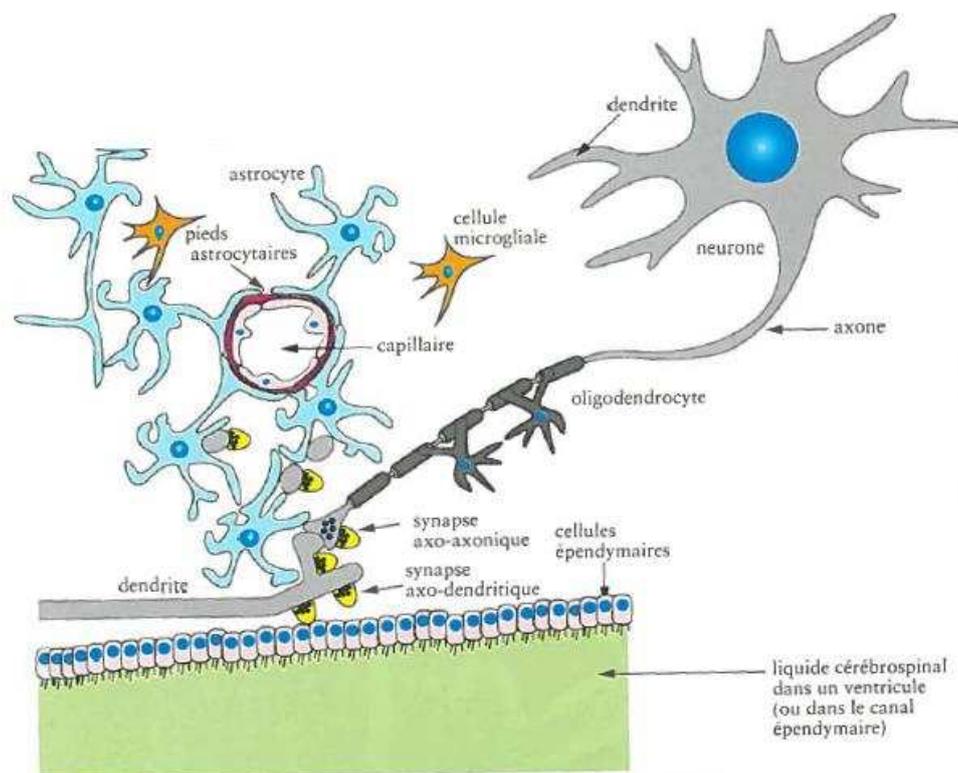


Figure 7 : Représentation schématique des relations cellulaires dans le système nerveux central (SNC). Ce schéma représente différents composants du tissu nerveux dans le SNC et leurs relations pour constituer le parenchyme cérébral. A noter en particulier, les relations des astrocytes avec les capillaires pour former la barrière hémato-encéphalique. D'après HISTOLOGIE - Bases fondamentales. Bertrand Macé. Omnisciences 2008.

II. Influence d'une prise chronique de cocaïne sur le système vasculaire

A. Etudes de cas cliniques

Chez l'Homme, de nombreuses études de cas cliniques ont mis en évidence l'influence de l'usage de cocaïne, passé ou actif, dans la vulnérabilité à développer des atteintes vasculaires qu'elles soient d'origine centrale ou périphérique.

1. Atteintes cardiovasculaires

Au niveau cardiaque, diverses études rapportent que des patients hospitalisés pour de fortes douleurs de poitrine aboutissant à un diagnostic sévère de dissection aortique (Kloner et al., 1992; Jaffe et al., 1994; Chang and Rossi, 1995; Rashid et al., 1996; RP, 2002; Palmiere et al., 2004; Nusair et al., 2008), infarctus du myocarde (Lange and Hillis, 2001; Vasica and Tennant, 2002) ou encore de rupture d'anévrisme (Marella et al., 2011) sont souvent détectés positifs lors des analyses toxicologiques ciblant notamment l'usage de drogues telles que la cocaïne. Ainsi, le suivi plus approfondi de ces patients a suscité de nombreuses études afin d'évaluer l'influence de la consommation de cocaïne sur le développement de pathologies cardiovasculaires. Dans la majorité des cas, le dialogue avec les patients montre qu'ils consommaient de la cocaïne, sous forme fumée, inhalée ou injectée, très peu de temps avant le début des symptômes qui émergent souvent par de fortes douleurs dans la poitrine (Jaffe et al., 1994; Rashid et al., 1996; Palmiere et al., 2004; Daniel et al., 2007). Aucune corrélation n'a été mise en évidence entre le mode de consommation et le développement ou la sévérité des atteintes cardiovasculaires (Rashid et al., 1996). Dans la majorité des cas, les déficiences cardiovasculaires surviennent quelques minutes (Jaffe et al., 1994; Rashid et al., 1996), voire quelques heures (Vasica and Tennant, 2002; Marella et al., 2011), après la consommation de cocaïne. Cependant, certains cas rapportent une utilisation plus antérieure d'un à plusieurs jours (Palmiere et al., 2004; Daniel et al., 2007). Bien que la fenêtre temporelle critique dans le développement d'un problème

cardiovasculaire se situe quelques heures après la consommation de cocaïne, les atteintes peuvent également survenir à plus long terme après la dernière utilisation de la drogue, démontrant ainsi le fort pouvoir toxique de la cocaïne sur le système vasculaire. Par ailleurs, les cas cliniques rapportés comme ayant développé un problème vasculaire cardiaque consécutif à l'utilisation de cocaïne touchent des patients d'origine ethnique, de sexe, et d'âge variable démontrant bien l'influence de la consommation de cocaïne sur l'atteinte vasculaire et non d'une vulnérabilité génétique. Plusieurs hypothèses sont avancées pour tenter de comprendre les mécanismes liés à la consommation de cocaïne et provoquant ces troubles cardiaques. Tout d'abord, d'un point de vue pharmacologique, la cocaïne bloque la recapture pré-synaptique des catécholamines entraînant une augmentation de la concentration synaptique au niveau du système nerveux central mais aussi périphérique. Au niveau périphérique, cette augmentation de neurotransmetteurs provoquerait une stimulation sympathique *via* les récepteurs alpha-adrénergiques et beta-adrénergiques qui, respectivement, augmentent la vasoconstriction et la fréquence cardiaque. De plus, la stimulation des récepteurs alpha-adrénergiques des cellules musculaires lisses endothéliales provoquerait une entrée de calcium et une vasoconstriction à l'origine de l'hypertension artérielle (Kloner et al., 1992). Ainsi, la consommation de cocaïne provoque une triade de symptômes qui sont, 1) l'augmentation de la fréquence cardiaque, 2) la vasoconstriction et 3) l'hypertension qui accroît la charge de travail du myocarde ainsi que sa demande en oxygène. Ce phénomène d'hypertension va, de plus, provoquer un affaiblissement du système vasculaire et entraîner une déchirure aortique (Chang and Rossi, 1995; Lange and Hillis, 2001; Nusair et al., 2008). Une autre hypothèse expliquant les troubles cardiaques provoqués par la consommation de cocaïne est celle soutenue par Dabbouseh et Ardell présentant que la cocaïne engendrerait l'entrée en apoptose des cellules endothéliales vasculaires, affaiblissant la paroi artérielle et induisant alors une prédisposition accrue de l'individu à développer une atteinte cardiovasculaire telle que la dissection aortique (Dabbouseh and Ardelt, 2011).

2. Atteintes neurovasculaires

Le rapport de plusieurs études relatant de cas cliniques a également permis de démontrer que la prise de cocaïne entraîne de nombreux désordres neuro-vasculaires. L'admission de patients souffrant de troubles neurologiques, et étant positifs à la cocaïne lors des analyses toxicologiques, a permis de mettre en avant que la consommation de cocaïne induit des dommages neuro-vasculaires tels que des hémorragies cérébrales, des accidents vasculaires cérébraux ou encore des ruptures d'anévrismes cérébraux (Cregler and Mark, 1986; Wojak and Flamm, 1987; Daras et al., 1991; Nolte et al., 1996; Neiman et al., 2000; Toossi et al., 2010).

Dans la majorité des cas, les patients viennent consulter pour de forts maux de tête (Wojak and Flamm, 1987; Daras et al., 1991) et l'évaluation des antécédents des patients révèle qu'ils ont consommé, plus ou moins longtemps avant l'apparition des symptômes, de la cocaïne. En effet, les divers cas cliniques montrant une atteinte neuro-vasculaire consécutive à l'usage de cocaïne sont assez hétérogènes quant à leur consommation. Certains patients sont des consommateurs actifs et présentent des troubles neurologiques seulement quelques minutes (Cregler and Mark, 1986; Levine et al., 1990) à quelques heures après leur dernière prise (Levine et al., 1987b; Levine et al., 1987a; Wojak and Flamm, 1987; Levine et al., 1990; Daras et al., 1991; Toossi et al., 2010). D'autres, déclarent avoir consommé de la cocaïne plusieurs mois, voire même plusieurs années avant l'apparition de ces troubles (Wojak and Flamm, 1987; Levine et al., 1990; Toossi et al., 2010). Ces observations mettent en avant le fort risque d'atteinte vasculaire causé par la cocaïne, même longtemps après l'arrêt de la consommation de la drogue. Par ailleurs, il ne semble pas y avoir de lien entre le mode de consommation (que la cocaïne soit inhalée, fumée ou injectée) et le type d'atteinte vasculaire cérébrale développée (hémorragie, ischémie, anévrisme) (Nolte et al., 1996). De façon similaire aux atteintes cardiaques, le développement de troubles neuro-vasculaires concomitant à l'utilisation de cocaïne touche des individus d'origine, d'âge et de sexe variés ce qui démontre bien que les pathologies vasculaires cérébrales diagnostiquées sont la conséquence de la consommation de cocaïne et non pas d'une variabilité génétique. De plus, la cocaïne est connue pour avoir un effet vasoconstricteur. En effet l'injection aigüe de cocaïne chez des sujets naïfs induit une

vasoconstriction cérébrale de façon dose-dépendante en comparaison à l'injection d'un placebo (Kaufman et al., 1998). Ainsi, les causes des atteintes neuro-vasculaires induites par la cocaïne semblent passer par son action vasoconstrictrice sur le système vasculaire en induisant une faiblesse du vaisseau provoquant alors la rupture de ce vaisseau et conduisant à l'hémorragie ou l'ischémie (Nolte et al., 1996).

B. Etudes pré-cliniques

Bien que la littérature soit très abondante pour relater de l'influence de l'usage de cocaïne dans le développement de pathologies vasculaires, qu'elles soient cardiaques ou centrales, peu d'études pré-cliniques se sont intéressées à cette question.

1. In vivo

Une étude menée par Barroso Moguel et ses collaborateurs a évalué l'effet d'un traitement aigu par la cocaïne, chez le rat, sur les modifications vasculaires cérébrales à long terme. Leur étude montre qu'une injection aiguë, à très forte dose de cocaïne (30mg/kg), provoque la lésion des capillaires cérébraux observables à 7, 15 et 30 jours post-traitement, donnant lieu à une hémorragie cérébrale après 90 jours post-traitement. Les atteintes vasculaires décrites dans cette étude touchent diverses régions du cerveau connues comme ayant un rôle dans l'addiction. C'est le cas du striatum, du cortex frontal et de l'hippocampe (Barroso-Moguel et al., 1997). Néanmoins, l'intérêt de cette étude est limité à cause de la dose utilisée et le fait que la cocaïne soit administrée par l'expérimentateur.

Parallèlement, une étude plus récente, utilisant des techniques combinées d'imagerie et de microscopie, a mis en évidence qu'un traitement aigu de cocaïne (2,5mg/kg) chez la souris interrompt le flux sanguin au niveau cortical, phénomène accentué par une administration chronique de cocaïne et aboutissant à une micro-ischémie corticale (Ren et al., 2012). Ces deux études sont les seules à relater, dans des modèles animaux, le rôle de la consommation de cocaïne dans la mise en place de dommages neuro-vasculaires qu'ils

soient hémorragiques, suite à des lésions vasculaires (Barroso-Moguel et al., 1997), ou ischémiques, suite à l'interruption de l'irrigation du réseau vasculaire (Ren et al., 2012). De plus, il semblerait que les effets soient dose-dépendants puisque les ischémies corticales observées chez la souris traitée en aiguë avec de la cocaïne sont exacerbées en cas de traitement chronique (Ren et al., 2012).

2. In vitro

L'effet neurotoxique de la cocaïne a été évalué sur des cellules en cultures. Une étude réalisée sur des cellules endothéliales coronariennes artérielles bovines (BCAEC) a mis en évidence qu'un traitement par la cocaïne provoque une diminution de la viabilité cellulaire et une augmentation de l'apoptose cellulaire de façon dépendante du temps. La viabilité cellulaire est diminuée après 12 heures de traitement par la cocaïne et ce paramètre s'accroît après 72h. De plus, les auteurs ont décrit que la cocaïne accroît l'activité des caspases 3 et 9 dans ces cellules (He et al., 2000b; He et al., 2001). En effet, le traitement par la cocaïne de ces cellules BCAEC, induit une libération de cytochrome C dans le cytosol par les mitochondries, activant ainsi les caspases proapoptotiques 9 et 3 jouant un rôle majeur dans l'induction de l'apoptose (He et al., 2000b). L'effet toxique de la cocaïne au niveau des cellules endothéliales coronariennes serait dépendant du système mitochondrial qui, par libération de cytochrome C, stimulerait la cascade des caspases proapoptotiques déclenchant l'entrée en apoptose des cellules.

Une étude similaire a été réalisée sur des cellules vasculaires cérébrales où un traitement par la cocaïne induit une augmentation de la mort cellulaire par apoptose, ces effets étant dose-dépendants (Su et al., 2003).

Bien que peu documentées, les études *in vitro* confirment que la cocaïne a un effet toxique sur les cellules endothéliales, qu'elles soient d'origine cardiaque (He et al., 2000b; He et al., 2001) ou cérébrale (Su et al., 2003). La toxicité, dose-dépendante, de la cocaïne semble passer par l'entrée en apoptose des cellules endothéliales consécutive à la libération mitochondriale du cytochrome C.

C. Résumé

L'ensemble de ces études cliniques et pré-cliniques mettent en avant que la consommation de cocaïne peut avoir un effet toxique délétère sur le système vasculaire. Chez l'Homme, la consommation de cocaïne peut engendrer de nombreux troubles vasculaires, qu'ils soient cardiaques ou cérébraux. En effet, par son action vasoconstrictrice, la cocaïne induit un affaiblissement du réseau vasculaire aboutissant alors, dans certains cas, à la déchirure des vaisseaux. Bien que moins documentées, quelques études pré-cliniques *in vivo* chez des rongeurs ont également pu confirmer que la cocaïne provoque des lésions vasculaires au niveau cérébral et induit également des micro-ischémies dans des régions corticales. Enfin, des analyses *post-mortem* et des études *in vitro* sur des cellules endothéliales montrent que l'affaiblissement du réseau vasculaire par la cocaïne passerait par l'entrée en apoptose des cellules endothéliales. Cependant, aucune donnée n'est disponible aujourd'hui sur l'évolution des effets de la prise à long terme sur le système vasculaire cérébral en recherche pré-clinique. De plus, aucune étude n'a été menée chez des animaux ayant reçu de la cocaïne de façon volontaire dans des procédures d'auto-administration. Nous avons donc mis en place, à travers l'étude 2, une procédure expérimentale pour évaluer l'impact de la prise chronique de cocaïne sur le système vasculaire cérébral d'un point de vue anatomique chez le rat.

III. Addiction et imagerie cérébrale : données répertoriées chez l'Homme

Les diverses techniques d'imagerie utilisées en clinique (IRM, IRMf, TEP), ont permis une avancée majeure dans la compréhension des neuro-adaptations induites par la consommation de cocaïne. En effet, les techniques d'imagerie ont comme atout principal l'évaluation de l'activité cérébrale chez le sujet vivant permettant non seulement de pouvoir réaliser une étude longitudinale sur le cerveau entier, mais également d'avoir une vue globale des modifications cérébrales. De plus, ces techniques permettent différentes approches comme par exemple l'étude de la morphologie cérébrale, de l'activité et du

métabolisme cérébral, de la pharmacocinétique ou encore de l'interaction ligand-récepteur. Ainsi ces techniques ont permis de mieux comprendre la neurobiologie de l'addiction chez l'Homme. Dans ce chapitre, je me focaliserai sur les changements cérébraux à long terme mis en place pendant une période d'abstinence à la cocaïne.

A. Etude de l'activité cérébrale, en période de sevrage et en absence de stimulation

La grande majorité des études réalisées autour des modifications cérébrales consécutives à la consommation de cocaïne ont été effectuées par le groupe du Docteur N. Volkow aux Etats-Unis. Les premières études effectuées par Volkow et ses collaborateurs ont évalué les modulations de l'activité métabolique cérébrale induite à long terme par la cocaïne *via* des analyses de TEP-scan utilisant le ^{18}FDG , analogue métabolique radioactif du glucose. De façon générale, lors d'un sevrage aigu (inférieur à 1 semaine), l'activité métabolique cérébrale globale est augmentée en comparaison à des sujets naïfs (Volkow et al., 1991; Volkow et al., 1997a; Goldstein and Volkow, 2002; Parvaz et al., 2011). L'analyse plus spécifique des régions cibles montre une activation métabolique dans des régions corticales frontales comme l'OFC et le PFC et des régions limbiques comme le striatum (Volkow et al., 1991; Goldstein and Volkow, 2002; Parvaz et al., 2011). De plus, l'accroissement du métabolisme cérébral lors du sevrage aigu est corrélé au nombre de jours depuis l'arrêt de la consommation (Volkow et al., 1997a). A l'inverse, lors d'un sevrage à long terme (de plusieurs semaines à plusieurs mois) après la dernière prise de cocaïne, l'activité métabolique cérébrale diminue en comparaison à des sujets sains ou des individus en sevrage aigu. La diminution du métabolisme cérébral après une période prolongée de sevrage cible principalement des régions corticales frontales comme l'OFC, le PFC et l'ACC (Volkow et al., 1992; Volkow et al., 1993; Volkow et al., 1997a; Goldstein and Volkow, 2002; Parvaz et al., 2011). La réduction du métabolisme cérébral a été observée chez des patients sevrés depuis 1 à 6 semaines. Cet effet perdure après 3 à 4 mois d'abstinence (Figure 8) (Volkow et al., 1992; Volkow et al., 1993; Volkow et al., 1997a), suggérant que certaines

altérations fonctionnelles persistent à long terme suite à l'arrêt de la consommation de la cocaïne.

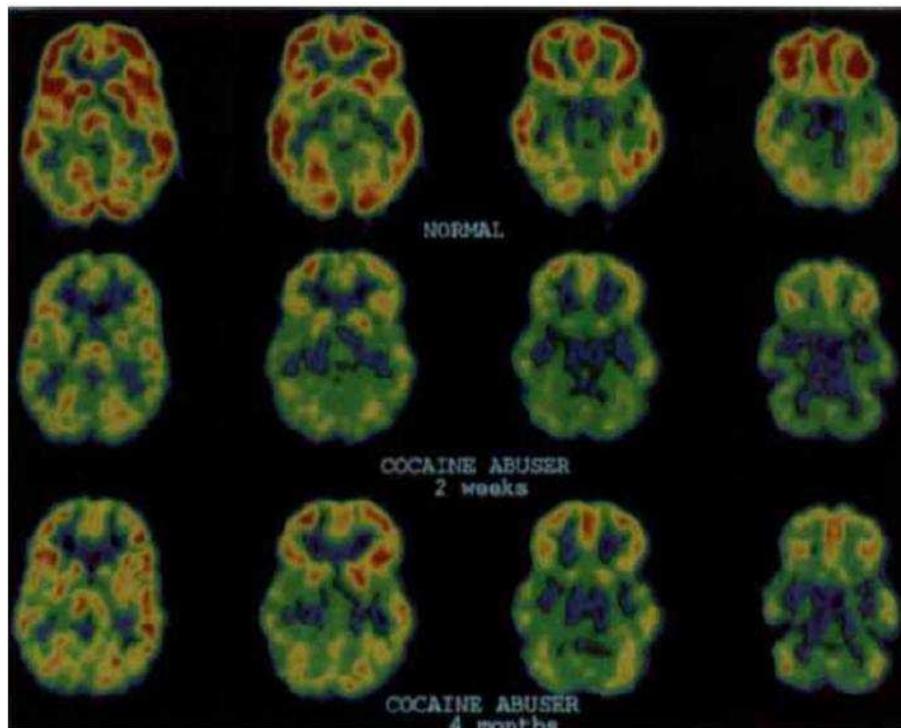


Figure 8 : Métabolisme cérébral chez des sujets normaux et des sujets addicts à la cocaïne. La technique de TEP a été utilisée pour mesurer le métabolisme du glucose cérébral en utilisant le ^{18}F FDG chez des sujets normaux (en haut) et chez des patients, addicts à la cocaïne, abstinentes depuis 2 semaines (au milieu) et 4 mois (en bas). Les patients abstinentes montrent une diminution de l'activité métabolique cérébrale 2 semaines et 4 mois après la dernière consommation de cocaïne. L'échelle est représentée avec un gradient de couleurs, l'activité métabolique la plus élevée étant le rouge et la plus faible le bleu (rouge < jaune < vert < bleu). (D'après Volkow et al., 1997, pour revue).

L'analyse par imagerie TEP a également permis de mettre en évidence des modulations du système dopaminergique et notamment des récepteurs à la dopamine lors du sevrage à la cocaïne en utilisant des ligands radiomarqués des récepteurs à la dopamine, principalement les récepteurs dopaminergiques D2 (^{18}F N-methylspiroperidol). La capture de ce ligand par les récepteurs dopaminergiques D2 est diminuée chez les patients en sevrage aigu (inférieure à 1 semaine) mais également chez des patients en sevrage prolongé (supérieure à un mois). Cet effet est principalement localisé au niveau du striatum et des régions corticales comme l'OFC et l'ACC (Volkow et al., 1990b; Volkow et al., 1993; Volkow

et al., 1997a; Goldstein and Volkow, 2002; Parvaz et al., 2011). Ces résultats mettent en avant la diminution du niveau des récepteurs dopaminergiques D2, dans le striatum et le cortex frontal, et témoignent donc d'une neuroplasticité cérébrale lors du sevrage à la cocaïne, notamment au niveau du système dopaminergique.

En résumé, les études réalisées montrent une évolution de l'activité métabolique cérébrale au cours de la période de sevrage. L'activité métabolique cérébrale est augmentée lors d'un sevrage précoce à la cocaïne puis progressivement s'hypoactive lors d'un sevrage à long terme. Parallèlement, des modulations du système dopaminergique démontrant une hypofonctionnalité sont observées à la fois lors d'un sevrage à court mais aussi long terme.

B. Etude de l'activité cérébrale en période de sevrage et suite à une stimulation par des signaux associés à la drogue

Parallèlement aux études préalablement exposées évaluant les changements cérébraux lors d'une période de sevrage à la cocaïne, des études d'imageries cérébrales ont également permis d'étudier les modulations de la réponse cérébrale de patients addicts à la cocaïne lors de la présentation de signaux préalablement associés à la drogue. Pour cela, plusieurs procédures sont possibles : soit la visualisation de vidéos montrant des personnes utilisant de la drogue, soit en demandant au patient de raconter une scène passée qu'il a vécu et qui est associée à la consommation de la drogue, soit par une stimulation pharmacologique (Wexler et al., 2001). La majorité des études sont effectuées sur des patients addicts à la cocaïne depuis plusieurs années et inclus dans un protocole de sevrage au sein d'un cadre médical. Les patients sont dans la majorité des cas en sevrage aigu (de 24 heures à plus ou moins 14 jours), de sexe, d'âge et d'origine différents (Grant et al., 1996; Childress et al., 1999; Kilts et al., 2001; Wexler et al., 2001; Volkow et al., 2006; Fotros et al., 2013). L'ensemble de ces études font le constat que le visionnage d'une vidéo avec des scènes relatives à la prise de cocaïne ou l'énumération par le patient d'une scène passée en lien avec la prise de cette drogue provoque une augmentation du « craving » chez les patients contrairement aux sujets naïfs (Grant et al., 1996; Childress et al., 1999; Garavan et al., 2000; Kilts et al., 2001). D'un point de vue fonctionnel, le cortex cingulaire se trouve

activé chez les patients addicts comparés aux sujets naïfs, quelque soit le type de stimulation et la technique utilisée (TEP, IRMf) (Grant et al., 1996; Maas et al., 1998; Childress et al., 1999; Garavan et al., 2000; Wexler et al., 2001). De plus, le visionnage d'un film associé à la prise de cocaïne par des patients addicts induit une activation d'autres régions corticales comme le PFC dorsolatéral et l'OFC (Grant et al., 1996; Maas et al., 1998) mais également l'amygdale, une région limbique largement impliquée dans l'association stimuli et drogue ainsi que dans la recherche de drogue induite par les signaux de rappel (Childress et al., 1999; Kilts et al., 2001).

De plus, les techniques d'imagerie permettent d'évaluer les changements fonctionnels liés au système de neurotransmission. Dans le cas de l'addiction à la cocaïne, les études ont ciblé le système dopaminergique *via* l'utilisation de ligands radiomarqués spécifiques des récepteurs dopaminergiques D2. Selon les mêmes procédures que celles citées précédemment, le visionnage de vidéos présentant des individus utilisant de la cocaïne ou le souvenir d'une scène associée à la prise de cocaïne par des patients addicts en sevrage précoce, induit une libération de DA dans plusieurs régions limbiques telles que le striatum, l'amygdale et l'hippocampe en comparaison à l'association à des signaux neutres (Volkow et al., 2006; Volkow et al., 2011b; Fotros et al., 2013). La présentation ou le souvenir de signaux associés à la prise de cocaïne à des patients en sevrage aigu semble donc induire une augmentation de la neurotransmission dopaminergique similaire à celle observée lors de la prise de drogue elle-même, phénomène pouvant être à l'origine du développement d'un désir intense chez l'individu de prendre de la drogue et précipitant alors la rechute.

IV. Addiction et imagerie cérébrale : études réalisées chez des modèles animaux

Toutes les techniques d'imageries cérébrales utilisées chez l'Homme sont aujourd'hui disponibles et performantes chez les modèles animaux d'addiction que sont les primates non-humains et les rongeurs. L'avantage majeur de ces techniques est de pouvoir réaliser des études longitudinales et d'avoir un aperçu des modulations de l'activité cérébrale sur le cerveau entier. De plus, la capacité de conduire en parallèle des études de neuro-imagerie

dans des modèles animaux et chez l'Homme fournit une approche translationnelle puissante permettant de faire le lien entre la recherche clinique et pré-clinique. Cependant, malgré la disponibilité et la faisabilité de ces techniques de neuro-imagerie chez le petit animal, peu d'études chez les rongeurs et notamment chez le rat ont évalué les modifications de l'activité et du métabolisme cérébral consécutives à l'administration chronique de cocaïne.

A. Modulation de l'activité cérébrale induite par la prise de cocaïne

La majorité des études de neuro-imagerie effectuées en pré-clinique se sont tout d'abord intéressées à l'effet de la prise de cocaïne, aiguë ou chronique, sur les modulations de l'activité et du métabolisme cérébral. De façon générale, les études ont montré que l'administration aiguë de cocaïne, quelque soit le mode d'injection (intra-veineux ou intracérébral), produit une augmentation de l'activité cérébrale de façon dose-dépendante chez le primate non-humain (Howell and Wilcox, 2001; Murnane and Howell, 2011) et le rat (Stein and Fuller, 1992; Febo et al., 2004). L'augmentation de cette activité cérébrale est généralement localisée au niveau de régions du cortex frontal comme le PFC (Stein and Fuller, 1992; Howell and Wilcox, 2001; Febo et al., 2004) puis s'étend vers des régions limbiques telles que le CPU et le NAc pour des concentrations de cocaïne plus élevées (0,75 à 1mg/kg) (Stein and Fuller, 1992). En ce qui concerne l'administration chronique de cocaïne, les effets sur l'activité cérébrale sont plus variables que ceux observés suite à une administration aiguë. Ces variations étant probablement dues en partie à des différences de protocoles. En effet, l'administration intra-péritonéale quotidienne de cocaïne (8 jours, 15mg/kg/inj) chez le rat induit une augmentation du métabolisme du glucose cérébral dans le NAc (Pontieri et al., 1995); alors que celui-ci est diminué chez le rat suite à 5 ou 30 jours d'auto-administration de cocaïne (0,75mg/kg/inj) (Macey et al., 2004). Ces deux études utilisent la même technique d'autoradiographie *via* le 2-[14C]déoxyglucose pour évaluer les changements dans le métabolisme cérébral, cependant, la voie d'administration de la cocaïne est différente entre les deux études, l'une se fait en intra-péritonéal, l'autre en intraveineux, ce qui pourrait expliquer les différences de résultats. De façon générale, l'administration de cocaïne chez le rat semble induire un profil d'activité cérébrale similaire,

qu'elle soit injectée par voie intra-péritonéale ou intra-veineuse, avec une activation du métabolisme cérébral ciblée dans des régions corticales frontales et des régions limbiques comme le NAc et le CPu.

B. Effet du sevrage à la cocaïne sur l'activité cérébrale

L'étude, par des techniques de neuro-imagerie, des modulations de l'activité cérébrale à long terme suite à une exposition prolongée à la cocaïne dans des modèles animaux reste peu documentée. Seules quelques études se sont intéressées à cette problématique dans des modèles animaux de primates non-humains et de rongeurs chez le rat.

1. Etudes chez le primate non-humain

La modulation de l'activité cérébrale a été évaluée dans plusieurs études suite à la ré-exposition à la cocaïne après une période de sevrage. Après une période prolongée d'auto-administration de cocaïne (60 à 100 jours) suivie d'un mois de sevrage, la ré-exposition à la cocaïne ne produit pas d'activation du métabolisme cérébral global observé suite à la phase d'auto-administration (Henry et al., 2010; Murnane and Howell, 2011). Cependant, l'analyse régionale montre une augmentation du métabolisme du glucose cérébral localisée spécifiquement au niveau des aires corticales frontales (Henry et al., 2010). D'autres études ont également évalué l'effet de la ré-exposition à la cocaïne sur le métabolisme cérébral. Ainsi, l'évaluation de l'activité cérébrale en autoradiographie par le 2-[¹⁴C]déoxyglucose montre une réduction du métabolisme cérébral dans des régions telles que le PFC, le CPu, le NAc et l'amygdale (Porrino et al., 2007; Beveridge et al., 2014). La dérégulation du métabolisme cérébral suite à la ré-exposition à la cocaïne semble perdurer à long terme (après 90 jours de sevrage) pour les régions corticales et les ganglions de la base mais retourne à un niveau basal pour les aires limbiques, comme par exemple l'amygdale (Beveridge et al., 2014). La différence de réponse dans l'activité métabolique dans ces études, suite à la ré-exposition à la cocaïne, peut s'expliquer, entre autre, par une différence de procédure pour mesurer l'utilisation cérébrale du glucose. En effet, Henry et ses

collaborateurs utilisent la technique de TEP *via* le ^{18}F FDG qui permet une évaluation sur animal éveillé du cerveau entier alors que les études menées par Beveridge et ses collaborateurs utilisent l'autoradiographie nécessitant le sacrifice de l'animal et donc une analyse sur coupe pouvant potentiellement expliquer les différences de résultats.

Parallèlement, la modulation fonctionnelle du système dopaminergique lors d'une phase de sevrage a été évaluée plus spécifiquement dans le même modèle animal. La disponibilité des récepteurs dopaminergiques D2 retrouve un niveau basal après 3 semaines de sevrage qui font suite à 1 semaine d'auto-administration, alors que suite à une exposition prolongée de 12 mois d'auto-administration, la récupération fonctionnelle de la disponibilité des récepteurs dopaminergiques D2 est plus variable (Murnane and Howell, 2011). En effet, une partie des animaux présente une récupération complète de la disponibilité de ces récepteurs après 3 mois de sevrage alors que l'autre partie ne montre aucune récupération même après 1 an de sevrage (Murnane and Howell, 2011). De plus, suite à 30 jours de sevrage consécutifs à une prise chronique de cocaïne, le « binding » du DAT et des récepteurs dopaminergiques D1 est réduit dans le striatum puis revient à un niveau basal après 90 jours de sevrage (Beveridge et al., 2009). La modulation du système dopaminergique lors du sevrage à la cocaïne semble donc dépendre de la durée d'accès ainsi que de la dose de cocaïne préalablement administrée. Le sevrage à la cocaïne, suite à une administration chronique, induit d'une part, la dérégulation des fonctions dopaminergiques, qui seront majoritairement rétablies à long terme, et d'autre part, d'une modulation du métabolisme cérébral dans des régions corticales comme l'ACC et le PFC ainsi que dans le striatum, le NAc et l'amygdale.

2. Etudes chez le rat

L'une des premières études réalisée chez le rat a évalué l'effet d'une réponse à la cocaïne suite à 1 semaine de sevrage consécutive à 7 jours de traitement (i.p) par la cocaïne. La réponse cérébrale a été évaluée par IRMf, et les résultats montrent une diminution du niveau d'oxygène sanguin chez les rats préalablement traités par la cocaïne en comparaison des rats contrôles (Febo et al., 2004). De plus, deux études récentes ont évalué les

modulations du métabolisme cérébral après une procédure d'auto-administration de cocaïne chez le rat. De façon générale, ces études mettent en avant une diminution du métabolisme cérébral basal suite à une période de sevrage à la cocaïne. Plus spécifiquement, Gozzi et ses collaborateurs ont montré une réduction du volume sanguin cérébral après 10 jours d'abstinence consécutifs à 32 sessions d'auto-administration de cocaïne (Gozzi et al., 2011). Cette diminution est plus spécifiquement localisée dans des aires corticales frontales telles que le PFC, l'OFC et l'ACC ainsi que des régions limbiques comme le Core du NAc. De surcroît, les auteurs ont testé la réponse fonctionnelle à l'AMPH chez les mêmes animaux ; il apparaît que les rats en sevrage à la cocaïne ont une diminution de la réponse fonctionnelle à l'AMPH dans le striatum en comparaison à des rats contrôles (Gozzi et al., 2011). Il semblerait donc que le système dopaminergique soit hypofonctionnel lors d'un sevrage aigu consécutif à une exposition prolongée de cocaïne. Enfin, dans une procédure semblable mais en utilisant une technique de quantification de l'utilisation du glucose cérébral, Calipari et ses collaborateurs ont montré que des rats en sevrage depuis 48 heures suite à 5 jours d'auto administration de cocaïne montrent une diminution de la consommation du glucose en comparaison à des animaux contrôles, réduction observée dans l'ACC, le CPu et le NAc ainsi que la BLA (Calipari et al., 2013). Bien que peu nombreuses, l'ensemble de ces études effectuées vont dans le sens d'une diminution du métabolisme cérébral lors du sevrage aigu à la cocaïne ainsi qu'une diminution de la réponse fonctionnelle du système dopaminergique.

V. Résumé

L'utilisation des techniques de neuro-imagerie a permis une avancée majeure dans la compréhension des modulations de l'activité métabolique et fonctionnelle chez l'Homme, lors de l'arrêt de la consommation de cocaïne, pendant le sevrage. En condition dite « basale », le sevrage aigu à la cocaïne induit une augmentation du métabolisme cérébral et une hypofonctionnalité du système dopaminergique. A long terme, le métabolisme cérébral devient hypoactif. Ces données mettent en avant une évolution de la neuro-modulation lors de la période de sevrage en fonction du temps. De plus, l'étude de la réactivité cérébrale par la présentation de signaux associés à la drogue à des individus en sevrage montre une

activation métabolique majoritairement au niveau des aires corticales frontales ainsi qu'une neurotransmission dopaminergique exacerbée. Ces données démontrent donc que le sevrage à la cocaïne induit des changements de l'activité cérébrale qui pourraient sous-tendre à la réactivité accrue à la drogue et aux signaux associés. Parallèlement, les données pré-cliniques, notamment chez le rat, restent peu documentées et sont majoritairement décrites dans le cas d'un sevrage aigu. En effet, les seules études sur ce sujet montrent une diminution du métabolisme cérébral lors d'un sevrage aigu consécutif à une période prolongée d'auto-administration de cocaïne mais n'ont pas évalué l'évolution de ces changements à long terme. L'utilisation de modèles animaux reste pourtant d'un intérêt majeur afin d'étudier les neuro-adaptations à long terme induites par la prise de drogue car l'expérimentation animale permet d'isoler et contrôler de nombreux facteurs, comme par exemple la carte génétique, l'environnement, le contexte historique et social, le type de drogues consommées, paramètres qui sont difficilement contrôlables chez l'Homme. Nous avons donc choisi de réaliser une étude longitudinale, dans un modèle d'addiction chez le rat, visant à évaluer les modifications de l'activité métabolique cérébrale à long terme suite à une exposition chronique à la cocaïne.

Chapitre 4 : Influence de l'exposition à un environnement positif sur les comportements addictifs

Comme nous l'avons exposé dans le chapitre 1 « *l'Addiction* », l'un des facteurs jouant un rôle prépondérant dans la vulnérabilité ou la résistance à l'addiction aux drogues est l'environnement. On entend par « environnement » tous les facteurs extrinsèques qui ponctuent la vie d'un individu comme par exemple le niveau socio-économique, le niveau d'étude, les relations sociales ou encore toutes autres expériences de la vie. Il a largement été décrit que des facteurs environnementaux négatifs augmentent la vulnérabilité à l'addiction aux drogues (Sinha, 2001) alors que les facteurs environnementaux dits « positifs » ont des propriétés protectrices vis-à-vis de l'addiction aux drogues (Solinas et al., 2010a). Dans la suite de ce chapitre, j'ai choisi de me concentrer sur l'influence d'une stimulation environnementale positive sur l'addiction aux drogues qui est en lien avec mes travaux de recherche.

I. L'environnement enrichi (EE)

A. Description

Lamarque et Darwin ont été les premiers à avancer l'idée du rôle de l'environnement dans la modulation comportementale et physiologique des individus et plus spécifiquement de l'interaction entre les organismes vivants et leur environnement. Par la suite, l'influence d'une stimulation environnementale positive sur le comportement des animaux de laboratoire a été développée par Hebb. En effet, dans une étude pionnière, il a pu démontrer que des rats, élevés librement à son domicile, développaient de meilleures capacités d'apprentissage et d'exploration que des rats élevés dans des cages en laboratoire (Hebb, 1947). Par la suite, le concept d'enrichissement de l'environnement fût avancé grâce

aux travaux de Rosenzweig qui fut le premier à réaliser des études permettant d'évaluer qualitativement et quantitativement les changements cérébraux et comportementaux induits par un environnement positif. En effet, à travers d'élégants travaux, Rosenzweig et ses collaborateurs ont démontré que l'exposition à un EE induit des modifications cérébrales et comportementales majeures chez les rongeurs. En effet, l'exposition à l'EE augmente le poids et la taille du cerveau, le nombre d'épines dendritiques et accroît la complexité synaptique. D'un point de vue comportemental, l'EE améliore les capacités d'apprentissage et d'accomplissement de tâches complexes chez les rats (Rosenzweig and Bennett, 1996). Ses observations ont ouvert un nouveau champ d'étude sur les effets positifs d'un EE sur le cerveau. Par la suite, l'EE a donc été défini comme un ensemble d'interactions sociales et inanimées permettant des stimulations sociales, cognitives et motrices des animaux (Rosenzweig et al., 1978) (Figure 9), définition toujours valable et utilisée aujourd'hui dans les travaux de recherche réalisés sur cette thématique.

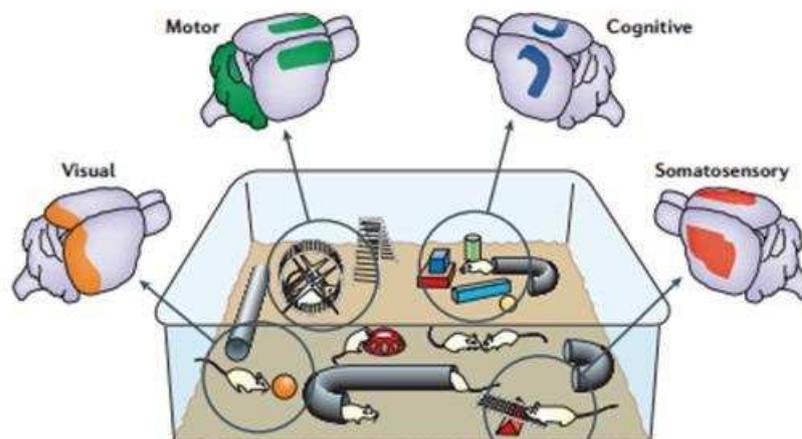


Figure 9 : Représentation schématique d'un environnement enrichi constitué d'un ensemble de stimulations visuelles, somatosensorielles, cognitives et motrices (Nithianantharajah and Hannan, 2006).

Dans notre laboratoire, l'EE est constitué d'une grande cage (cage de l80 X l50 X H100 cm pour les rats et cage de l60 X l38 X H20 cm pour les souris), où les animaux peuvent évoluer en groupes, et contenant une roue, une maison ainsi que plusieurs jouets de forme,

taille et couleur différentes afin de stimuler les animaux sur le plan social, physique, cognitif et visuel (Figure 10). Les animaux hébergés en EE sont 3 à 4 par cage (Solinas et al., 2008; Chauvet et al., 2009; Solinas et al., 2009; Chauvet et al., 2011a; Chauvet et al., 2012) mais suivant les études, les groupes peuvent être constitués de plus de 10 animaux (Bowling et al., 1993; Bardo and Valone, 1994; Green et al., 2002; Green et al., 2010). L'une des caractéristiques importantes de l'EE est la nouveauté. En conséquence, les jouets des animaux sont changés toutes les semaines, stimulant ainsi le comportement exploratoire et la curiosité des rongeurs (Nithianantharajah and Hannan, 2006; Laviola et al., 2008). Par ailleurs, plusieurs modèles d'enrichissement sont utilisés suivant les laboratoires. Certains l'utilisent comme une condition d'hébergement (Chauvet et al., 2009), c'est le choix que nous avons fait au sein de notre laboratoire, alors que d'autres préfèrent exposer les animaux uniquement quelques heures par jour ou par semaine (Rampon et al., 2000). Malgré le fait que les conditions d'exposition à l'EE puissent être différentes selon les études et les laboratoires, il est clairement établi que l'EE a des effets bénéfiques au niveau neuroanatomique, neurofonctionnel et comportemental. Bien que ces effets soient décrits dans diverses pathologies cérébrales, comme, entre autres, la maladie d'Alzheimer ou la maladie de Parkinson (Laviola et al., 2008), dans la suite de ce chapitre, je me consacrerai à l'étude de l'exposition de rongeurs à un EE sur l'addiction aux drogues.

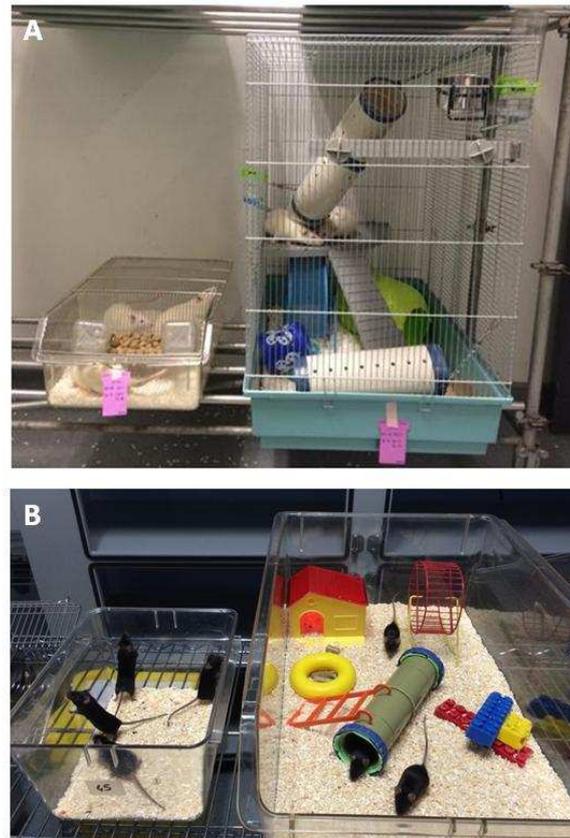


Figure 10 : Photographies illustrant l'environnement enrichi au sein de notre laboratoire. A- Rats hébergés en environnement standard (à gauche) servant de groupe contrôle et en environnement enrichi (à droite). B- Souris hébergées en environnement standard servant de contrôle (à gauche) et en environnement enrichi (à droite).

B. Effets préventifs de l'EE sur l'addiction aux drogues

Parmi les études pionnières s'intéressant à l'effet de l'EE sur l'addiction aux drogues d'abus, une grande majorité a été effectuée dans le laboratoire de Michael Bardo, aux Etats-Unis. Ces études ont été réalisées principalement chez des rats hébergés dans un EE en comparaison à des rats hébergés en condition isolée (IE).

Leurs premiers travaux ont mis en évidence que des rats élevés en EE montrent une réponse locomotrice plus élevée que des rats isolés suite à l'injection aiguë d'AMPH ou de cocaïne

(Bowling et al., 1993; Bowling and Bardo, 1994). Cependant, des résultats opposés ont été décrits pour la morphine (Bardo et al., 1995a), et la nicotine (Green et al., 2003) où les rats

préalablement exposés à l'EE montrent une réduction des effets locomoteurs de ces drogues en comparaison aux rats isolés. L'utilisation du modèle de sensibilisation comportementale a permis de mettre en évidence que la sensibilisation à l'AMPH (Bardo et al., 1995b), la nicotine (Green et al., 2003; Adams et al., 2013) et la morphine (Bardo et al., 1995a) était diminuée chez les rats exposés à l'EE. Parallèlement, et de façon surprenante, il a été démontré que l'exposition à l'EE ne diminue pas les effets récompensants de l'AMPH (Bardo et al., 1995a) et de la morphine (Bardo and Valone, 1994) dans un modèle de préférence de place conditionnée (CPP). En effet, les rats élevés en EE et IE présentent tous une préférence de place pour le compartiment préalablement associé à la drogue.

Au sein de notre équipe, plusieurs études se sont intéressées aux effets de l'EE dans des modèles de sensibilisation comportementale et de CPP chez la souris. Nos travaux montrent que, les souris exposées à l'EE ont une diminution de la sensibilisation comportementale induite par la cocaïne, ainsi qu'une diminution de la préférence de place pour le compartiment associé à cette même drogue (Solinas et al., 2009). La réduction de la réponse comportementale des souris élevées en EE face à la cocaïne a été associée à des modifications d'expression de marqueurs d'activité neuronale comme une diminution striatale de l'expression des protéines delta-fosB, et Zif-268 (Solinas et al., 2009). La protection apportée par l'exposition à l'EE semble donc passer par une réduction de l'activité neuronale dans le striatum.

Nous avons pu également démontrer que l'exposition des animaux à l'EE a des effets différents suivant l'évaluation des effets récompensants, locomoteurs ou de sensibilisation comportementale induits par une drogue. En effet, contrairement aux effets observés sur la cocaïne, l'EE protège uniquement contre les effets récompensants de l'héroïne démontrés dans un modèle de CPP, alors qu'il n'a pas d'effet sur la locomotion et la sensibilisation comportementale induite par cette même drogue (El Rawas et al., 2009). Enfin, dans un modèle de CPP à la méthamphétamine (METH), nous avons pu démontrer que l'exposition à l'EE ne protège pas contre les effets récompensants, locomoteurs et neurotoxiques de cette drogue (Thiriet et al., 2011).

Par ailleurs, dans des procédures d'auto-administration de drogue chez le rat, il a été démontré que les effets renforçants de l'AMPH (Bardo et al., 2001; Green et al., 2002) et de

la cocaïne (Gipson et al., 2011; Puhl et al., 2012) sont réduits chez les rats élevés en EE. De plus, grâce à des procédures de ratio progressif, il a été mis en évidence que la motivation des rats pour l'AMPH est réduite par l'EE (Bardo et al., 2001; Green et al., 2002). Enfin, la résistance à l'extinction et à la rechute induite par l'AMPH (Stairs et al., 2006) ou la cocaïne (Green et al., 2010) est également diminuée chez les rats EE.

A travers l'ensemble de ces travaux, il a clairement été établi que l'exposition à un environnement positif et stimulant, modélisé par l'EE en laboratoire, a des effets positifs sur l'addiction aux drogues d'abus. En effet, l'hébergement en EE permet de diminuer les effets pharmacologiques et renforçants des drogues, et également de réduire la motivation et la recherche de drogue démontrant son effet préventif sur l'addiction aux drogues d'abus.

C. Effets curatifs de l'EE sur l'addiction aux drogues

L'EE ayant un effet préventif sur l'addiction, nous nous sommes questionnés sur l'éventuel pouvoir curatif de cet environnement. Autrement dit, l'exposition à un EE pourrait-il permettre de traiter l'addiction aux drogues d'abus? En effet, l'une des phases critiques de l'addiction étant la rechute, qui peut survenir même après de longues périodes d'abstinence, nous nous sommes demandés si l'exposition des animaux à l'EE pendant la période de sevrage pouvait diminuer, voire contre-carrer, cette recherche de drogue.

Les premières études ont été réalisées sur des modèles de sensibilisation comportementale et de CPP à la cocaïne chez la souris. Nous avons pu démontrer que l'exposition à l'EE pendant 30 jours de sevrage permet d'abolir la sensibilisation comportementale et la préférence de place conditionnée induite par la cocaïne (Solinas et al., 2008; Chauvet et al., 2011a). Cet effet est associé à une diminution de l'expression de la protéine c-fos dans des régions corticales (l'ACC, l'OFC et le cortex infralimbique) mais également dans des régions motrices et limbiques telles que le CPU, le NAc, la VTA, le BNST, la BLA et le CeA (Solinas et al., 2008; Chauvet et al., 2011a). L'étude des effets curatifs de l'EE sur les comportements addictifs a été étendue à des modèles d'auto-administration de cocaïne chez le rat. Il a alors été démontré que des rats exposés à l'EE pendant le sevrage

ont un comportement de recherche de cocaïne significativement diminué (Chauvet et al., 2009; Thiel et al., 2009; Thiel et al., 2010; Chauvet et al., 2012). Cet effet est observable suite à l'induction de la recherche de drogue par les signaux environnementaux et le stress mais il n'a pas été identifié lors de l'induction par la drogue elle-même (Chauvet et al., 2009; Thiel et al., 2009). La diminution comportementale de la recherche de cocaïne suite à l'exposition des animaux à l'EE est associée à la diminution de l'expression de la protéine c-fos dans des régions cérébrales impliquées dans la rechute (par exemple l'ACC, le NAc, la VTA...) (Thiel et al., 2010; Chauvet et al., 2011a).

Ces études sont en accord avec des observations pré-cliniques et cliniques mettant en évidence qu'un environnement positif et stimulant peut être déterminant dans le traitement de l'addiction aux drogues d'abus (Setlow, 2008 ; Schnabel, 2009). De plus, ces études ont permis de démontrer qu'en plus de ses effets préventifs sur le développement des comportements addictifs, l'EE permet de diminuer les risques de rechute, mettant en avant son fort potentiel thérapeutique.

II. Comment l'EE diminue-t-il la vulnérabilité à l'addiction ? **Hypothèse d'une récompense alternative**

Comme nous venons de l'exposer, l'EE présente à la fois des effets préventifs mais également curatifs sur l'addiction aux drogues et notamment l'addiction à la cocaïne. Plus spécifiquement, l'exposition à l'EE permet de diminuer le comportement de recherche de cocaïne dans des modèles animaux de rechute (Chauvet et al., 2009; Chauvet et al., 2012). Ainsi, au travers de l'étude de l'EE, il est primordial de comprendre comment, et par quels mécanismes, l'exposition à un EE permet de diminuer le comportement de recherche de drogue et donc de diminuer la rechute à la cocaïne. Dans une revue récente, mon équipe a émis des hypothèses sur différents mécanismes qui pourraient permettre d'expliquer les processus psychobiologiques qui sous-tendent les effets positifs de l'EE sur la rechute (Solinas et al., 2010a). L'une des hypothèses émises est que l'EE agirait comme une récompense alternative. En effet, l'ensemble des composants de l'EE que sont les interactions sociales (Panksepp et al., 1997a; Vanderschuren et al., 1997a; Panksepp and

Lahvis, 2007; Thiel et al., 2008b), la nouveauté (Bevins and Bardo, 1999b; Bevins and Besheer, 2005; Pelloux et al., 2006a), et l'activité physique volontaire (Iversen, 1993; Lett et al., 2000) sont connus comme étant récompensants chez l'animal. Ainsi, il est possible d'envisager que l'exposition exclusive à l'une de ces récompenses, qui font partie intégrante de l'EE, pourrait, tout comme l'EE, permettre de diminuer le comportement de recherche de drogue. Dans le chapitre suivant « *Effet de l'exposition à une récompense alternative sur les comportements addictifs* », je développerai en détails l'effet de l'exposition à une récompense alternative sur les comportements addictifs.

Chapitre 5 : Effet de l'exposition à une récompense alternative sur les comportements addictifs

I. Qu'est-ce qu'une récompense alternative chez les rongeurs ?

Une récompense naturelle alternative regroupe, de façon générale, l'ensemble des stimuli possédant une valeur incitative et renforçante pour un individu. Ainsi, la nourriture, notamment sucrée (Ahmed, 2012), l'activité physique (Iversen, 1993; Lett et al., 2000), les interactions sociales (Panksepp et al., 1997a; Vanderschuren et al., 1997a; Panksepp and Lahvis, 2007; Thiel et al., 2008b) (Panksepp et al., 1997a; Vanderschuren et al., 1997a; Panksepp and Lahvis, 2007; Thiel et al., 2008b) et la nouveauté (Bevins and Bardo, 1999b; Bevins and Besheer, 2005; Pelloux et al., 2006a) peuvent être considérées comme des récompenses naturelles alternatives renforçantes pour les rongeurs. En effet, les rats sont capables d'effectuer un nombre élevé de réponses opérantes pour avoir accès à une solution sucrée (Grimm et al., 2002b; Goeders et al., 2009) ou une roue d'activité (Iversen, 1993). De plus, les rats consomment de très grandes quantités de solution sucrée (Avena et al., 2008b) et montrent une préférence accrue pour le sucrose lorsqu'ils ont le choix entre de l'eau ou du sucrose (Avena et al., 2008b; Vendruscolo et al., 2010a; Vendruscolo et al., 2010b). Ces études mettent en exergue la valeur renforçante d'une solution sucrée et de la pratique d'une activité physique pour les rongeurs et donc valident l'utilisation de ce type de stimuli comme récompense alternative naturelle.

D'un point de vue neurobiologique, les récompenses alternatives comme le sucrose et l'activité physique activent le système de la récompense (Werme et al., 2002; Carelli, 2004) et augmentent le niveau de dopamine dans le NAc, tout comme les drogues d'abus (Bassareo and Di Chiara, 1997; Bassareo et al., 2002). De plus, l'exposition chronique à une solution sucrée ou une roue d'activité induit des neuro-adaptations dans le circuit de la récompense qui peuvent moduler la réactivité aux drogues (Liu and Grigson, 2005; Bocarsly et al., 2012b; Zlebnik et al., 2014).

De surcroît, en ce qui concerne les solutions sucrées, les modifications neurobiologiques semblent dépendantes du type d'accès à la solution. En effet, Avena et ses collaborateurs ont mis en évidence que l'accès intermittent au sucrose induit des effets identiques aux drogues d'abus (Avena et al., 2008b). Effectivement, une exposition intermittente, mais répétée, au sucrose produit des modifications cérébrales telles qu'une sensibilisation du circuit de la récompense et des comportements typiques des comportements addictifs comme par exemple une consommation en « binge » et des signes de sevrage (Colantuoni et al., 2002; Avena et al., 2008b).

L'ensemble de ces données suggèrent que l'exposition à une récompense alternative pourrait induire des modulations cérébrales et modifier la réponse comportementale face aux drogues d'abus. Dans la suite de ce chapitre, je me consacrerai à l'impact de l'accès à une récompense alternative, et plus spécifiquement l'exercice physique et les solutions sucrées, sur l'addiction aux drogues.

II. Effets de l'exposition à une récompense alternative naturelle sur l'addiction aux drogues

Parmi l'ensemble des études réalisées sur l'influence de l'exposition à une récompense alternative sur les comportements addictifs, de nombreux travaux ont évalué si l'accès préalable à une telle stimulation pouvait moduler la récompense comportementale face aux drogues d'abus. Dans ce chapitre, je me consacrerai spécifiquement à l'influence de deux types de récompenses alternatives que sont les solutions sucrées et l'activité physique. De façon générale, la littérature montre que l'accès à une récompense alternative préalablement à la drogue permet de réduire la vulnérabilité à l'addiction et donc entraîne une diminution de la prise de drogue. La majorité de ces études a été réalisée grâce au modèle d'auto-administration de drogue. Par exemple, dans une étude menée par Vendruscolo et ses collaborateurs, les auteurs ont montré que la consommation de sucrose, à l'adolescence, chez le rat, induit, à l'âge adulte, une diminution de la préférence et de la consommation d'éthanol (Vendruscolo et al., 2010b) ainsi qu'une réduction de la consommation de sucrose bien qu'aucune modification n'ait été observée sur l'auto-

administration de cocaïne (Vendruscolo et al., 2010a). Parallèlement, dans des études traitant de l'impact de l'exercice physique sur le comportement addictif, il a été mis en évidence que la pratique d'une activité physique chez le rat, du sevrage jusqu'à l'âge adulte, permet de diminuer le comportement d'acquisition d'auto-administration de cocaïne et également de réduire les effets locomoteurs induits par cette même drogue (Smith and Witte, 2012) (Smith and Pitts, 2011). De plus, grâce à une procédure de ratio progressif, utilisée pour mesurer la motivation de l'animal, des études ont mis en avant l'action protectrice de l'activité physique envers les effets renforçants de la cocaïne. En effet, les rats pratiquant une activité physique montrent un seuil de rupture (« breakpoint ») inférieur à des rats sédentaires, ceci permet donc de démontrer une diminution de leur motivation pour la drogue (Smith et al., 2008). L'ensemble de ces données a permis de démontrer que l'exposition à une récompense alternative, comme une solution sucrée ou l'activité physique, protège les animaux contre les effets renforçants des drogues d'abus, et semble ainsi diminuer la vulnérabilité à l'addiction.

Par ailleurs, plusieurs études ont pu mettre en évidence que l'accès à une récompense alternative, pendant les sessions d'auto-administration, réduit la préférence et la prise de drogue. En effet, de façon intéressante, Carroll et ses collaborateurs ont pu montrer que l'accès concomitant au sucrose et à la cocaïne, pendant les sessions d'auto-administration, diminue la proportion de rats qui apprennent à s'auto-administrer de la drogue (Carroll et al., 1989; Carroll and Lac, 1993a). De plus, lorsque les rats ont acquis le comportement d'auto-administration, l'accès simultané au sucrose et à la cocaïne permet de diminuer la prise et la préférence pour la drogue (Carroll and Stotz, 1983; Carroll and Lac, 1993a). En outre, dans des procédures de choix, où l'on oblige le rat à choisir entre une solution sucrée, la saccharine (solution sucrée ne contenant pas d'apport calorique), et la drogue dans des cages opérantes, les rats préfèrent largement la saccharine et ignorent la cocaïne (Lenoir et al., 2007; Cantin et al., 2010; Ahmed et al., 2013d; Ahmed et al., 2013c; Lenoir et al., 2013a; Madsen and Ahmed, 2014). Cette préférence se voit abolie dans le cas d'une exposition à long terme à une drogue hautement addictive comme l'héroïne, sans pour autant montrer une préférence pour la drogue (Lenoir et al., 2013a). L'accès au sucrose simultanément à une drogue d'abus semble donc diminuer l'effet récompensant de celle-ci. De façon encore plus surprenante, dans des procédures de choix, l'effet récompensant du

sucrose semble surpasser celui de la drogue. Parallèlement, concernant l'activité physique, il a été démontré, tout comme pour une solution sucrée, que l'accès à une roue d'activité pendant les sessions d'auto-administration de cocaïne permet de diminuer la prise de drogue et également de prévenir l'escalade donc la perte de contrôle sur la consommation (Cosgrove et al., 2002b; Zlebnik et al., 2012). Par ailleurs, quelques études ont également démontré l'effet protecteur de l'exercice physique pour les AMPH et l'héroïne. En effet, un accès concomitant à une roue d'activité et à une solution d'AMPH permet de diminuer la consommation orale de cette drogue par rapport à des rats sédentaires (Kanarek et al., 1995). De plus, la possibilité de faire de l'exercice physique pendant des sessions d'auto-administration de drogue induit également la baisse de la prise de METH (Miller et al., 2012) et d'héroïne (Smith and Pitts, 2012). L'accès simultané à une drogue d'abus et à une récompense alternative semble pouvoir diminuer la consommation de drogue, et également protéger contre la perte de contrôle de la prise de drogue. De plus, dans des procédures de choix, l'effet renforçant de la récompense alternative, en l'occurrence une solution sucrée, semble dépasser celui de la drogue et donc permettre d'en réduire la consommation.

Enfin, plusieurs laboratoires se sont intéressés à l'effet de l'exposition à une récompense alternative, principalement l'exercice physique, pendant le sevrage sur le comportement de recherche de drogue et sur la rechute. De nouveau, l'ensemble de ces études a été réalisé sur un modèle d'auto-administration chez le rat. Ainsi, il a été démontré que l'exposition à une roue d'activité pendant une période de sevrage diminue la rechute à la cocaïne, que le comportement soit induit par la drogue elle-même ou par le contexte (Lynch et al., 2010; Smith et al., 2012). D'un point de vue moléculaire, l'effet comportemental protecteur de l'exercice physique sur la rechute à la cocaïne est associé à une diminution de l'expression de la protéine ERK phosphorylée dans le PFC des rats ayant reçu la drogue et pratiquant une activité physique (Lynch et al., 2010). Il semblerait donc que la pratique de l'exercice physique pendant une période d'abstinence permette de palier à l'augmentation de l'activité neuronale du PFC, région impliquée dans la mise en place du « craving » et de la rechute, lors du test de recherche de drogue. Par la suite, Peterson et ses collaborateurs ont approfondi l'hypothèse que l'activité physique diminuerait de façon dose-dépendante la recherche de cocaïne (Peterson et al., 2014a; Peterson et al., 2014b). Pour cela, suite à une période d'auto-administration de cocaïne, les rats sont placés en sevrage

avec une période d'accès à une roue d'activité variant entre 1, 2, 6 et 24 heures par jour en fonction des groupes. A l'issue de 14 jours de sevrage dans ces conditions, les rats subissent un test de rechute qui débute par une procédure d'extinction puis de rétablissement du comportement de recherche de drogue par les signaux préalablement associés à la prise de cocaïne. Une heure de course par jour pendant la phase de sevrage ne réduit pas le comportement de recherche de cocaïne alors que 2, 6 et 24 heures de course permettent de diminuer significativement la recherche de cocaïne induite par les signaux et ceci de façon dose-dépendante (Peterson et al., 2014a; Peterson et al., 2014b). A noter que, l'activité physique diminue la recherche de drogue induite par les signaux mais n'a pas d'effet sur l'extinction en comparaison à des rats contrôles ayant eu accès à une roue bloquée. L'effet bénéfique de l'exercice physique sur la rechute semble passer par une atténuation de l'augmentation du niveau d'expression de l'exon IV du BDNF observé pendant le sevrage à la cocaïne (Peterson et al., 2014a). En plus de l'effet préventif préalablement décrit, l'exercice physique semble également avoir un potentiel curatif envers l'addiction à la cocaïne et donc permettre de diminuer la rechute. Contrairement à l'exercice physique, peu d'études ont évalué l'influence de la consommation de solution sucrée pendant le sevrage sur la rechute. Seule une étude a mis en avant qu'un bref accès de 5 minutes à une solution sucrée, suite à 3 mois de sevrage, permet de réduire la résistance à l'extinction et le rétablissement du comportement de recherche de drogue induit par une injection de cocaïne, en comparaison à des rats ayant eu accès uniquement à de l'eau (Liu and Grigson, 2005). L'accès à une récompense alternative pendant le sevrage consécutif à une prise chronique de drogue permet de réduire la recherche de drogue et donc de diminuer la rechute.

L'ensemble des études décrites sont en accord pour dire que l'exposition à une récompense alternative chez les rongeurs permet de réduire la réponse comportementale face aux drogues et principalement la cocaïne.

III. Effet de la consommation de drogue sur la réponse comportementale aux récompenses alternatives naturelles

En laboratoire, le sucrose étant considéré comme une récompense naturelle, il est souvent utilisé pour mesurer l'anhédonie, qui est définie comme l'incapacité à éprouver une sensation positive. L'anhédonie est un symptôme majeur des comportements dépressifs. En effet, des animaux exposés à un stress chronique modéré montrent une diminution de la préférence et de la consommation de sucrose en comparaison à des animaux contrôles (Willner et al., 1987) mais également une réduction de la préférence de place pour le compartiment associé à la solution sucrée (Cryan et al., 2002a).

Dans le cas de l'addiction aux drogues, un symptôme important est le désintérêt pour toutes autres activités récréationnelles que celles centrées sur la recherche ou la prise de drogue. Ainsi, des hypothèses suggèrent qu'il existe une dérégulation du circuit de la récompense conduisant à une dévaluation des récompenses naturelles. Ceci a notamment été démontré par l'augmentation du seuil de stimulation intracérébrale chez des rats placés en abstinence suite à une exposition prolongée à la cocaïne (Ahmed et al., 2002b). En effet, suite à l'arrêt de la prise de drogue, un syndrome de sevrage caractérisé, entre autre, par une diminution de l'effet renforçant des facteurs autres que la drogue, pouvant être définie comme anhédonie, peut être observé.

Ainsi, la mesure de la réponse comportementale à une récompense alternative naturelle chez des modèles animaux d'addiction pourrait être considérée comme une évaluation de l'anhédonie suite à la prise chronique de drogue. En effet, il a été démontré que des rats ayant un accès simultané à une roue d'activité et à l'auto-administration de METH (Miller et al., 2012), ou de cocaïne (Cosgrove et al., 2002b), courent moins que des rats ayant uniquement accès à la roue. De façon similaire, Smith et ses collaborateurs ont montré que la distance de course parcourue, après des séances de prise de cocaïne en « binge », est réduite et ne retrouve jamais un niveau basal bien qu'elle augmente entre chaque séance (Smith and Pitts, 2011). Les animaux ayant expérimenté la drogue semblent avoir une diminution de la valeur récompensante de l'activité physique. De plus, la chute du niveau de course observée après chaque séance de prise de cocaïne en « binge » (Smith and

Pitts, 2011) pourrait s'apparenter à un syndrome de sevrage aigu réduisant ainsi la motivation des animaux pour les récompenses alternatives naturelles.

La prise de drogue semble donc moduler la réponse comportementale face aux récompenses alternatives chez le rongeur. La mesure de la réponse comportementale face à une récompense alternative suite à la prise de drogue semble donc être un indicateur de la mise en place d'un syndrome de sevrage caractérisé par une anhédonie.

IV. L'exposition à une activité récréationnelle peut-elle être envisagée comme stratégie thérapeutique dans le cas d'une addiction chez l'Homme ?

L'exposition à une activité stimulante récréationnelle est une stratégie thérapeutique aujourd'hui envisagée dans le cas d'une addiction chez l'Homme. Les premières études chez l'Homme ont majoritairement été réalisées en utilisant comme récompense des bons monétaires qui facilitent le maintien de l'abstinence et diminuent donc significativement la rechute dans le cas de plusieurs drogues d'abus comme par exemple, l'alcool, la nicotine et la cocaïne (Lussier et al., 2006). Depuis quelques années, un autre type d'activité récompensante et facilement quantifiable est proposé à l'Homme, il s'agit de l'activité physique. A ce jour, quelques études cliniques, réalisées dans le cas d'une addiction au tabac, mettent en évidence le fait qu'une pratique régulière d'activité physique pendant plusieurs semaines (en moyenne 12 semaines) est à l'origine d'une diminution de la consommation de cigarettes ainsi que du « craving » et les symptômes de sevrage (Everson et al., 2006; Taylor et al., 2007). La pratique de l'exercice par des patients dépendants au tabac inclus dans un programme de sevrage médical, permet de réduire la consommation de tabac à la fois pendant (Prapavassis et al., 2007; Brown et al., 2010), mais aussi après la période d'activité physique (Taylor et al., 2007). Le suivi longitudinal des patients après la procédure de sevrage par la pratique d'exercice physique permet de montrer un effet à long terme puisque dans la majorité des cas, nous observons chez ces patients un maintien de l'abstinence, après 3 et 12 mois, supérieur aux patients passifs contrôles (Marcus et al.,

1999; Taylor et al., 2007; Brown et al., 2010). Cependant, deux études mettent en avant une ré-augmentation de la consommation de tabac après 3 et 12 mois post-traitement (Prapavessis et al., 2007; Ussher et al., 2007). Par ailleurs, l'association d'une pratique physique à un traitement anti-tabagique nicotinique potentialise le maintien de l'abstinence (Prochaska et al., 2008). De plus, il reste, tout comme chez l'animal, à déterminer si la quantité d'exercice effectué est liée à l'effet bénéfique sur la diminution du comportement addictif. Seule une étude a mis en avant le fait que la pratique de vélo à forte intensité permet de diminuer le « craving » en comparaison à une pratique de faible intensité (Taylor et al., 2007). Enfin, la littérature reste encore peu documentée et controversée sur l'effet de la pratique d'une activité physique sur la rechute précipitée par les signaux associés à la drogue. En effet, seulement deux études se sont intéressées à cette question. Alors que l'une montre que la pratique d'une activité physique diminue le « craving » chez les patients lors de la présentation de signaux de rappel, la seconde a mis en évidence une augmentation du « craving » (Taylor et al., 2007).

Bien que l'ensemble des études réalisées montrent des effets plus ou moins importants de l'exercice physique sur la consommation et le maintien de l'abstinence au tabac, ces variabilités sont peut-être dues à des divergences de procédure. En effet, l'ensemble des protocoles ne suggèrent pas la même pratique, la même intensité et la même durée d'activité physique. Néanmoins, il semblerait que la pratique physique régulière, associée ou non à un traitement anti-tabagique, permette de diminuer la consommation de tabac et de faciliter le maintien de l'abstinence à plus ou moins long terme.

Parallèlement aux études menées sur l'effet protecteur de la pratique d'une activité physique sur l'addiction aux drogues, un autre type de thérapie alternative est aujourd'hui proposé et développé pour essayer de faciliter le maintien de l'abstinence notamment chez des patients diagnostiqués pour une dépendance tabagique. Il s'agit de thérapies basées sur la conscience de soi qui regroupent des activités de méditation ou encore de pratique de musique comme les percussions. Il a été montré, dans des études cliniques, que la pratique de la méditation, en groupe et individuellement à domicile, permet de diminuer le « craving » ainsi que la consommation de cigarettes pendant la période de thérapie et

jusqu'à 4 mois après l'arrêt de la procédure (Elwafi et al., 2013; Witkiewitz et al., 2013). De façon similaire, la pratique d'une activité musicale, et plus spécifiquement des percussions, a également montré un effet bénéfique comme thérapie complémentaire dans le traitement de l'addiction (Winkelman, 2003). En effet, la pratique de percussions au sein d'un groupe de thérapie a été démontrée comme a) ayant des propriétés relaxantes et récompensantes, b) permettant une ouverture vers la conscience de soi et son bien-être et c) une connexion et une ouverture sociale, un ensemble de facteurs qui ne sont plus présents mais délaissés dans le quotidien des patients dépendants à une drogue (Winkelman, 2003). Ainsi, amener les patients dépendants vers la pratique d'activités stimulantes et l'acceptation du soi et de leur bien-être semble être une stratégie thérapeutique alternative complémentaire et efficace dans le maintien de l'abstinence.

V. Résumé

Comme nous venons de le présenter, une stimulation environnementale positive, qu'elle soit plus ou moins complexe, peut avoir des effets bénéfiques sur l'addiction aux drogues. En effet, l'exposition à une récompense alternative naturelle pendant des sessions d'auto-administration diminue significativement la prise et la préférence pour la drogue (Carroll et al., 1989; Carroll, 1993; Carroll and Lac, 1993a; Carroll et al., 1995; Kanarek et al., 1995; Rodefer and Carroll, 1996; Cosgrove et al., 2002b; Zlebnik et al., 2012). De plus, plusieurs études ont mis en évidence que l'exposition à une récompense alternative naturelle comme le sucrose ou l'activité physique a un effet préventif sur l'addiction à la cocaïne (Smith et al., 2008; Vendruscolo et al., 2010a; Smith and Pitts, 2011; Smith et al., 2012). Enfin, l'exercice physique semble également présenter un pouvoir curatif sur l'addiction à la cocaïne (Lynch et al., 2010; Smith et al., 2012; Peterson et al., 2014b). Cependant, par rapport à ces résultats pré-cliniques, il est important de noter une différence majeure entre ces diverses études et celles démontrant un effet curatif de l'EE. En effet, l'EE est considéré comme une condition d'hébergement à part entière, sur des périodes plus ou moins longues (jour, semaines, mois...) physiquement séparé des cages d'auto-administration (Solinas et al., 2008; Chauvet et al., 2009; Thiel et al., 2009; Thiel et al., 2010;

Chauvet et al., 2012; Thiel et al., 2012b), alors que, pour la plupart des études sur les récompenses alternatives, ces dernières sont accessibles à l'intérieur des cages d'auto-administration (Carroll et al., 1989; Cosgrove et al., 2002b; Lenoir et al., 2007; Smith et al., 2012; Zlebnik et al., 2012).

Ainsi afin de répondre à notre hypothèse de travail basée sur l'idée que l'EE pourrait avoir un effet curatif sur l'addiction aux drogues d'abus en agissant comme une récompense alternative (Solinas et al., 2010a); nous avons choisi de tester deux récompenses alternatives différentes que sont l'exercice physique volontaire, faisant partie intégrante de l'EE, et le sucre, suivant le même design expérimental que celui utilisé pour l'EE, c'est-à-dire avec un accès libre 24h/24 pendant un mois de sevrage. Ceci a fait l'objet du deuxième projet de ma thèse traitant de l'influence de l'exposition à une récompense alternative pendant une période de sevrage sur le comportement de recherche de cocaïne chez le rat.

OBJECTIFS DE LA THESE

L'objectif principal de ma thèse s'est articulé autour de la caractérisation des neuro-adaptations mises en place à long terme, suite à une exposition chronique à la cocaïne. En effet, l'une des caractéristiques majeures de l'addiction à la cocaïne est un fort taux de rechute même après de longues périodes d'abstinence. Cependant, les mécanismes cérébraux, permettant de comprendre les processus sous-jacents à l'addiction pouvant influencer les risques de rechute, ne sont pas encore bien caractérisés. Ainsi, l'étude des modulations cérébrales mises en place lors de l'abstinence et sous-jacentes au phénomène de rechute est cruciale, non seulement pour mieux comprendre cette pathologie, mais aussi pour envisager des stratégies thérapeutiques centrées sur la prévention à long terme. En ce sens, l'un des objectifs de mon travail de thèse a consisté en l'évaluation des effets à long terme d'une prise chronique de cocaïne lors d'une période d'abstinence dans un modèle d'addiction chez le rat sur le plan anatomique et fonctionnel. Puis, dans un second temps, forts des précédents résultats de notre équipe, nous avons mis en place une stratégie comportementale du traitement de la rechute à la cocaïne, également dans un modèle animal d'addiction chez le rat.

Dans le premier projet, intitulé « **Etude des modifications vasculaires à long terme induites par la prise chronique de cocaïne : approche anatomique** », nous avons étudié si l'administration chronique de cocaïne pouvait induire, à long terme, des modifications au niveau du système vasculaire cérébral. Pour cela, nous avons réalisé une étude anatomique du réseau vasculaire dans plusieurs régions cérébrales connues pour jouer un rôle dans l'addiction. L'analyse a été effectuée après 7 et 28 jours de sevrage consécutifs à une prise chronique de cocaïne. Cette étude n'est pas encore terminée, nous la poursuivons actuellement les analyses des marquages immunohistochimiques.

Parallèlement, nous nous sommes demandés si le sevrage prolongé à la cocaïne, suite à une prise chronique de cette drogue, pouvait induire des modulations du métabolisme cérébral. Ce qui amène la deuxième étude, intitulée « **Modifications à long terme du métabolisme cérébral consécutives à une prise chronique de cocaïne** », où nous avons évalué les changements d'activité métabolique cérébrale chez le rat après 7 et 28 jours de sevrage consécutifs à une période d'auto-administration de cocaïne. Cette étude est

terminée, nous complétons l'analyse des données de l'imagerie cérébrale et la rédaction du manuscrit.

Enfin, l'une des thématiques principales de mon laboratoire est l'étude de l'influence de l'environnement, et plus particulièrement l'EE, sur l'addiction. En effet, dans de récents travaux, nous avons mis en évidence l'effet curatif de l'exposition à l'EE sur la rechute à la cocaïne, cependant les mécanismes d'action sous-jacents à l'effet « anti-craving » de l'EE sont aujourd'hui mal connus. Ainsi, le troisième objectif de ma thèse a consisté à comprendre, au travers de quels processus psychobiologiques, l'exposition à un EE permet de diminuer la recherche de drogue. Dans une revue récente, mon équipe a émis l'hypothèse que l'EE diminuerait la rechute à la cocaïne en agissant comme une récompense alternative. C'est sur cette hypothèse que dans ma troisième étude, intitulée « ***Influence de l'exposition chronique à une récompense alternative, pendant le sevrage, sur le comportement de recherche de cocaïne chez le rat*** » nous avons cherché à savoir si l'exposition à une récompense alternative naturelle, telle que le sucre ou l'activité physique, pendant la période de sevrage, permet de diminuer le comportement de recherche de cocaïne. La partie concernant le sucre est terminée et un manuscrit intitulé « ***Chronic exposure to an alternative natural reward during periods of withdrawal does not reduce cocaine-seeking behavior in rats*** » a été soumis pour publication. La partie concernant l'activité physique sera terminée dans les prochaines semaines.

DESCRIPTION DES TECHNIQUES UTILISEES

I. L'auto-administration de drogue

Le modèle d'auto-administration est le modèle de choix pour les études pré-cliniques sur l'addiction aux drogues. Ce modèle est basé sur l'apprentissage des animaux à réaliser un comportement opérant, par l'appui sur un levier ou l'insertion de leur museau dans un orifice appelé « nose-poke », afin de recevoir une injection de drogue. De plus, ce modèle tire parti du fait que les animaux peuvent s'auto-administrer les mêmes drogues d'abus que les Hommes, comme par exemple la cocaïne, l'AMPH, les opiacés, la nicotine, ou encore l'alcool. La drogue peut être délivrée typiquement par voie intraveineuse *via* un cathéter, mais peut également être reçue par voie orale ou directement en intracérébral dans des régions précises du cerveau. Dans les études réalisées lors de ma thèse, nous avons utilisé le modèle d'auto-administration intraveineuse qui nécessite l'insertion d'un cathéter dans la veine jugulaire de l'animal. Ce cathéter permet de relier l'animal au dispositif de la cage de comportement et lui permet de recevoir des injections de la drogue. Ainsi lorsque l'animal effectue une réponse opérante, sur l'operandum dit « actif », il reçoit une dose unitaire de drogue directement dans la circulation sanguine. De plus, dans la majorité des cas, l'injection de drogue est associée, de façon contingente, à des signaux visuels et sonores, comme par exemple des signaux lumineux et le bruit du pousse-seringue, représentant des indices environnementaux pour l'animal. Au fil des sessions, ces signaux acquièrent une valeur motivationnelle incitative, leur conférant alors la capacité de maintenir le comportement de recherche et de prise de drogue ainsi que de précipiter la rechute. Un operandum dit « inactif » est également présent dans la cage, son actionnement par l'animal n'a aucune conséquence. Cet operandum permet de contrôler l'apprentissage de l'animal à effectuer une réponse opérante spécifiquement et préférentiellement sur l'operandum associé à la récompense et donc associer celui-ci à la drogue.

Dans mes projets de thèse, nous avons surtout utilisé le modèle d'auto-administration développé par Ahmed et Koob, qui est le modèle d'escalade (Ahmed and Koob, 1998). Dans ce modèle, les rats ont soit un accès court, de 1 heure par jour (Groupe Short Access, ShA), soit prolongé, de 6 heures par jour (Groupe Long Access, LgA), à l'auto-administration de cocaïne pendant plusieurs semaines. Dans cette configuration, les rats ShA maintiennent une prise stable et contrôlée de drogue alors que les rats LgA augmentent progressivement

leur prise au fil des séances. Ces caractéristiques comportementales permettent de mimer respectivement une prise récréationnelle (ShA) et addictive (LgA) de la drogue. Outre la mise en place d'une escalade de la prise de drogue, les rats LgA développent un certain nombre de comportements anormaux qui révèlent une dépendance excessive comme par exemple une motivation accrue pour la drogue, une résistance à la punition, et à long terme, un risque élevé de rechute (Ahmed, 2005, 2012). Il faut noter que dans les expériences évaluant l'impact de l'exposition à une récompense alternative, pendant le sevrage, sur la recherche de cocaïne, nous avons utilisé un protocole où les rats ont accès à la cocaïne pendant des sessions de 6h dès le début de l'expérience, sans phase préalable d'apprentissage et sans groupe contrôle ayant un court accès à la drogue. Cette procédure permet d'induire un comportement de prise de drogue aussi intense que dans une procédure d'escalade typique (comme les données illustrées dans la suite du manuscrit le montrent clairement) mais ne permet pas de quantifier directement l'augmentation de la prise de cocaïne par rapport au groupe contrôle. Cette procédure a été choisie sur la base des expériences réalisées par le groupe de Y. Shaham (Lu et al., 2004b) et au sein de notre laboratoire (Chauvet et al., 2009; Chauvet et al., 2012).

II. Modèle de rechute

Notre laboratoire s'intéresse en particulier au phénomène de rechute à long terme qui représente un problème majeur dans la prise en charge de l'addiction. Pour étudier ce phénomène dans des modèles animaux, le protocole de « reinstatement », qui correspond à la réinstallation du comportement de recherche de drogue, a été mis en place. Pendant la phase d'extinction, le comportement de recherche de drogue, qui est mesuré par le nombre de réponses opérantes effectuées sur l'operandum préalablement associé à la prise de drogue, n'est pas renforcé et va donc s'éteindre au cours des sessions. Lorsque le comportement de recherche de drogue est éteint, le rétablissement du comportement peut être ré-induit par une injection non-contingente de drogue, par les signaux environnementaux ou par le stress.

Dans les études réalisées dans mon projet de thèse, nous avons utilisé une variante de cette procédure expérimentale. Elle consiste à placer l'animal dans le même contexte que celui dans lequel il s'est administré la drogue lors de la période d'auto-administration avec la présentation des signaux préalablement associés mais, cette fois-ci, les réponses opérantes ne lui permettent pas d'avoir accès à la drogue. La recherche de drogue est alors évaluée par le nombre de réponses opérantes réalisées sur l'operandum préalablement associé à la prise de drogue (levier ou nose-poke) et ceci pendant plusieurs sessions consécutives. Ainsi la recherche de drogue est évaluée sans extinction du comportement au préalable. Nous avons préféré ce modèle car nous considérons que cette procédure s'apparente plus à la rechute chez l'Homme. En effet, il est préconisé aux patients dépendants en période d'abstinence d'éviter le contact avec l'ensemble des stimuli environnementaux qui pourraient provoquer un « craving » et précipiter la rechute. En ce sens, les patients addicts ne sont pas confrontés dans leur quotidien, pendant l'abstinence, à une extinction aux stimuli et au contexte dans lequel ils ont consommé la drogue. De plus, cette procédure est plus adaptée pour étudier l'influence de l'exposition à des variables environnementales pendant la période d'abstinence. Ainsi, nous considérons que l'évaluation de la recherche de drogue sans phase préalable d'extinction, en replaçant les animaux dans le contexte associé à la drogue est plus proche et transposable aux conditions de rechute chez l'Homme.

III. La stéréologie non biaisée

Afin d'étudier l'effet de la prise chronique de cocaïne sur le système vasculaire cérébral, nous avons choisi d'utiliser comme méthode la stéréologie non biaisée permettant de déterminer la longueur totale d'un objet linéaire au sein d'une région entière.

En effet, la technique de stéréologie non biaisée est une méthode d'analyse permettant de réaliser, dans notre cas, une quantification de la longueur totale de vaisseaux contenus dans une région cérébrale entière. D'un point de vue technique, la stéréologie utilise des sphères virtuelles 3D, appelées « sondes », et permet l'estimation de la longueur totale d'un objet linéaire, basée sur les intersections randomisées entre l'objet d'intérêt et

Description des techniques utilisées

les sondes (Mouton et al., 2002). Chaque sphère est visualisée comme une série de cercles concentriques dont le diamètre varie en fonction de l'axe Z, de la coupe et du focus (Figure 11). Ainsi, les intersections entre le diamètre de chaque sphère et l'objet sont sondées pour chaque plan focal, par l'expérimentateur. La longueur totale des vaisseaux est calculée par le logiciel à partir de l'équation suivante :

$$L = 2 \cdot \Sigma Q(v/a)F1 \cdot F2 \cdot F3$$

Ou L = longueur totale linéaire des vaisseaux (μm), ΣQ = somme des intersections entre les vaisseaux et les sphères, F1 = 1/section d'échantillonnage, F2 = 1/aire de la région d'échantillonnage, F3 = 1/épaisseur de la coupe d'échantillonnage, v/a = volume d'une région d'échantillonnage/surface d'une sonde. Les valeurs sont exprimées sous forme de moyenne \pm SEM.

Ainsi, nous avons estimé que cette technique était plus appropriée que les techniques conventionnelles de quantification qui consistent à choisir une partie de la région d'intérêt dans un plan antéro-postérieur donné pour la quantification des effets produits par l'exposition aux drogues.

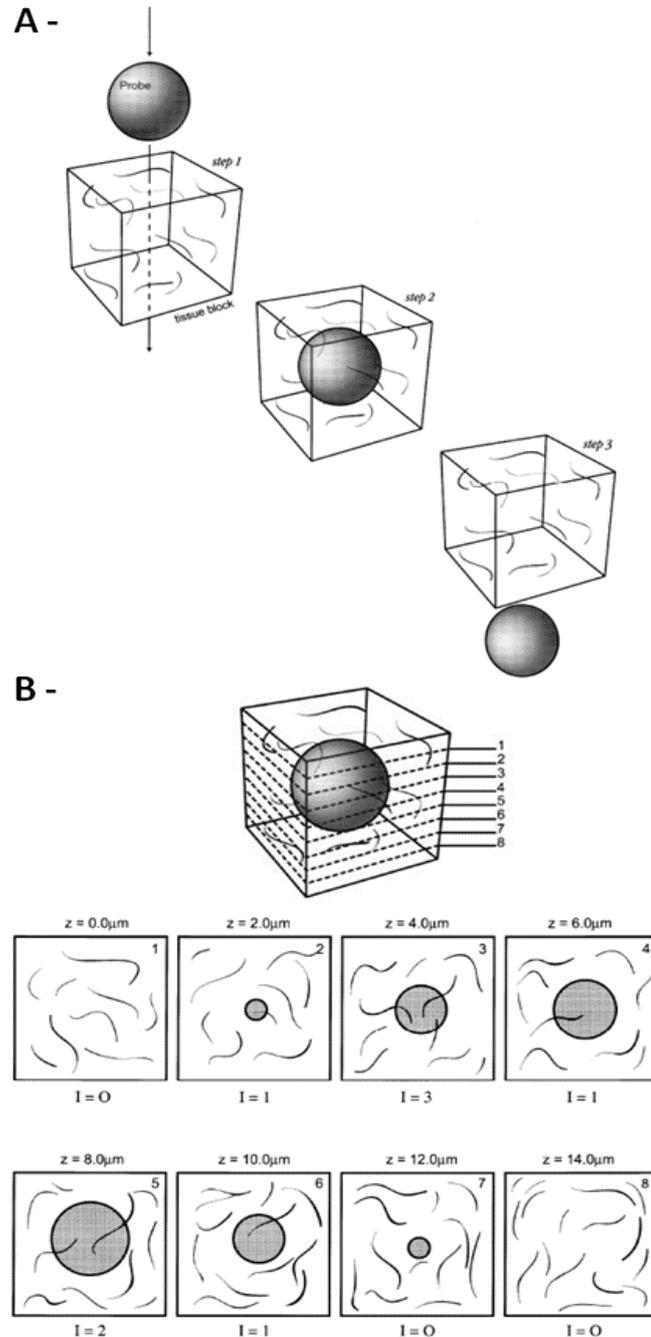


Figure 11 : Illustration schématique de la procédure de quantification par stéréologie 3-D non biaisée. A- Processus en 3 étapes du sondage d'un objet linéaire dans un tissu avec une sphère 3D. B- Représentation schématique d'une sphère de sondage 3-D au sein d'un tissu. La sphère 3-D est numérisée sur le plan focal suivant l'axe Z du tissu, et est alors visualisée sur huit plans focaux 2-D. Le nombre total d'intersections ($\Sigma I=8$) est proportionnel à la longueur totale de l'objet linéaire dans le tissu. Le premier et le dernier plan focal sont au-dessus et au-dessous de la sphère de sondage suivant l'axe Z et par conséquent ne montre aucune intersection ($I=0$). (D'après Mouton et al., 2002).

IV. La Tomographie par Emission de Positons (TEP)

Pour l'étude de l'activité métabolique cérébrale consécutive à la prise chronique de cocaïne, nous avons choisi d'utiliser la technique d'imagerie de Tomographie par Emission de Positons (TEP).

La TEP est une technique d'imagerie cérébrale qui nécessite l'utilisation d'un radiotracer et permet une quantification non invasive et longitudinale, notamment des modulations du métabolisme cérébral chez l'Homme, mais également chez le petit animal, grâce à une caméra spécifique microTEP. Dans notre étude nous avons souhaité étudier les modifications du métabolisme cérébral induites à long terme suite à la prise chronique de cocaïne chez le rat. Nous avons donc choisi d'effectuer une analyse par microTEP avec un radiomarqueur analogue du glucose, le 2-deoxy-2-(¹⁸F)fluoro-d-glucose (¹⁸FDG). Le glucose étant la source d'énergie principale des neurones, l'évaluation de la fluctuation de captation de ¹⁸FDG par les neurones permet d'évaluer les variations d'activité du métabolisme cérébral. Le ¹⁸FDG va être capté par la cellule *via* les transporteurs Glut1, mais son métabolisme est bloqué à un stade précoce de la glycolyse (Figure 12). Le radiotracer va donc s'accumuler dans la cellule où il peut être quantifié grâce à son rayonnement ce qui reflète le taux de glucose métabolique cérébral local.

Ainsi, cette technique permet de réaliser une analyse des variations du métabolisme cérébral chez l'animal éveillé et d'avoir une analyse sur le cerveau entier. De plus, cette approche permet un suivi longitudinal des effets produits par l'exposition à la drogue chez l'animal.

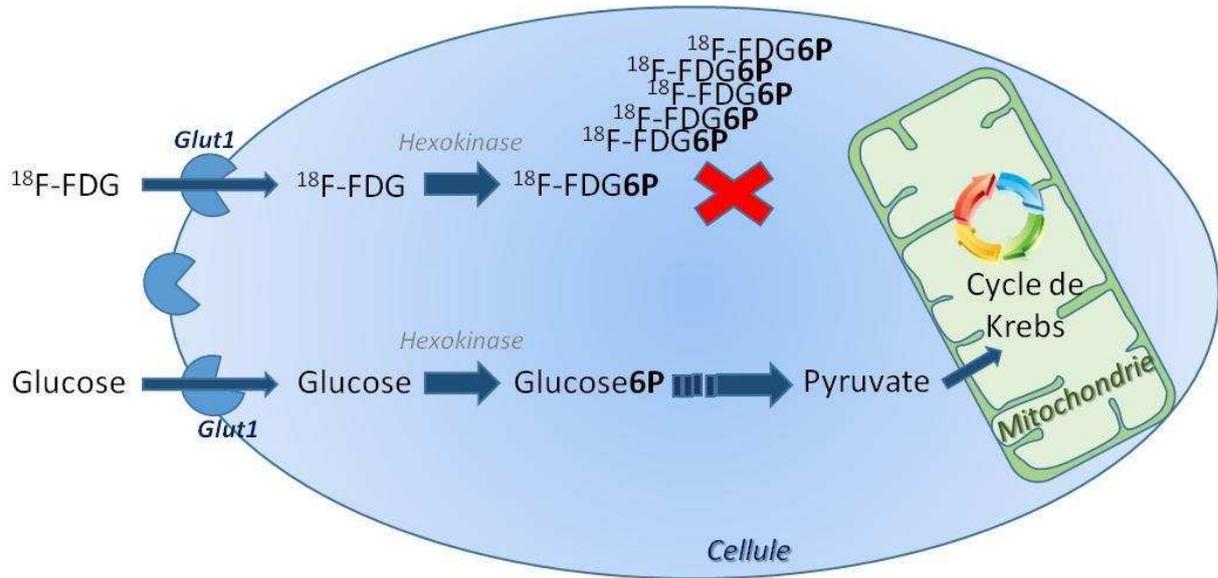


Figure 12 : Représentation schématique d'une cellule illustrant le métabolisme du glucose et du $^{18}\text{F-FDG}$. Le glucose et le $^{18}\text{F-FDG}$ sont tous deux captés par la cellule *via* le transporteur *Glut1* puis sont phosphorylés par l'hexokinase respectivement en glucose-6-phosphate et $^{18}\text{F-FDG-6-phosphate}$. Le glucose-6-phosphate continue alors dans la voie de la glycolyse. Le $^{18}\text{F-FDG-6-phosphate}$, de par sa structure, ne peut pas être métabolisé et s'accumule dans la cellule.

MATERIELS ET METHODES

I. Procédure expérimentale comportementale utilisée pour l'ensemble des études réalisées

A. Modèle animal et condition d'hébergement

Les expériences sont réalisées sur des rats mâles Sprague Dawley adultes (11 semaines, environ 350g ; Janvier, France). Les rats, naïfs au début de l'expérience, ont un accès libre à l'eau et à la nourriture et sont hébergés dans des conditions de température et d'humidité contrôlées pendant toute la durée de l'expérience. Ils sont maintenus dans un cycle jour/nuit de 12 heures (le cycle jour débutant à 7 heures), toutes les expériences sont conduites pendant la phase jour du cycle, en accord avec la Directive Européenne du Conseil des Communautés du 22 SEPTEMBRE 2010 (2010/63/EU) pour le soin des animaux de laboratoire. A leur arrivée, et pendant environ 5 jours, les animaux sont hébergés par deux dans des cages ventilées en plexiglas (Tecniplast, www.tecniplast.fr, 39.5 x 34.6 x 21.3 cm) jusqu'à la chirurgie de cathétérisation de la veine jugulaire. Après la chirurgie, les rats sont hébergés dans ces mêmes cages mais individuellement pour le reste de l'expérience afin qu'ils ne puissent pas endommager réciproquement leur cathéter.

B. Cathétérisation de la veine jugulaire

Afin que les rats puissent suivre une procédure d'auto-administration, il est nécessaire de procéder à une chirurgie permettant une cathétérisation de la veine jugulaire. Pour cela, les rats sont anesthésiés à l'isoflurane (2%) (ISOFLURANE BELAMONT®, Piramal, London) puis un cathéter est implanté dans la veine jugulaire droite en conditions aseptiques. Le cathéter (Figure 13), assemblé au laboratoire, est composé d'un tube souple en silastic (Fischer, France) d'environ 12 cm connecté à une canule guide en acier inoxydable de calibre 22 (PlasticsOne, USA) courbée à 90°. Le tube souple silastic est fixé et sécurisé sur la canule avec du tube en polyéthylène thermorétractable (Conrad, France). L'ensemble est fixé avec du ciment acrylique dentaire à une partie grillagée souple et bio-compatible qui servira d'encrage sous-cutané lorsque le cathéter sera inséré au niveau de l'arrière du cou de l'animal. L'autre extrémité du tube en silastic sera insérée dans la veine jugulaire. Pour

permettre la ligature et le maintien du cathéter dans la veine, deux boules en silicone sont réalisées sur le tube silastic, respectivement à 3,5 et 4cm de l'extrémité du tube.

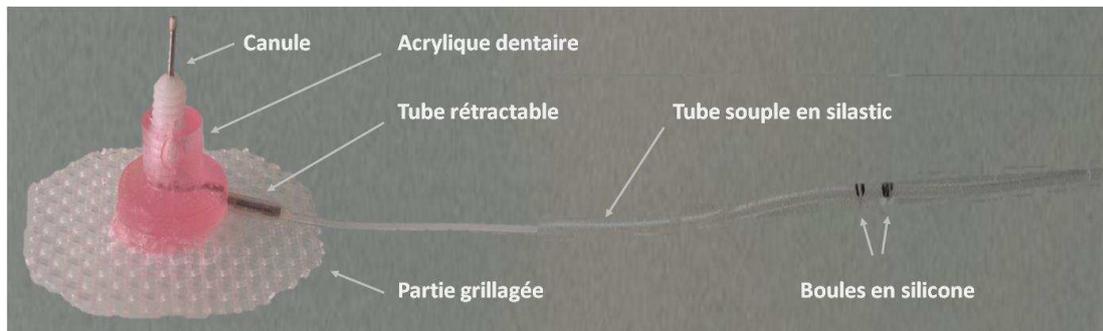


Figure 13 : Photographie représentant le cathéter utilisé pour la chirurgie de cathétérisation de la veine jugulaire. La canule guide courbée à 90° est connectée à une extrémité à un tube souple en silastic. L'ensemble est solidarisé à un support grillagé servant d'ancrage sous la peau. Enfin deux boules de silicone à l'extrémité du tube de silastic permettent la ligature du cathéter dans la veine.

Dans un premier temps, une incision cutanée est réalisée au niveau sous-claviculaire pour avoir accès à la veine jugulaire droite. L'extrémité du cathéter, composée de la canule cimentée sur la partie grillagée, est insérée dans le dos à l'arrière du cou de l'animal puis le tube silastic est passé en sous-cutané jusqu'à l'incision sous-claviculaire. La veine jugulaire droite est exposée par dissection et l'extrémité du cathéter est insérée dans la veine puis suturée en place. Un bouchon est placé à l'extrémité de la canule pour éviter qu'elle ne s'obstrue notamment par le sang qui peut remonter. Les incisions sont suturées avec du fil de suture chirurgical. Après la chirurgie, les animaux sont placés individuellement dans leur cage d'hébergement pour une semaine de récupération avant de commencer la procédure d'auto-administration. Pendant la phase de récupération, les cathéters sont quotidiennement nettoyés par l'injection de 0,1 ml de solution saline (NaCl 0,9%) et d'héparine (0,6 mg/ml), afin d'éviter la coagulation du sang dans le cathéter, supplémentée de gentamicine (40 mg/ml) pour prévenir d'éventuelles infections.

C. Procédure d'auto-administration

L'auto-administration de cocaïne s'effectue dans des cages expérimentales Imetronic équipées de 2 nose-pokes et contrôlées par une interface Imetronic et un logiciel informatique (Figure 14) (Imetronic, Pessac, France ; www.imetronic.com). Les nose-pokes sont des orifices placés sur les deux murs latéraux de la cage d'auto-administration (Figure 14) et sont équipés d'un capteur infra-rouge qui permet de détecter l'insertion du museau du rat dans l'orifice et ainsi déclencher, *via* l'interface, la réponse appropriée selon le programme du test. Les rats sont connectés, par l'intermédiaire de leur cathéter, à un pousse-seringue, lui-même relié à l'interface des cages de comportement. Ces connexions permettent la libération de drogue ou de solution saline en intraveineux chez le rat en fonction des réponses qu'il émet dans les nose-pokes. Les procédures expérimentales d'auto-administration utilisent un renforçateur de ratio fixe égal à 1 (Fixed ratio 1, FR1), ainsi, une seule réponse du rat dans le nose-poke actif induit immédiatement l'activation du pousse-seringue pour une injection intraveineuse de cocaïne et l'activation de signaux lumineux clignotant pendant 8 secondes suivie par un temps-mort de 5 secondes. Pendant la période de temps-mort, la lumière de la cage s'éteint et les actions au sein de la cage n'ont aucune conséquence. Les réponses dans le nose-poke inactif sont enregistrées mais n'ont pas de conséquences.



Figure 14 : Cage d'auto-administration, le rat est relié par son cathéter à un système de connexion relié à une seringue placée dans un pousse-seringue lui permettant de recevoir une injection de cocaïne ou de solution saline (à gauche) lorsqu'il effectue un nose-poke actif. La cage est constituée d'un nose-poke actif qui induira une injection une fois activé et un nose-poke inactif qui n'a aucune conséquence s'il est activé (à droite).

D. Drogues

La cocaïne hydrochloride est obtenue à la Coopération Pharmaceutique Française (COOPER, France, www.cooper.fr) et dissoute dans une solution de NaCl stérile à 0,9%. La solution de NaCl 0,9% est également utilisée pour les injections des rats Saline.

II. Procédure expérimentale suivie pour l'étude des modifications à long terme induites par une prise chronique de cocaïne : aspect vasculaire et métabolique

A. Schéma expérimental général

Après leur arrivée, les rats ont environ 5 jours d'habituation pendant lesquels ils sont manipulés quotidiennement. Ils subissent ensuite une chirurgie de cathétérisation de la veine jugulaire, suivie d'une semaine de récupération (Schéma1). Par la suite, ils suivent 7 sessions d'entraînement d'auto-administration de cocaïne à raison de 2h/jour. Cette phase permet à l'ensemble des animaux d'apprendre le comportement opérant de prise de cocaïne. Ils sont ensuite divisés en deux groupes, Short Access (ShA) et Long Access (LgA) qui ont respectivement 1 ou 6 heures de session quotidienne d'auto-administration et ceci pendant 20 jours. Les groupes sont réalisés en se basant sur leur niveau de prise de cocaïne lors de l'entraînement pour avoir deux groupes homogènes. A l'issue de cette phase d'auto-administration, les rats sont placés en sevrage. Il est important de noter que, dans cette série d'expériences, aucun test de rechute n'a été réalisé. En effet, nous avons souhaité mettre en évidence des changements neuroplastiques présents à l'état basal et impliqués dans la rechute sans pour autant les confondre avec les effets liés à la rechute elle-même.

Après 7 ou 28 jours de sevrage, une partie des animaux sont perfusés pour une étude histologique du système vasculaire. Une autre partie des animaux a été envoyée à l'U930 à Tours pour une procédure de TEP utilisant un radiotracer analogue du glucose, le 2-deoxy-2-(¹⁸F)fluoro-d-glucose (¹⁸FDG), afin d'évaluer les modifications de leur métabolisme cérébral. Dans ce cas, l'analyse est effectuée sur les mêmes animaux après 7 et 28 jours de

sevrage. Un groupe de rats naïfs suit la même procédure expérimentale et servira de contrôles.

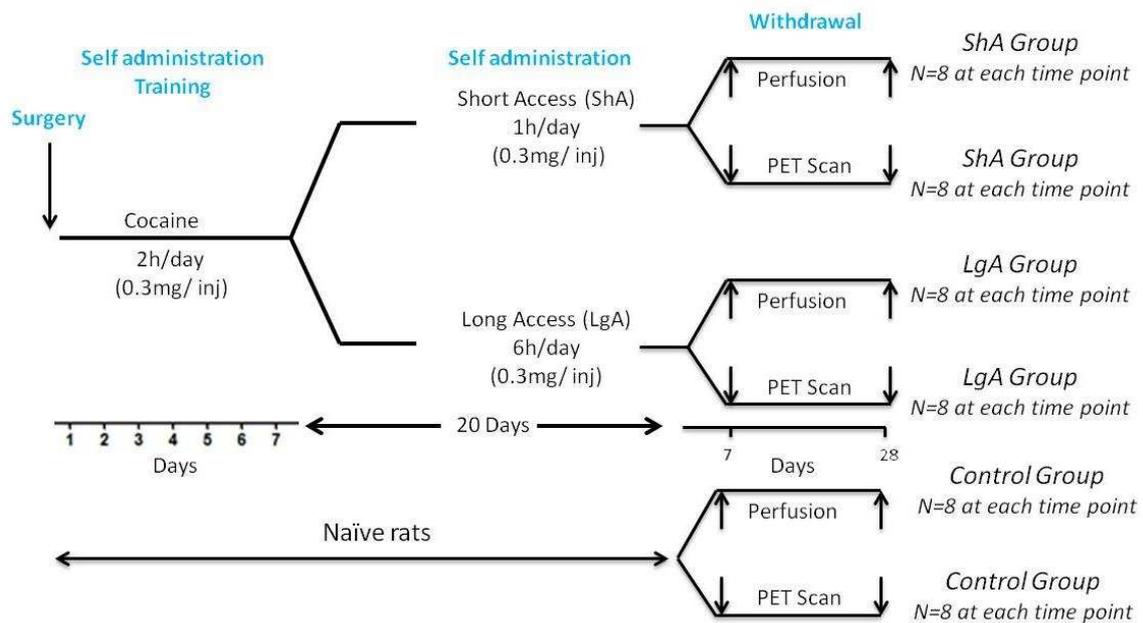


Schéma 1 : Représentation schématique du procédé expérimental utilisé. Après 7 jours d'entraînement d'auto-administration de cocaïne (2h/j), les rats sont divisés en deux groupes, Short Access (ShA, 1h/j) et Long Access (LgA, 6h/j) pour 20 jours d'auto-administration. A l'issue de cette période les rats sont placés en sevrage. Une partie des animaux est perfusé après 7 (n=8) ou 28 jours (n=8) de sevrage pour une étude histologique de la vascularisation cérébrale. L'autre partie des rats (n=16) subit une procédure de TEP-scan à 7 et 28 jours de sevrage pour une évaluation des modifications du métabolisme cérébral.

B. Procédure d'auto-administration

La procédure d'auto-administration de cocaïne (0,3mg/injection) débute par des sessions d'entraînement de 2 heures par jour pendant 7 jours pour l'ensemble des rats, afin d'assurer un apprentissage de la réponse opérante identique pour tous les animaux. A l'issue de cette phase d'entraînement, les rats sont randomisés en deux groupes, en s'assurant d'un niveau de prise de cocaïne équivalent : a) un groupe Short Access (ShA) qui suit des sessions journalières d'1 heure et b) un groupe Long Access (LgA) qui suit des sessions de 6 heures par jour, et ceci pendant 20 jours.

C. Sevrage

Suite à la procédure d'auto-administration, tous les rats sont placés en sevrage, hébergés par 2 ou 3 dans des cages ventilées. Pour l'étude anatomique du réseau vasculaire cérébral, les animaux sont perfusés après 7 (n=8) ou 28 jours (n=8) de sevrage afin de réaliser des marquages immunohistochimiques. Ces délais de 7 et 28 jours permettent de réaliser une étude comparative de l'anatomie vasculaire cérébrale à deux temps de sevrage différents. Pour l'étude du métabolisme cérébral, les rats suivent une procédure de microTEP scan utilisant un radiotracer analogue du glucose, le ^{18}FGD , à 7 et 28 jours de sevrage pour chacun des rats afin de réaliser une étude longitudinale.

D. Perfusion et préparation des tissus

Les rats sont perfusés après 7 ou 28 jours de sevrage. Après une anesthésie létale (Kétamine 120 mg/kg et Xylazine 20 mg/kg), les animaux subissent une perfusion intracardiaque avec une solution saline (NaCl 0,9%, 37°C) suivie d'une solution de paraformaldéhyde à 4% froid (PFA). Les cerveaux sont ensuite prélevés et post-fixés une nuit dans du PFA 4% à 4°C puis cryoprotégés 24 heures dans une solution de sucrose 30% (PB, Phosphate Buffer, 0,1M) avant d'être congelés dans de l'isopentane à environ -40°C puis conservés à -80°C. Des coupes frontales sériées (1/6) d'une épaisseur de 40µm sont réalisées au cryostat (CM 3050S, Leica) et conservées dans une solution cryoprotectrice (20% glucose, 40% éthylène glycol, 0,025% sodium azide, 0,05M PB, pH 7,4) à -20°C jusqu'à leur utilisation pour différentes réactions d'immunohistochimie.

E. Immunohistochimie

Après trois rinçages dans du PBS (Phosphate Buffer Saline) 0,1M les coupes sont incubées 1h30 dans une solution de tampon PBS 0,1M contenant 3% de BSA (Bovin Serum Albumin) et 0,3% de triton X-100 (détergent) à température ambiante afin de saturer les sites non spécifiques sur la coupe, puis une nuit à 4°C dans cette même solution dite de

«blocage», supplémentée avec un anticorps primaire de souris anti RECA-1 (1/200 ; AbD Serotec), marqueur des cellules endothéliales. Après trois lavages de 15 min au PBS 0,1M, les coupes sont incubées sous agitation pendant 1 heure à température ambiante avec l'anticorps secondaire biotinylé de chèvre anti-souris (Eurobio) dilué au 1/200^{ème} dans la solution de blocage. Les coupes sont, par la suite, rincées 3 fois au PBS 0,1M puis mises en contact 1h avec la solution d'amplification du signal, le complexe avidine biotine couplé à la horseradish peroxidase (Vector Laboratories). Après trois rinçages de 15 min au PBS 0,1M, les coupes sont traitées quelques minutes dans une solution de 3,3'-Diaminobenzidine (DAB) 0,03% (Sigma) et 0,01% d'eau oxygénée. La réaction est arrêtée par 3 rinçages au PBS 0,1M, les coupes sont ensuite passées successivement dans une solution de PB 0,1M puis une solution d'eau gélatinée 0,2% avant d'être montées sur lames gélatinées.

F. Quantification de la longueur du réseau vasculaire par la méthode de stéréologie non biaisée

Cette technique nous permet de quantifier la longueur totale des vaisseaux compris dans l'ensemble d'une région d'intérêt donnée. Nous avons effectué cette quantification dans plusieurs régions cérébrales, connues pour avoir un rôle important dans l'addiction : le cortex cingulaire antérieur (ACC), le Core (NAc Core) et le Shell (NAc Shell) du noyau accumbens, l'aire tegmentale ventrale (VTA), l'amygdale centrale (CeA), l'amygdale basolatérale (BLA) et l'amygdale basomédiane (BMA). Pour l'ensemble des régions étudiées, n=5 pour les groupes ShA7j, ShA 28j et LgA7j et n=7 pour le groupe LgA28j. Le groupe de rat contrôle compte n=5 pour l'ACC, le NAc Core et Shell et n=4 pour la VTA et les noyaux amygdaliens. Nous poursuivons actuellement l'analyse quantitative afin de compléter l'effectif de chaque groupe expérimental. La méthode de stéréologie non biaisée est réalisée avec un microscope (DM 5500, Leica, Germany) connecté à une caméra (Orca-R2, Hamamatsu Electronic, Japan), l'ensemble contrôlé par le logiciel Mercator Pro (ExploraNova, France). La quantification est effectuée à partir d'un échantillonnage d'une coupe sur six. Pour chaque coupe, les limites de chaque région d'intérêt sont délimitées à faible grossissement (x2,5) (Franklin et Paxinos) et la quantification est ensuite réalisée à fort

grossissement (x 40). Les détails stéréologiques de la technique pour la quantification de la longueur totale de vaisseaux dans chaque région d'intérêt sont résumés dans le tableau 4.

	ACC	NAc Core	NAc Shell	VTA	CeA	BMA	BLA
Cadre de quantification	25x25	25x25	25x25	25X25	25x25	25x25	25x25
Espacement entre les sondes (µm)	250x250	300x350	250x200	200x200	250x200	400x350	350x350

Tableau 4 : Paramètres de quantification par stéréologie. ACC, cortex cingulaire antérieur ; NAc Core, Core du Noyau Accumbens ; NAc Shell, Shell du Noyau Accumbens ; VTA, Aire Tegmentale Ventrale ; CeA, Amygdale Centrale ; BMA, Amygdale basomédiale ; BLA, Amygdale Basolatérale.

G. Etude du métabolisme cérébral à long terme suite à la prise chronique de cocaïne par Tomographie par Emission de Positons (TEP)

L'étude des modifications du métabolisme cérébral est effectuée sur des rats naïfs servant de contrôle et des rats ayant suivi la procédure d'auto-administration ShA ou LgA (n=8 pour chaque groupe). Cette analyse est effectuée chez les deux groupes expérimentaux ShA et LgA après 7 (±1 jour) et 28 (±1 jour) jours de sevrage. Les rats contrôles (n=8) subissent parallèlement la même analyse en se calquant sur le même déroulé temporel. Quatre jours avant le début de l'expérimentation, l'animal subit quotidiennement une phase d'habituation pendant laquelle il est contentionné pour mimer la future injection de ¹⁸FDG et déposé dans la cage dans laquelle il sera placé après l'injection du radio-traceur pendant 45 minutes le jour de l'expérience. Le jour de la procédure, l'animal éveillé est injecté en intra-péritonéale avec du ¹⁸FDG à la dose de 18,5MBq/100g (Cyclopharma, Tours, France). Cette dose est couramment utilisée pour l'imagerie métabolique chez les rongeurs et permet une analyse optimale (Schiffer et al, 2007). A la suite de l'injection, l'animal est placé dans une cage d'hébergement, à laquelle il a été préalablement habitué, lui permettant de se déplacer librement pendant 45 minutes. La cage est placée dans une enceinte plombée protégeant contre les rayonnements radioactifs du ¹⁸FDG. De plus, la température à l'intérieur de la cage est maintenue à 30°C, température à laquelle l'utilisation de ¹⁸FDG est

minimale, pour le maintien de la température corporelle. A l'issue des 45 minutes, le rat est anesthésié à l'isoflurane (Baxter, Maurepas, France) (de 2% à 1 % en fonction de la fréquence respiratoire et cardiaque) puis placé sur un lit thermorégulé (Minerve, Esternay, France) (Figure 5). Pendant toute la durée de l'expérience, le rat est maintenu à température ($37,5 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$) et rythme respiratoire constant (60 ± 10 inspirations par minute). L'animal est ensuite placé au centre de vue de la caméra et un scan X est réalisé pour la correction de l'atténuation. Le scan débute exactement 1 heure après l'injection de ^{18}F FDG et dure 30 minutes ce qui permet l'évaluation de l'activité métabolique relative à la période antérieure où le rat était éveillé, et libre de se déplacer dans sa cage. Les scans en « list-mode » ont ensuite été reconstruits en 6 frames de 5 minutes. Chaque scan a été corrigé des coïncidences aléatoires et diffusées, et a subi une correction d'atténuation. Les images ont été reconstruites en images de captation de ^{18}F FDG à l'aide d'un algorithme 2D OSEM (GE Healthcare, Velizy, France) en voxels de $0,3875 \times 0,3875 \times 0,775 \text{ mm}^3$.



Figure 15 : Photographie du dispositif de la caméra microTEP utilisée.

- Analyse d'image

Les images brutes ont été traitées grâce aux logiciels PMOD v3.2 (PMOD Technologies LTD, Zurich, Suisse) et MATLAB (The MathWorks, USA). Comme l'anatomie du cerveau est très proche chez les animaux de même poids, le traitement des images a été effectué en réalisant une transformation rigide, sans aucune déformation ou mise à l'échelle (Rubins et al, 2003). Chaque scan a été individuellement lissé à l'aide d'un filtre gaussien afin de réduire les distorsions et d'améliorer le rapport signal sur bruit de fond. Pour ce lissage, un noyau de $0,6 \times 0,6 \times 0,6 \text{ mm}^3$ FWHM a été utilisé. Les images ont ensuite été recalées en utilisant une fonction de similarité d'informations mutuelles avec la méthode de convergence d'optimisation de Powell (Schiffer et al. 2006) vers un référentiel commun qui est un template TEP- ^{18}FDG . Ce template a été recalé dans les coordonnées de l'atlas de Paxinos et Watson (Paxinos et Watson, 1986) implémenté dans le logiciel PMOD. La transformation obtenue pour chaque animal a été sauvegardée et appliquée de nouveau sur les images sommées sur les 30 minutes de scan. Un masque du cerveau entier a été créé à partir des régions d'intérêts (ROI) de Schiffer fusionnées à l'atlas de Paxinos et Watson (Paxinos et Watson, 1986). Après recalage des images individuelles sur le template ^{18}FDG qui est dans le même espace qu'un template IRM effectué chez le rat adulte, une analyse a été réalisée à partir des cartes de Z-scores générées pour comparer la moyenne des deux groupes expérimentaux LgA et ShA au groupe contrôle à chaque temps à l'aide d'un test de Student non apparié bilatéral. Un seuil de significativité à 1% a été appliqué sur les cartes de Z-scores afin de limiter les erreurs de type I (Genovese et al., 2002). Les valeurs de Z-scores de chaque région présentant des modifications ont été déterminées *via* un jeu de 68 régions d'intérêts dessinées manuellement sur le template IRM sur la base de l'atlas Paxinos et Watson (Paxinos et Watson, 1986). Les valeurs individuelles de captation de ^{18}FDG dans les régions présentant un Z-score ont été obtenues en dessinant manuellement *via* PMOD un jeu de régions d'intérêt correspondant aux voxels significativement différents afin que les données ne soient pas impactées par les effets de volumes partiels. Ces données sont toujours normalisées par la moyenne de la captation de ^{18}FDG du cerveau entier. Pour normaliser la fixation du ^{18}FDG , l'activité de chaque tissu a été divisée par l'activité cérébrale totale, représentée comme l'activité moyenne dans le masque du cerveau entier. Les zones

extracérébrales ont été exclues avant l'analyse statistique par l'application d'un masque du cerveau sur les scans TEP.

Les manipulations de microTEP ont été réalisées en collaboration avec le Dr Laurent Galineau et Clovis Tauber du laboratoire, Imagerie et Cerveau, équipe « Imagerie Moléculaire du Cerveau » dirigé par Dr Sylvie Chalon, INSERM U930, à l'Université de François Rabelais de Tours. L'analyse de ces images a été réalisée par le Dr Laurent Galineau et Clovis Tauber.

H. Analyses statistiques

Les différences dans le comportement d'auto-administration de drogue ont été analysées en utilisant un test ANOVA à mesures répétées. Lors de la phase d'entraînement, pour les réponses dans les nose-poke actif et inactif ainsi que pour la prise de cocaïne, nous avons utilisé le groupe (Futur ShA ou Futur LgA) et le temps (1 à 7 jours) comme facteurs. Lors de la phase d'auto-administration, pour les réponses dans les nose-poke actif et inactif ainsi que pour la prise de cocaïne, nous avons utilisé le type d'accès à la drogue (ShA et LgA) et le temps comme facteurs. Les différences sont considérées comme significatives quand $p < 0,05$.

Pour la densité de vaisseaux, nous avons utilisé le groupe (ShA7j, ShA28j, LgA7j et LgA28j) comme facteur. Les résultats montrant des changements significatifs ont subi une analyse par le test post-hoc Student-Newman-Keuls ou Bonferroni-Dunn. Les différences sont considérées comme significatives quand $p < 0,05$.

Pour l'absorption de ^{18}FDG , les différences entre les groupes traités (ShA et LgA) après 7 ou 28 jours de sevrage et le groupe contrôle a été réalisé à l'aide d'un t-test apparié. Les différences sont considérées comme significatives quand $p < 0,05$.

III. Procédure expérimentale suivie pour l'étude de l'effet de l'exposition à une récompense alternative pendant une période de sevrage sur le comportement de recherche de cocaïne

A. Procédure expérimentale générale

Après leur arrivée, les rats ont environ 5 jours d'habituation pendant lesquels ils sont manipulés quotidiennement. Les rats subissent ensuite une chirurgie de cathétérisation de la veine jugulaire, suivie d'une semaine de récupération. Une partie des rats est ensuite placée en procédure d'auto-administration avec la possibilité de s'auto-administrer de la cocaïne tandis que l'autre partie reçoit des injections de solution saline en suivant une procédure « yoked ». Ce dernier groupe servira de groupe contrôle. A la fin de cette phase d'auto-administration de 10 jours, tous les rats sont randomisés en fonction de leur niveau de prise de cocaïne, pour ceux qui ont suivi l'auto-administration de cocaïne, ou de leur poids pour les rats contrôles saline (Schéma 2).

Pour la procédure effectuée sur le sucrose 1) un groupe a un accès continu au sucrose (10%) et à l'eau (Groupe Sucrose Continu, SC), 2) un groupe a accès au sucrose (10%) et à l'eau de façon intermittente (Groupe Sucrose Intermittent, SI) et 3) le troisième groupe a accès exclusivement à l'eau (Groupe Eau, WAT). Un total de 6 groupes est obtenu : 1) Coc WAT (n=9), 2) Coc SC (n=11), 3) Coc SI (n=11), 4) Sal WAT (n=9), 5) Sal SC (n=8) et 6) Sal SI (n=11).

Pour plus de détails dans les procédures expérimentales utilisées pour les expériences réalisées avec le sucrose se référer au manuscrit en préparation « *Chronic exposure to an alternative natural reward during periods of withdrawal does not reduce cocaine-seeking behavior in rats* ».

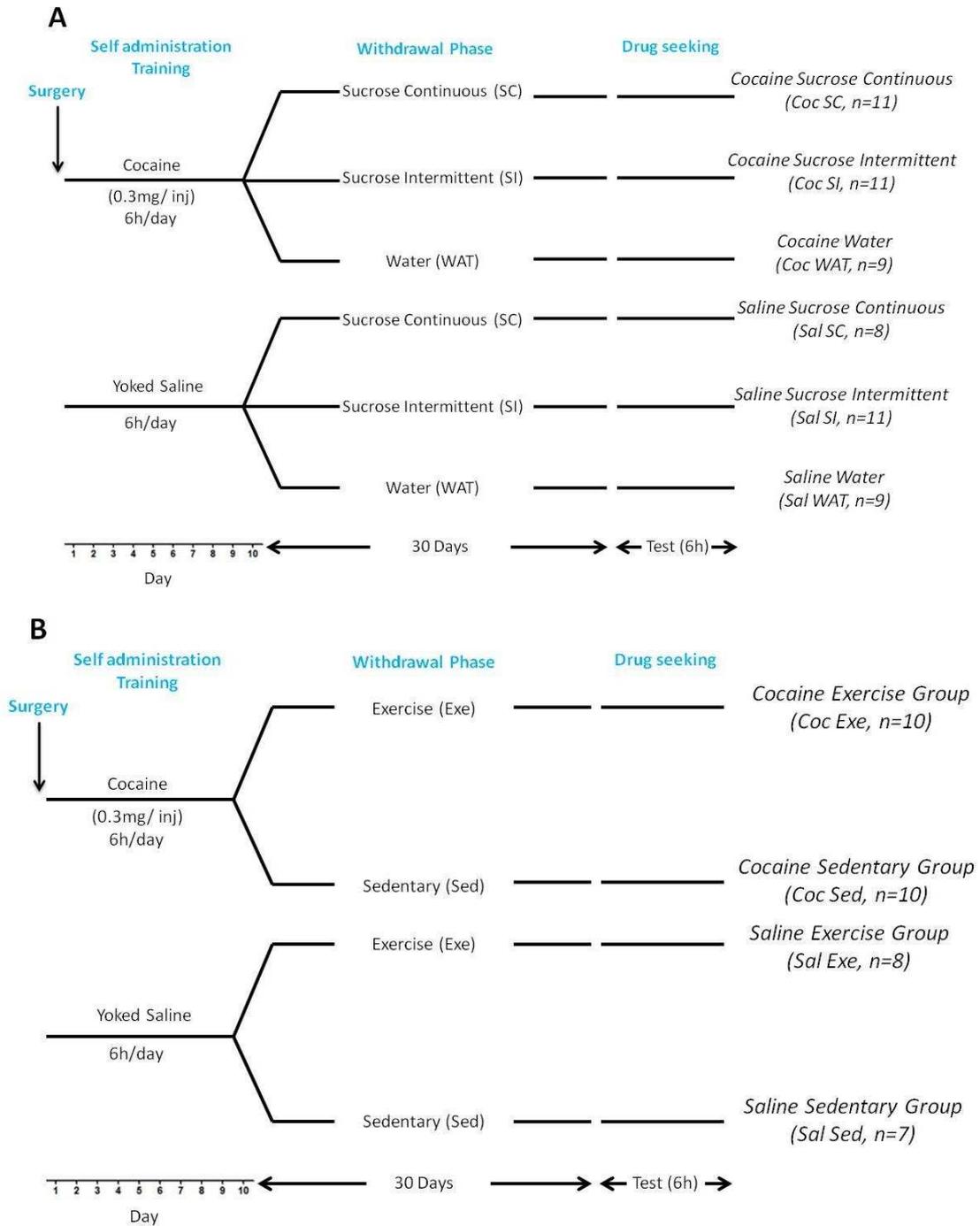


Schéma 2 : Représentation schématique de la procédure expérimentale utilisée. Après 10 jours d'auto-administration de cocaïne ou de solution saline, les rats sont placés en sevrage pendant 30 jours. Lors de cette période, ils ont accès soit à de l'eau uniquement (WAT ; coc WAT n=9, sal WAT n=9), à de l'eau et du sucrose (10%) de façon continu (SC ; coc SC n=11, sal SC n=8) ou à de l'eau et du sucrose (10%) de façon intermittente (SI ; coc SI n=11 ; sal SI n=11) (A), soit à une roue d'activité fonctionnelle (Exe ; coc exe n=10, sal exe n=8) ou bloquée (Sed ; coc sed n=10, sal sed n=7) (B). A la fin de la période de sevrage, les

rats sont testés dans une procédure de recherche de cocaïne pendant une session de 6 heures.

B. Procédure d'auto-administration

Toutes les sessions d'auto-administration durent 6 heures, cette procédure est associée à l'escalade de la prise de drogue et au développement de comportements addictifs (Ahmed et Koob, 1998) ainsi qu'à un fort taux de rechute à long terme (Chauvet et al., 2009). Les rats contrôles « yoked » reçoivent une injection de solution saline à chaque fois que leur rat « master » associé s'auto-administre une injection de cocaïne (0,3mg/injection). Les réponses dans le nose-poke actif et inactif par les rats « yokes » sont enregistrées mais n'entraînent aucune conséquence. A l'issue de ces 6 heures, les rats sont replacés dans leur cage d'hébergement.

C. Sevrage et exposition à une roue d'activité

A la fin de la dernière session d'auto-administration, les rats sont anesthésiés à l'isoflurane (ISOFLURANE BELAMONT®, Piramal, London) afin de couper la partie saillante du cathéter, à l'arrière du cou, pour éviter qu'ils ne se bloquent ou se blessent dans le tunnel d'accès à la roue d'activité. Les rats sont ensuite randomisés en deux groupes en s'assurant d'un même niveau de prise globale de cocaïne pendant la procédure d'auto-administration entre les deux futurs groupes. Pendant les 30 jours de sevrage, les animaux sont placés en continu (24h/24, 7j/7) dans un dispositif Imetronic équipé d'une cage d'hébergement classique (39.5 x 34.6 x 21.3 cm) avec un accès libre, *via* un tunnel, à une roue d'activité (Figure 16). L'ensemble est contrôlé par une interface et un logiciel Imetronic (Imetronic, Pessac, France ; www.imetronic.com). Les rats ont accès soit à une roue d'activité fonctionnelle permettant de réaliser de l'exercice physique (Groupe Exe) soit à une roue d'activité bloquée (Groupe Sed). Ce dernier groupe ne réalise pas d'exercice physique mais a quand même la possibilité d'entrer dans la roue, il servira de contrôle. La distance de course parcourue par chaque animal est mesurée quotidiennement sur une tranche horaire de 23 heures (de 10h à 9h) afin de laisser un créneau d'une heure pour pouvoir intervenir sur les

cages en cas de besoin et également pouvoir réaliser le change hebdomadaire des animaux. La distance de course est alors évaluée sur la période « jour » sur une tranche horaire de 11 heures (de 7h à 9h, et de 10h à 19h) et sur une période « nuit » sur une tranche horaire de 12h (de 19h à 7h) permettant l'évaluation de la distance de course sur une journée de 23h.



Figure 16 : Photo du dispositif expérimental utilisé pour le sevrage avec libre accès à une roue d'activité. Les animaux ont une cage d'hébergement leur donnant libre accès, *via* un tunnel, à une roue d'activité fonctionnelle ou bloquée.

D. Test comportemental de recherche de drogue

Après 30 jours de sevrage, les rats sont replacés dans les cages d'auto-administration et testés pour la recherche de cocaïne. Pour l'ensemble des rats, l'accès à la roue est arrêté 2 heures avant le début du test de rechute afin d'éviter un potentiel effet « fatigue » chez les rats pratiquant une activité physique et pouvant interférer avec l'exécution de réponses lors du test. Ainsi, les animaux sont placés individuellement dans des cages d'hébergement classiques deux heures avant le début du test. Au cours de cette session de test, les réponses

dans le nose-poke actif produisent les mêmes signaux (lumière clignotante et bruit du pousse-seringue) que lors des sessions d'auto-administration de cocaïne, cependant les seringues ont été retirées du pousse-seringue et par conséquent aucune injection de cocaïne n'est réalisée. Les réponses sur le nose-poke inactif sont comptabilisées mais n'entraînent aucune action. La session d'extinction de six heures est divisée en six tranches de 1 heure séparées par des intervalles de 10 minutes. Entre chaque session les rats sont replacés dans leur cage d'hébergement. Le nombre de nose-pokes actifs effectués durant la session est utilisé comme mesure de recherche de cocaïne.

E. Analyses statistiques

Les différences dans la distance de course et le comportement de recherche de drogue ont été analysées en utilisant un test two-way ANOVA. Pour la distance de course nous avons utilisé le temps (jours 1 à 30) et la drogue (cocaïne ou saline) comme facteurs. Pour la recherche de cocaïne, nous avons utilisé la drogue (cocaïne ou saline), et le type d'accès à la roue (Sed, Exe) comme facteurs. Les résultats montrant des changements significatifs ont subi une analyse par le test post-hoc de Student-Newman-Keuls. Les différences sont considérées comme significatives quand $p < 0,05$.

RESULTATS EXPERIMENTAUX

PROJET 1 : Etude des modifications vasculaires à long terme induites par la prise chronique de cocaïne

RESUME

La cocaïne est connue pour induire des dommages vasculaires chez les personnes qui en sont addictes. Malgré de nombreuses données cliniques, très peu d'études ont évalué les modifications neuro-vasculaires induites par la prise chronique de cocaïne dans des modèles animaux. Dans ce projet, nous avons souhaité étudier si la prise chronique de cocaïne pouvait produire des changements structurels dans la vasculature cérébrale et si ces modifications persistaient après l'arrêt de la consommation de la drogue.

Pour cela, après 7 jours d'entraînement à l'auto-administration de cocaïne (2h/j), les rats se voient proposé soit un accès limité (1h/j) soit un accès prolongé (6h/j) à l'auto-administration de cocaïne, pendant 20 jours. Un troisième groupe naïf nous sert de contrôle. A la fin de la procédure d'auto-administration, les rats sont placés en sevrage forcé et des échantillons de leur cerveau sont prélevés après 7 ou 28 jours pour un marquage immunohistochimique des cellules endothéliales. La longueur des vaisseaux est alors quantifiée dans plusieurs régions incluant le noyau accumbens (NAc) Core et Shell, l'aire tegmentale ventrale (VTA), le cortex cingulaire antérieur (ACC), et plusieurs noyaux de l'amygdale en utilisant une technique de stéréologie non biaisée. Nos résultats montrent que la prise chronique de cocaïne produit une réduction significative de la densité vasculaire après 7 jours de sevrage, exclusivement localisée dans l'ACC. Cette diminution tend à revenir vers un niveau basal à long terme.

Ces résultats suggèrent que la prise chronique de cocaïne pourrait induire un effet toxique sur le réseau vasculaire ou un réarrangement lors du sevrage à court terme. Ces effets pourraient participer à une diminution de l'activité métabolique corticale et par conséquent, à une diminution de la capacité des personnes addictes à résister à l'envie de consommer la drogue. Nos résultats suggèrent ainsi que la prise chronique de cocaïne induit des modifications sélectives de la structure vasculaire lors du sevrage qui pourraient contribuer à la physiopathologie de l'addiction.

I. Résultats

A. Auto-administration de cocaïne

L'ensemble des rats suivant la procédure d'auto-administration débutent l'expérience par une phase d'apprentissage de 2 heures de session d'auto-administration par jour et ceci pendant 7 jours. Les rats, qu'ils soient par la suite inclus dans le futur groupe ShA ou LgA, acquièrent rapidement, pendant cette phase (représentée sur la partie gauche des graphiques) un comportement d'auto-administration de cocaïne. Les deux groupes, ShA et LgA, lors de l'apprentissage, présentent des patterns de réponses dans les nose-pokes actif et inactif identiques au cours des 7 sessions (Figure 17A,B). Le nombre de nose-pokes actifs augmente légèrement lors de la phase d'apprentissage avec la réalisation en moyenne de 70 nose-pokes lors de la session 1 et de 80 réponses lors de la session 7 (Figure 17A). Le nombre de nose-pokes inactifs quant à lui, diminue progressivement et significativement au cours des 7 sessions d'entraînement, avec la réalisation en moyenne de 50 nose-pokes inactifs lors de la première session qui est réduit à 15 réponses lors de la dernière session d'apprentissage (Figure 17B). La stabilisation du nombre de nose-pokes actifs et la diminution du nombre de nose-pokes inactifs signalent une nette préférence des rats pour le nose-poke actif associé à l'injection de drogue et donc pour l'effet récompensant de la cocaïne. Ceci témoigne d'un apprentissage des animaux qui distinguent la valence des 2 nose-pokes. La prise de cocaïne par les rats, futurs ShA ou LgA, au cours de la phase d'apprentissage, est relativement stable avec une prise moyenne de cocaïne de 7mg/kg lors de la première session pour atteindre 10 mg/kg lors de la dernière session de la phase d'apprentissage (Figure 17C).

Concernant le nombre de réponses dans le nose-poke inactif, l'analyse statistique met en évidence un effet significatif du temps, [$F(1,6)=6,326$, $p<0,0001$], mais pas d'effet significatif du groupe ni d'interaction entre le groupe et le temps. Aucun effet significatif n'est observé pour les réponses dans le nose-poke actif et la prise de cocaïne.

A la fin de cette phase d'apprentissage d'auto-administration, les rats sont séparés en 2 groupes, le groupe ShA et le groupe LgA, qui suivront respectivement 1 et 6 heures de

session d'auto-administration par jour, pendant 20 jours. Cette phase est illustrée sur la partie droite des graphiques. La répartition des animaux est réalisée en prenant soin de vérifier qu'après leur distribution, le nombre de nose-pokes actifs et inactifs réalisés (Figure 17A,B) et la prise de cocaïne lors de la phase d'apprentissage (Figure 17C), ne diffèrent pas entre les futurs groupes ShA et LgA.

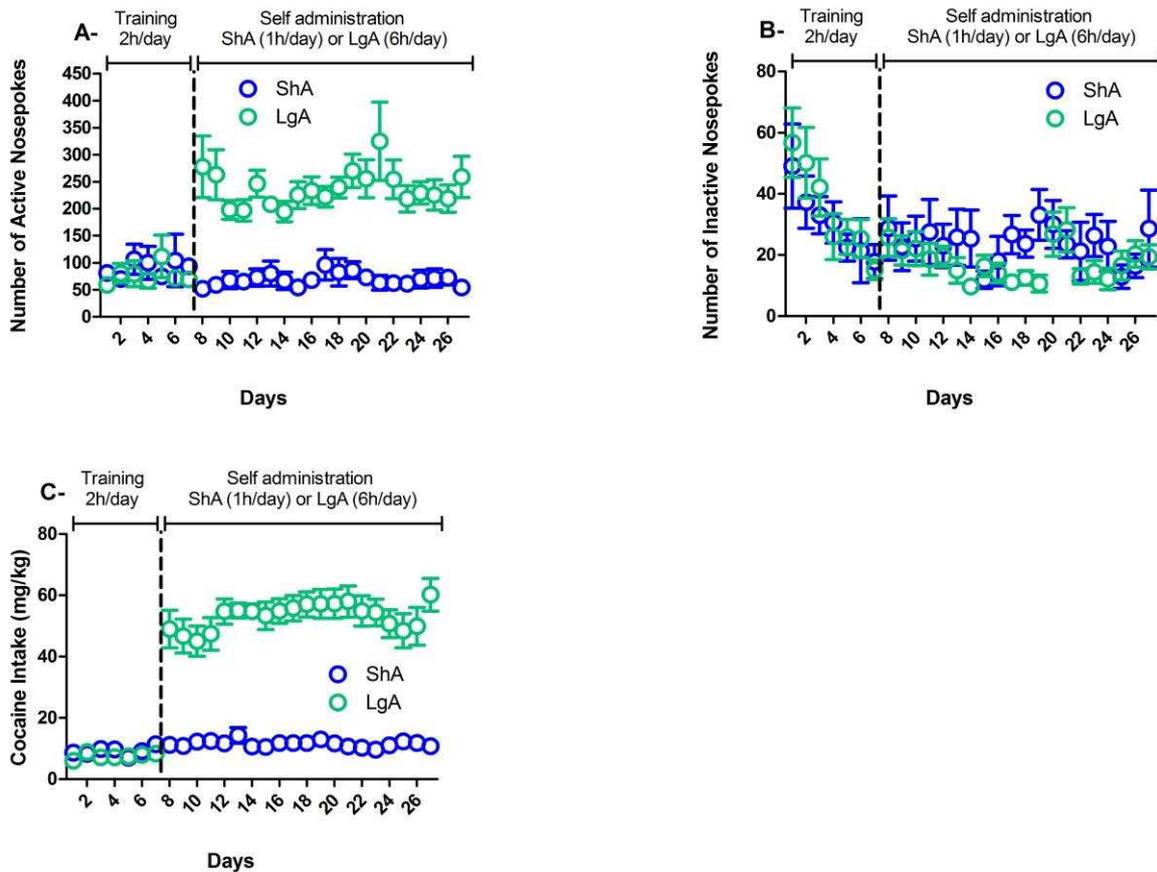


Figure 17 : Nombre de nose-pokes actifs (A) et inactifs (B) effectués au cours de la période d'entraînement (2h/jour pendant 7 jours) et de la procédure d'auto-administration de cocaïne pour les futurs groupes Short Access (ShA, 1h/jour, n=10) et Long Access (LgA, 6h/jour, n=12). Déroulement temporel de la prise de cocaïne (C) pendant la procédure d'auto-administration comprenant 7 jours d'entraînement avant que les rats ne soient répartis dans les deux groupes expérimentaux, ShA et LgA.

Nous pouvons observer que la durée d'accès à la cocaïne influence le comportement d'auto-administration. En effet, le groupe ShA réalise un nombre de réponses dans le nose-poke actif et une prise de cocaïne stables au cours des 20 sessions, avec des valeurs

d'injections par heure similaires à celles obtenues lors des 2 heures de session de la phase d'entraînement (Figure 17A). En moyenne, les rats du groupe ShA effectuent 70 nose-pokes actifs et prennent 11mg/kg de cocaïne par session. L'analyse de la réponse comportementale du groupe LgA, quant à elle, révèle une augmentation significative du nombre de nose-pokes actifs réalisés [$F(1,228)=36,628$, $p<0,001$] et de la prise de cocaïne [$F(1,285)=111,972$, $p<0,0001$] par rapport au groupe ShA. Le nombre de réponses dans le nose-poke inactif est similaire entre les deux groupes ShA et LgA et reste stable au cours des 20 sessions d'auto-administration, avec en moyenne 20 réponses par session. Les rats des deux groupes ShA et LgA exposent, comme lors de la période d'entraînement, une nette préférence pour le nose-poke actif associé à l'injection de cocaïne, signalant donc à un effet récompensant de la drogue pour les animaux. L'analyse statistique du nombre de réponses dans le nose-poke actif met en évidence un effet significatif du type d'accès à la cocaïne [$F(1,399)=50,128$, $p<0,001$] mais pas d'effet significatif du temps ni d'interaction entre le type d'accès à la cocaïne et le temps. Concernant la prise de cocaïne, un effet significatif du type d'accès à la drogue est évalué [$F(1,399)=140,567$, $p<0,0001$] mais aucun effet significatif du temps ni d'interaction entre le type d'accès à la cocaïne et le temps n'est observé. Aucune modification significative n'est mesurée pour le nombre de réponses dans le nose-poke inactif.

A l'issue de la période d'auto-administration, les rats des groupes ShA et LgA sont divisés en deux groupes, chacun étant constitué de façon homogène assurant ainsi un niveau de prise de drogue similaire, évalué sur la première heure de session d'auto-administration. Un groupe subira 7 jours de sevrage (ShA 7j et LgA 7j) tandis que l'autre subira 28 jours de sevrage (ShA 28j et LgA 28j) avant d'être sacrifiés pour évaluer l'effet du sevrage à la cocaïne sur le système vasculaire cérébral.

B. Effet du sevrage à la cocaïne sur le système vasculaire cérébral : analyse quantitative

Suite à une période de sevrage de 7 ou 28 jours, les rats des deux groupes ShA et LgA sont perfusés, puis un marquage immunohistochimique, dirigé contre un antigène de

surface des cellules endothéliales (Anticorps anti-RECA-1), est effectué afin de marquer l'ensemble du réseau vasculaire cérébral. Ce même marquage a également été réalisé sur un groupe de rats naïfs nous servant de contrôles (Figure 18).

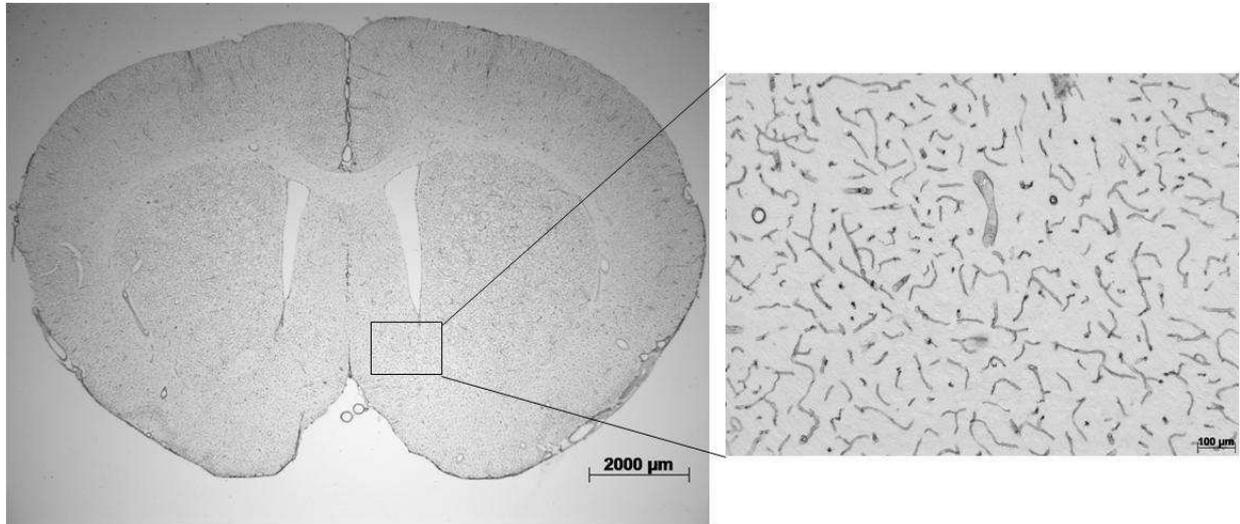


Figure 18 : Illustration du marquage immunohistochimique du réseau vasculaire cérébral par l'anticorps, anti-RECA-1, sur une coupe coronale de rat du groupe contrôle.

La quantification du réseau vasculaire, exprimé en densité de vaisseaux (cm/mm^3), est réalisée dans plusieurs régions connues pour jouer un rôle important dans l'addiction à la cocaïne. En effet, nous avons choisi de réaliser la quantification de vaisseaux dans l'ACC, le NAc Core et le NAc Shell, dans la VTA, la BLA, la BMA et la CeA. Après analyse, des différences significatives de la densité vasculaire sont mises en évidence au niveau cortical et plus spécifiquement dans l'ACC. En effet, la quantification de la densité des vaisseaux au sein de l'ACC révèle une diminution significative après 7 jours de sevrage dans le groupe LgA par rapport au groupe contrôle qui tend à retourner vers un niveau basal après 28 jours de sevrage (Figure 19A). L'analyse statistique ne signale pas d'effet significatif du groupe [$F(4,22)=2,298$, $p=0,09$] (Figure 19A). Cependant, l'analyse suivant un post-hoc de Fischer laisse apparaître un effet significatif pour le groupe LgA7j en comparaison au groupe contrôle ($p<0,05$) et au groupe LgA28j ($p<0,05$). Aucune différence significative n'est observée dans le groupe ShA, que ce soit après 7 ou 28 jours de sevrage, dans cette même région (Figure 19A). L'analyse statistique n'expose pas de différence significative de la

densité des vaisseaux au sein de la VTA (Figure 19B, VTA), du Core du NAc (Figure 19C, NAc Core) et du Shell (Figure 19D, NAc Shell), et des différents noyaux de l'amygdale (Figure 19E, BLA ; Figure 19F, BMA ; 19G, CeA) dans les quatre groupes expérimentaux ShA7j, LgA7j, ShA28j et LgA28j en comparaison au groupe contrôle.

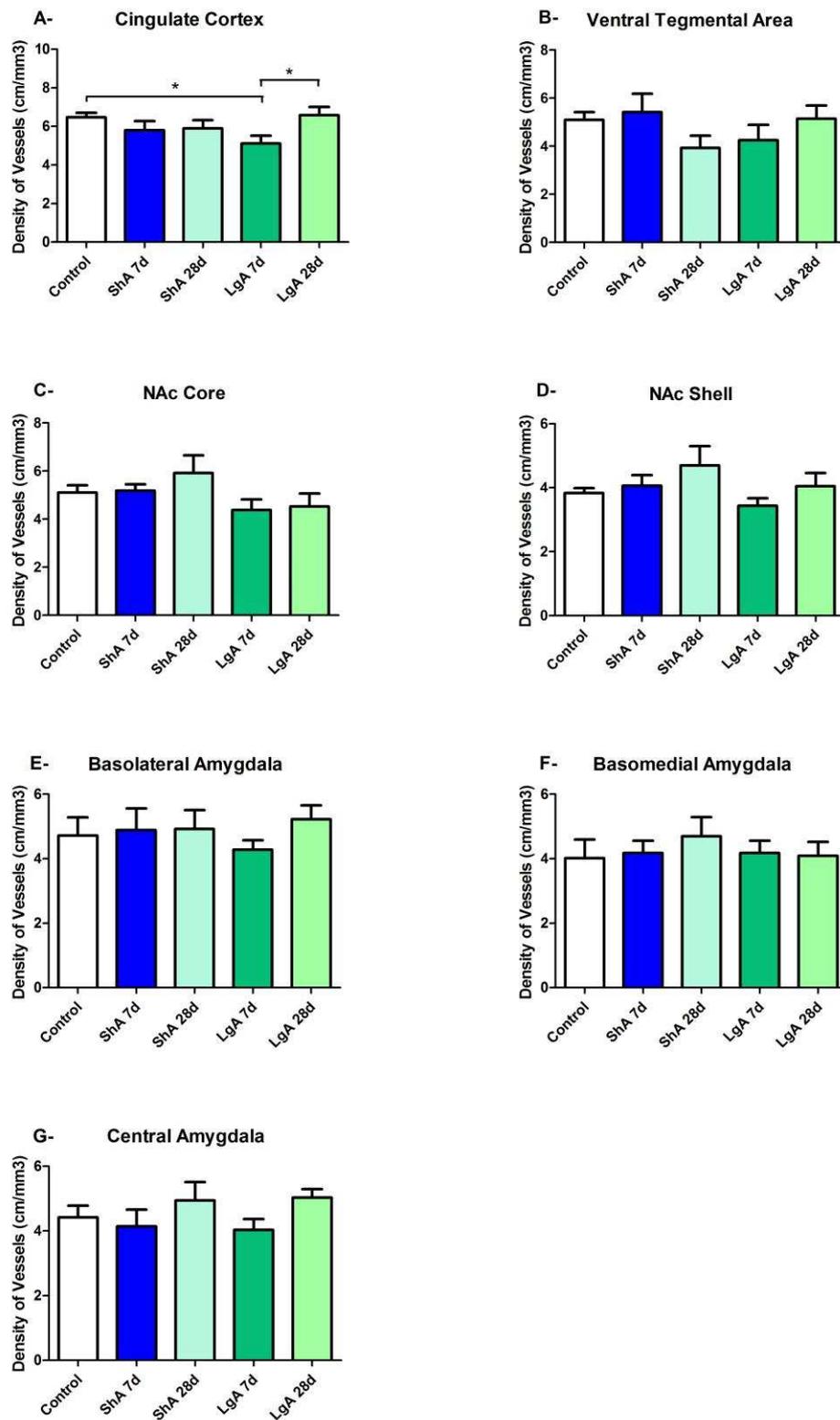


Figure 19: Effet du sevrage à la cocaïne sur la densité vasculaire cérébrale. La quantification de la densité des vaisseaux a été réalisée après 7 ou 28 jours de sevrage pour les quatre groupes expérimentaux ShA7j, ShA28j, LgA7j et LgA28j. Des rats naïfs

servent de groupe contrôle. L'analyse a été réalisée dans plusieurs régions, le cortex cingulaire antérieur (ACC), le noyau accumbens Core (NAc Core) et Shell (NAc Shell), l'aire tegmentale ventrale (VTA), l'amygdale basolatérale (BLA), l'amygdale basomédiale (BMA), et l'amygdale centrale (CeA). Pour toutes les structures, ShA7j n=5, ShA 28j n=5, LgA7j n= 5 et LgA 28j n=7. En ce qui concerne les rats contrôles, n=5 excepté pour la VTA, et les noyaux amygdaliens où n=4. L'analyse statistique a été réalisée en appliquant un test two-way ANOVA suivi par un post-hoc test de Fischer, $* < 0,05$ comparé au groupe contrôle et au groupe LgA28j.

C. Comparaison de la densité vasculaire dans les différentes régions cérébrales du groupe témoin

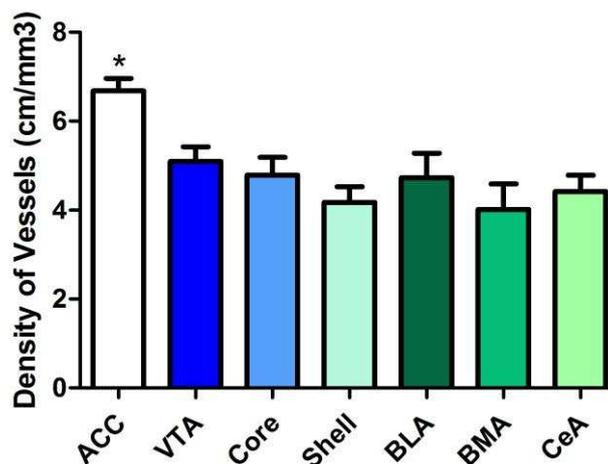


Figure 20 : Densité vasculaire en condition basale dans les régions d'intérêts que sont le cortex cingulaire antérieur (ACC, n=5), l'aire tegmentale ventrale (VTA, n=4), le noyau accumbens Core (NAc Core, n=5) et Shell (NAc Shell, n=5), l'amygdale basolatérale (BLA, n=4), l'amygdale basomédiale (BMA, n=4) et l'amygdale centrale (CeA, n=4). L'analyse statistique a été effectuée en appliquant un test one-way ANOVA suivi par un post-hoc Student Newman Keuls, $* < 0,05$ comparé aux six autres régions.

L'analyse de la densité des vaisseaux dans les différentes régions d'intérêts chez des rats contrôle naïfs, nous a permis de mettre en évidence une différence significative de la densité vasculaire basale entre ces régions que sont l'ACC, la VTA, le Core du NAc et le Shell du NAc,

la BLA, la BMA et la CeA (Figure 20). En effet, grâce à cette analyse, nous avons pu observer que l'ACC est significativement plus vascularisé en condition physiologique basale que les 6 autres régions étudiées (Figure 20). L'analyse statistique de la densité vasculaire révèle un effet significatif de la région [$F(6,24)=6.403$, $p<0.01$].

II. Discussion : Réarrangement du réseau vasculaire cérébral induit lors du sevrage suite à une prise chronique de cocaïne

A travers cette étude, nous avons souhaité déterminer si la prise chronique de cocaïne pouvait induire des modifications vasculaires à long terme. Pour cela, nous avons utilisé un modèle d'auto-administration d'escalade de prise de cocaïne qui consiste à permettre à des animaux un accès limité (ShA, 1h/jour) ou un accès prolongé (LgA, 6h/jour) à la drogue (Ahmed and Koob). Ce modèle permet de mimer à la fois une prise récréationnelle de drogue grâce au groupe ShA et une perte de contrôle sur la consommation ainsi qu'une prise addictive de drogue grâce au groupe LgA. Ensuite nous avons utilisé une approche anatomique et histologique pour évaluer les conséquences de la prise chronique de cocaïne sur le réseau vasculaire cérébral à court et long terme, respectivement après 7 ou 28 jours de sevrage. Cette approche nous a permis d'évaluer si la quantité de cocaïne administrée pouvait moduler les effets observés sur la vascularisation, mais également de déterminer si les effets mesurés persistent au cours du temps suite à l'arrêt de la prise de cocaïne. Notre étude a consisté à effectuer une analyse anatomique basée sur la technique de stéréologie qui permet de mesurer la longueur totale de vaisseaux au sein d'une région cérébrale d'intérêt.

Parmi l'ensemble des régions analysées (ACC, NAc Shell et Core, BLA, BMA et CeA), nous avons pu mettre en évidence un effet localisé exclusivement dans le cortex et plus spécifiquement dans l'ACC. En effet, dans le groupe LgA, avec un accès prolongé à la cocaïne, nous avons observé une réduction de la densité vasculaire après 7 jours de sevrage comparé au groupe contrôle. Nos résultats suggèrent donc que la prise excessive et chronique de cocaïne induit une adaptation au niveau de la structure vasculaire, exclusivement localisée

au niveau cortical. Ces résultats sont soutenus par d'autres études qui démontrent que l'administration chronique de cocaïne induit des lésions des capillaires dans le cortex frontal (Bassareo and Di Chiara, 1997) mais également des micro ischémies corticales (Ren et al., 2012). De plus, les atteintes vasculaires observées chez l'Homme, suite à la prise de cocaïne, sont également majoritairement focalisées au niveau cortical (Levine and Welch, 1988). Il semblerait donc que le système vasculaire du cortex cérébral, notamment l'ACC comme nous l'avons mis en avant dans notre étude, soit plus sensible à la toxicité induite par la prise chronique de cocaïne que les autres régions cérébrales (NAc Shell, Core, BLA, BMA, CeA). Cette sensibilité accrue de l'ACC peut s'expliquer par le fait qu'en condition physiologique, l'ACC est la région dotée de la densité vasculaire la plus élevée de l'ensemble des régions que nous avons étudié. Ainsi, il est possible d'envisager que l'ACC, par son réseau vasculaire dense, ait reçu une quantité plus importante de cocaïne, pouvant induire une adaptation du réseau vasculaire plus importante par rapport aux autres régions, de densité vasculaire plus petite. De plus, il est envisageable que les variations de densité vasculaire induites par la cocaïne soient plus facilement mises en évidence au sein des régions fortement vascularisées par rapport aux régions de densité vasculaire faible.

Nous avons pu mettre en avant un réarrangement du réseau vasculaire lors du sevrage après la prise chronique de cocaïne uniquement chez les rats ayant eu un accès prolongé à la cocaïne (LgA) alors que dans le groupe de rats ayant eu un accès limité à cette drogue (ShA), aucun effet n'a été observé dans l'ensemble des régions étudiées. Ces données suggèrent donc que les réarrangements de la vascularisation cérébrale sont dépendants de la quantité de drogue administrée. Etant donné la présence exclusive de cette diminution dans le modèle animal de perte de contrôle de la prise de cocaïne (LgA) et non de prise récréationnelle (ShA), nous suggérons que le réarrangement du réseau vasculaire mesuré dans l'ACC serait une caractéristique physiopathologique de l'addiction.

La diminution de la densité vasculaire mesurée dans l'ACC peut donc s'expliquer par plusieurs aspects. Tout d'abord, nous pouvons supposer que la cocaïne exercerait un effet toxique sur le réseau vasculaire provoquant alors une mort cellulaire à l'origine de la réduction de la densité de vaisseaux mesurée dans l'ACC. En effet, plusieurs études ont évalué la toxicité de la cocaïne sur des cellules endothéliales en culture et suggèrent que la

cocaïne induit une entrée en apoptose des cellules endothéliales provoquant ainsi une augmentation de la mort cellulaire (He et al., 2000a, 2001; Su et al., 2003). Il est donc possible d'envisager que la prise chronique de cocaïne chez le rat induise, une toxicité au niveau des cellules endothéliales du réseau vasculaire, provoquant ainsi la mort cellulaire et donc la réduction de la densité vasculaire. D'autre part, il est aussi clairement établi que la cocaïne a un effet vasoconstricteur (Kaufman et al., 1998), ainsi une autre hypothèse serait que la cocaïne, par son action vasoconstrictrice, provoquerait un affaiblissement de la paroi vasculaire, induisant alors des dommages dans le réseau vasculaire cérébral (Nolte et al., 1996). Nous pouvons également supposer que, lors du sevrage consécutif à une prise chronique de cocaïne, le réseau vasculaire, principalement celui de l'ACC, subit un réarrangement afin de compenser les modulations fonctionnelles. En effet, comme démontré dans notre étude « *Etude des modifications à long terme du métabolisme cérébral consécutives à la prise chronique de cocaïne* » (projet 2) chez le rat que nous présenterons dans le chapitre suivant, lors du sevrage, les aires corticales s'hypoactivent. Cette réduction de l'activité corticale a également été démontrée chez l'Homme dès le sevrage à court terme et persiste à long terme (Volkow et al., 1992; Volkow et al., 1993; Volkow et al., 1997a; Goldstein and Volkow, 2002). Cette réduction de la densité vasculaire au niveau de l'ACC pourrait donc être un processus adaptatif faisant suite aux modifications de l'activité fonctionnelle de cette région. En effet, en réduisant son métabolisme cérébral, l'ACC diminue ses besoins énergétiques (oxygène, glucose, nutriments...). De ce fait, le réseau vasculaire subirait un réarrangement visant à réduire sa densité du fait d'une diminution de ses besoins sanguins. Néanmoins, contrairement à l'hypométabolisme cortical qui persiste sur le long terme, la réduction de la densité vasculaire est transitoire et restreinte au sevrage à court terme. Il serait donc possible que la diminution de la vascularisation participe à la réduction de l'activité métabolique de l'ACC à court terme. En revanche, après plusieurs semaines de sevrage, les phénomènes deviennent indépendants avec une récupération anatomique et histologique, sans récupération fonctionnelle de l'activité métabolique.

Dans l'étude menée par Barroso Moguel et ses collaborateurs, les lésions vasculaires perdurent après 30 jours de sevrage induisant ainsi une hémorragie après 90 jours (Barroso Moguel et al., 1997). Au contraire, dans notre étude le réarrangement du réseau vasculaire dans l'ACC est un phénomène transitoire puisque la densité de vaisseaux dans cette région

retrouve un niveau basal à long terme, après 28 jours de sevrage. Ainsi, contrairement à l'étude menée par Barroso Moguel et ses collaborateurs indiquant que les lésions vasculaires perdurent après 30 jours de sevrage pour induire une hémorragie après 90 jours, nous avons mis en évidence une récupération du niveau basal de la densité vasculaire à long terme (Barroso-Moguel et al., 1997). Cependant, il est important de souligner que dans l'étude de Barroso Moguel, la cocaïne est administrée par l'expérimentateur à une dose très élevée (30mg/kg), alors que dans notre étude les rats se sont auto-administrés de façon chronique cette même drogue à des doses plus modérées (0.75mg/kg i.v.), bien que la dose totale administrée soit plus importante (41mg/kg/jour pour un total de 1g/kg). De plus, l'administration contingente de cocaïne par les rats, comme c'est le cas dans notre étude, peut avoir des effets neurobiologiques différents d'une administration passive par l'expérimentateur (Barroso-Moguel et al., 1997). Ces différences de protocoles pourraient expliquer des divergences de résultats, notamment sur les effets à long terme. D'un autre côté, il serait intéressant d'étudier si les modifications du réseau vasculaire, mises en évidence après 7 jours de sevrage, pourraient sous-tendre à une vulnérabilité accrue aux effets toxiques de la cocaïne. En d'autres termes, il serait possible qu'un régime de prise dérégulé et intermittent de drogue, par exemple lors de l'essai répété de l'arrêt de l'usage de cocaïne suivi par des rechutes, pourrait augmenter les risques d'accidents vasculaires que l'on retrouve chez l'Homme (Cregler and Mark, 1986; Wojak and Flamm, 1987; Daras et al., 1991; Nolte et al., 1996; Neiman et al., 2000).

Le rétablissement à long terme du niveau basal de la densité vasculaire au sein de l'ACC, suggère la mise en place d'une récupération pouvant être liée à un phénomène de néoangiogénèse qui permettrait de rétablir le réseau vasculaire. Ce phénomène pourrait être évalué par un marquage immunohistochimique ciblant l'intégrine $\alpha 5\beta 3$ qui joue un rôle dans la régulation de l'angiogénèse (Bi and Yi, 2014) ou bien en réalisant un double marquage des cellules endothéliales par RECA-1 et la bromodéoxyuridine (BrdU), marqueur de prolifération, permettant d'évaluer la prolifération des cellules endothéliales sous-jacente au processus de néoangiogénèse (Wong et al., 2013). La néoangiogénèse a longtemps été un phénomène exclusivement décrit dans les cas de cancers, or il est désormais admis que celle-ci peut avoir lieu en condition physiologique ou dans le cas d'un traumatisme (Rivera and Bergers, 2014). Il est donc envisageable que la consommation chronique de cocaïne soit

perçue comme un dommage cérébral engendrant des adaptations du réseau vasculaire, rétabli à long terme par l'activation des cellules endothéliales quiescentes (Rivera and Bergers, 2014).

D'un point de vue fonctionnel, étant donné que le PFC est une région impliquée dans le contrôle de l'inhibition et la prise de décision, la diminution de la densité vasculaire dans l'ACC pourrait contribuer, dans le cas de l'addiction, à une perte de contrôle sur la prise de drogue. Par conséquent, les animaux montreraient plus de difficultés à inhiber leur comportement de recherche de drogue dans les tests de rechute, bien que leurs réponses ne soient pas renforcées par l'injection de cocaïne. Donc, cette diminution de vascularisation corticale pourrait contribuer à perpétuer le cycle de l'addiction.

A. Conclusion

En conclusion, l'ensemble de nos résultats suggère que la prise chronique et excessive de cocaïne produit des modifications sélectives dans les structures vasculaires focalisées dans l'ACC. La réduction de la densité vasculaire au niveau cortical semble être une adaptation mise en place parallèlement à la diminution de l'activité métabolique de cette région cérébrale. Les modifications observées semblent transitoires puisqu'un processus de rétablissement se met en place à long terme après l'arrêt de la prise de cocaïne. Enfin, les modifications de la structure vasculaire pourraient contribuer à la perturbation du fonctionnement physiologique du cerveau pendant la phase précoce du sevrage, et donc à la physiopathologie de l'addiction.

B. Perspectives

Afin de compléter nos études et de mieux caractériser les modifications cérébrales induites à long terme par la prise chronique de cocaïne, nous envisageons de poursuivre l'analyse immunohistochimique en ciblant différents types cellulaires comme par exemple, les cellules gliales. D'un point de vue anatomique, ces cellules, et plus spécifiquement les astrocytes, sont considérées comme l'interface entre le système circulatoire et les neurones

(Belanger et al., 2011) (HISTOLOGIE- Bases fondamentales. Bertrand Macé. Omnisciences 2008). En effet, par leurs prolongements qui cernent et soutiennent les capillaires sanguins, les astrocytes sont de véritables liens entre le sang et les neurones formant ainsi un complexe cellulaire tripartite (vaisseaux, astrocytes, neurones). Cette composition anatomique sert à la fois de barrière et de trait d'union entre le sang et le tissu cérébral contribuant au fonctionnement physiologique des cellules nerveuses. Notre étude ayant mis en évidence une atteinte du système vasculaire suite à la prise chronique de cocaïne, il serait intéressant de déterminer si, en parallèle, la prise chronique de cocaïne peut induire une adaptation de la réponse gliale. En effet, plusieurs études mettent aujourd'hui en avant une modification de la réponse astrocytaire suite à la prise de cocaïne. Bien que les données ne soient pas toujours en accord, certaines montrent un effet toxique à long terme de l'administration chronique de cocaïne sur les astrocytes (Fattore et al., 2002), alors que d'autres mettent en avant une augmentation du nombre d'astrocytes (Bowers and Kalivas, 2003). Il semblerait que la prise chronique de cocaïne induise des modifications au niveau des cellules gliales. De surcroît, de récentes études suggèrent un rôle de la composante inflammatoire dans l'addiction aux drogues (Clark et al., 2013). Il a par exemple pu être démontré, que le traitement *in vivo* de cellules progénitrices neuronales humaines avec de la cocaïne augmente l'expression de gènes impliqués dans la réponse inflammatoire (Crawford et al., 2006). Ainsi, l'étude des modifications de la réponse gliale en parallèle de l'étude des adaptations vasculaires induites à long terme par la prise chronique de cocaïne, permettrait d'éclairer l'influence de la prise de drogue sur la structure anatomique tripartite et ainsi de savoir si les modifications de l'activité neuronale induites par la prise de drogue pourraient être sous-jacentes à une atteinte de cette structure tripartite.

PROJET 2 : Etude des modifications à long terme du métabolisme cérébral consécutives à la prise chronique de cocaïne

RESUME

L'addiction aux drogues est une pathologie psychiatrique chronique caractérisée par un fort taux de rechute. Bien que l'ensemble des recherches effectuées sur le sujet ont permis de mieux comprendre les modifications cérébrales induites par les drogues d'abus, comme la cocaïne, les thérapies sont aujourd'hui encore limitées. Ainsi, l'étude des mécanismes cérébraux sous-jacents aux neuro-adaptations à long terme est cruciale pour envisager de nouvelles stratégies thérapeutiques. Dans cette étude nous avons souhaité évaluer les modifications métaboliques à long terme induites par la prise chronique de cocaïne qui pourraient expliquer l'aspect chronique et récidivant de cette pathologie psychiatrique.

Pour cela, suite à 7 jours d'entraînement à la procédure d'auto-administration (2h/j), les rats sont divisés en deux groupes ayant un accès soit limité (ShA, 1h/j) soit prolongé (LgA, 6h/j) à l'auto-administration de cocaïne pendant 20 jours. Un troisième groupe naïf nous sert de contrôle. A la fin de la procédure d'auto-administration selon le modèle d'escalade, les rats sont placés en sevrage forcé et subiront une analyse métabolique en TEP-scan utilisant le ^{18}FDG après 7 et 28 jours de sevrage. Ce design expérimental nous permet un suivi longitudinal des modifications cérébrales induites lors du sevrage à la cocaïne.

Nos résultats montrent une réduction du métabolisme cortical et du NAc persistante sur le long terme. Le striatum dorsal affiche une variation métabolique différente en fonction du temps avec une réduction à court terme puis une transition vers une augmentation sur le long terme. Parallèlement, nous avons pu observer une augmentation métabolique dans la VTA et la SN variant au cours du sevrage. Enfin, au niveau de l'amygdale, nous avons mesuré une augmentation métabolique dès 7 jours de sevrage, qui persiste et même s'accroît à long terme. L'ensemble de ces données avance un argument

supplémentaire en faveur de la mise en place de modifications du fonctionnement cérébral lors du sevrage à la cocaïne. De plus, nos travaux suggèrent la mise en place d'adaptations métaboliques lors du sevrage à long terme qui pourraient participer au développement du phénomène d'incubation du « craving » et ainsi jouer un rôle important dans la précipitation de la rechute.

I. Résultats

A. Auto-administration de cocaïne

La procédure d'auto-administration débute par 7 jours d'apprentissage, à raison de 2 heures de session par jour. L'ensemble des rats, qui seront par la suite inclus dans les futurs groupes Short Access (ShA) ou Long Access (LgA), acquièrent rapidement un comportement d'auto-administration de cocaïne. Au cours de cette phase d'apprentissage, représentée sur la gauche des graphiques, tous les rats expriment des profils identiques que ce soit pour les réponses dans les nose-pokes actif (Figure 21A) et inactif (Figure 21B) ou pour la prise de cocaïne (Figure 21C). Le nombre de réponses dans le nose-poke actif augmente légèrement au fil des 7 sessions d'apprentissage, avec en moyenne 57 nose-pokes actifs réalisés lors de la première session contre 70 réalisés lors de la 7^{ème} session (Figure 21A). Le profil de réponses dans le nose-poke inactif souligne, quant à lui, une diminution significative au cours des sessions d'entraînement, avec la réalisation en moyenne de 32 réponses lors de la première session qui chutent de moitié pour atteindre 15 nose-pokes inactifs lors de la dernière session d'apprentissage (Figure 21B). La légère augmentation du nombre de nose-pokes actifs au cours de la phase d'apprentissage ainsi que la chute du nombre de réponses dans le nose-poke inactif témoignent de la préférence des rats pour le nose-poke actif, associé à l'effet récompensant perçu suite à l'injection de la cocaïne. Ce profil comportemental met en avant l'apprentissage des animaux au cours des sessions d'auto-administration. Pendant la phase d'apprentissage, la prise de cocaïne augmente légèrement pour les rats des deux futurs groupes, ShA et LgA. Lors de la première session d'apprentissage, les animaux s'administrent en moyenne 6mg/kg de cocaïne puis augmentent leur prise à 8mg/kg lors de la dernière session de 2 heures (Figure 21C). L'analyse statistique du nombre de réponses dans le nose-poke inactif, révèle un effet significatif du temps [$F(1,6)=3,263$, $p<0,01$] mais pas d'effet significatif du groupe ni d'interaction entre le groupe et le temps. Aucun effet significatif n'est mesuré pour le nombre de réponses dans le nose-poke actif et la prise de cocaïne.

A l'issue de cette phase d'apprentissage, les rats sont divisés en deux groupes, ShA et LgA, et suivent respectivement 1 et 6 heures de session d'auto-administration par jour, pendant 20 jours. Cette phase d'auto-administration est représentée sur la droite des graphiques. La répartition des animaux dans les groupes expérimentaux est réalisée en s'assurant que les animaux des deux groupes, ShA et LgA, aient un même niveau de prise de cocaïne au cours de la phase d'apprentissage (Figure 21C), assurant ainsi un nombre de réponses dans les nose-pokes actif (Figure 21A) et inactif (Figure 21B) également identique. De façon attendue, la durée des sessions influence le profil comportemental d'auto-administration. Seul le nombre de nose-pokes inactifs est identique entre les deux groupes, ShA et LgA, puisqu'une réponse dans ce nose-poke n'induit aucune conséquence (Figure 21B). De manière générale, les rats du groupe ShA, avec un accès court à la cocaïne, réalisent un nombre de réponses dans le nose-poke actif (Figure 21A) et une prise de cocaïne (Figure 21C) stable au cours des 20 sessions, avec en moyenne 45 réponses et 9mg/kg de cocaïne par session de 1 heure. Les rats du groupe LgA, avec un accès prolongé à la cocaïne, ont une réponse comportementale dans le nose-poke actif et une prise de cocaïne (en moyenne 57mg/kg par session) (Figure 21C) largement supérieure au groupe ShA. En effet, les rats LgA répondent en moyenne cinq fois plus dans le nose-poke actif et prennent sept fois plus de cocaïne que les rats ShA. Concernant le nombre de réponses dans le nose-poke actif, l'analyse statistique signale un effet significatif du type d'accès à la cocaïne [$F(1,247)=141,210$, $p<0,0001$] et du temps [$F(1,19)=1,804$, $p<0,05$] et une interaction significative entre le type d'accès à la cocaïne et le temps [$F(1,19)=1,883$, $p<0,05$]. Ainsi, l'analyse statistique effectuée sur la prise de cocaïne révèle également un effet significatif du type d'accès à la cocaïne [$F(1,247)=123,697$, $p<0,0001$], du temps [$F(1,19)=2,542$, $p<0,01$] et une interaction entre le type d'accès à la cocaïne et le temps [$F(1,19)=1,542$, $p<0,05$]. De même, l'analyse du profil de la prise de cocaïne des rats LgA montre un effet significatif du temps [$F(7,19)=3,017$, $p=0,001$]. Aucun effet significatif n'est observé pour le nombre de réponses dans le nose-poke inactif.

A l'issue de la période d'auto-administration, les rats des groupes ShA et LgA sont placés en sevrage forcé et une analyse des modifications du métabolisme est réalisée en imagerie TEP à 7 et 28 jours de sevrage.

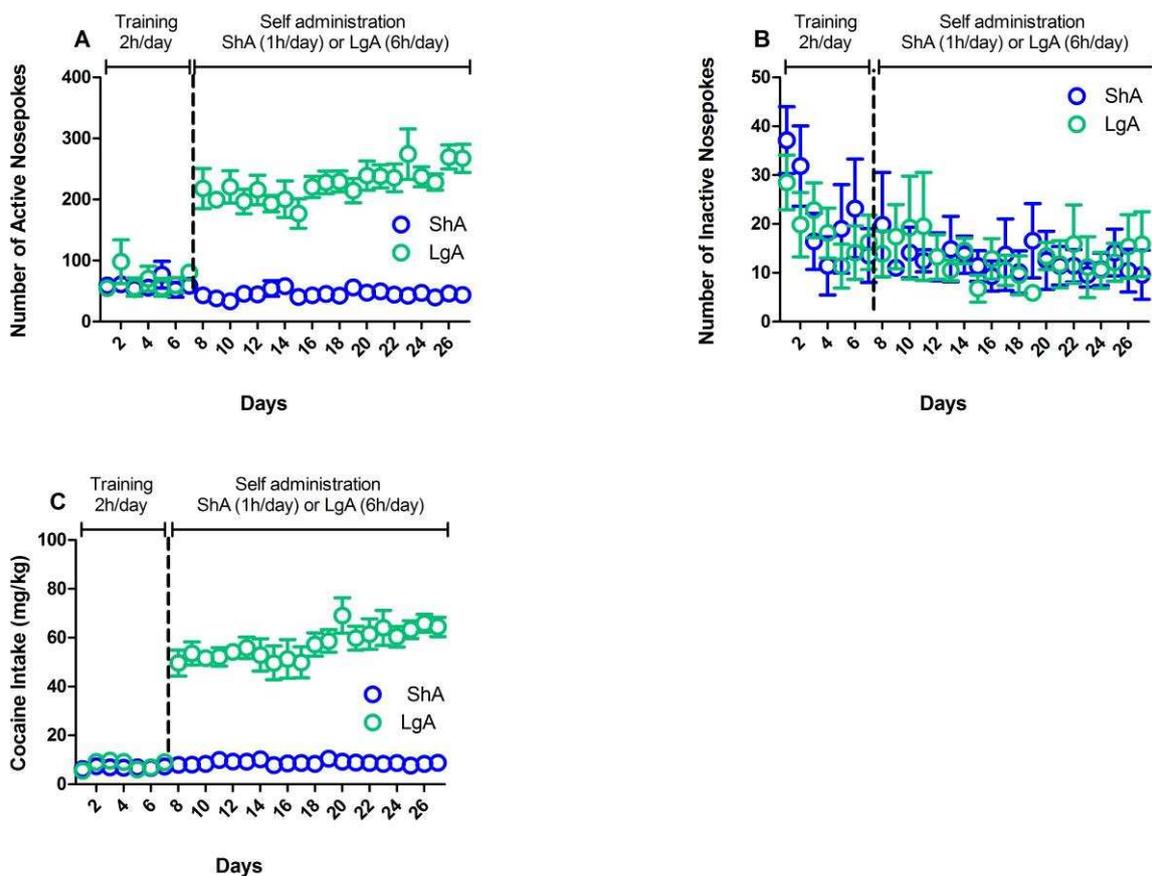


Figure 21 : Nombre de nose-pokes actifs (A) et inactifs (B) réalisés lors de la période d'entraînement (2h/jour pendant 7 jours) et de la procédure d'auto-administration de cocaïne pour les futurs groupes Short Access (ShA, 1h/jour, n=14) et Long Access (LgA, 6h/jour, n=16). Décours temporel de la prise de cocaïne (C) pendant la procédure d'auto-administration composée de 7 jours d'entraînement avant la répartition des rats dans les deux groupes expérimentaux, ShA et LgA.

B. Modulation du métabolisme cérébral induite par une prise chronique de cocaïne lors de la période de sevrage

Les résultats de l'étude du métabolisme cérébral basal par imagerie TEP sont représentés par une analyse des cartes de Z-scores (Tableau 5) et de la captation régionale de ^{18}F FDG. Ces analyses comparent les 4 groupes expérimentaux (ShA7j, ShA28j, LgA7j et LgA28j) au groupe contrôle et montrent des différences significatives au moins à $p < 0,01$ en terme d'accumulation de ^{18}F FDG entre le groupe analysé et le groupe contrôle. Il faut noter

que les valeurs des Z-scores positives ou négatives indiquent respectivement une augmentation ou une diminution de l'absorption de ^{18}FDG par rapport au groupe contrôle. Statistiquement, pour un Z-score=1, $p < 0,15$ approximativement ; Z-score=2, $p < 0,02$ approximativement ; pour Z-score=3 et plus, $p < 0,001$ approximativement.

	ShA 7j		ShA 28j		LgA 7j		LgA 28j	
	Gauche	Droite	Gauche	Droite	Gauche	Droite	Gauche	Droite
OFC	0,00	0,00	-3,95	0,00	-3,12	0,00	0,00	0,00
ACC	-3,64	-4,34	-3,07	-3,49	0,00	0,00	-4,58	-3,58
NAc	-3,20	-3,74	0,00	0,00	-3,61	0,00	0,00	-3,06
Str D	4,80	4,36	-5,90	-3,47	0,00	3,04	-11,15	-5,61
VTA	0,00	0,00	0,00	0,00	4,10	2,67	0,00	0,00
SN	0,00	3,18	0,00	0,00	0,00	0,00	3,25	0,00
Amy	-4,10	0,00	0,00	0,00	3,56	0,00	3,77	3,56

Tableau 5 : Tableau récapitulatif de l'analyse par Z-scores de l'absorption de ^{18}FDG pour les rats ayant eu un accès limité (ShA) ou prolongé (LgA) à la cocaïne et ayant subi l'analyse métabolique en TEP-scan après 7 jours (ShA7j n=7, LgA7j n=8) et 28 jours (ShA28j n=7 et LgA28j n=8) de sevrage en comparaison au groupe contrôle (n=8). L'analyse par Z-scores a été effectuée dans plusieurs régions connues pour jouer un rôle dans l'addiction comme le cortex orbitofrontal (OFC), le cortex cingulaire antérieure (ACC), le noyau accumbens (NAc), le striatum dorsal (Str D), l'aire tegmentale ventrale (VTA), la substance noire (SN) et l'amygdale (Amy).

1. Modifications du métabolisme cérébral au niveau cortical

L'analyse du métabolisme cérébral au niveau cortical lors d'une période de sevrage qui faisant suite à une prise chronique de cocaïne montre, de façon générale, une diminution de la capture du ^{18}FDG témoignant du développement d'une hypoactivation corticale.

Au niveau de l'OFC (Figure 22), cette diminution est exclusivement observée dans l'hémisphère gauche. L'hypoactivation corticale est visualisée uniquement après 28 jours de sevrage chez les rats ShA (Figure 22 C,D) alors que pour les rats du groupe LgA, la réduction de l'activité métabolique semble plutôt être un effet à court terme (après 7 jours de sevrage,

Figure 22 E,F) et transitoire puisque la capture de ^{18}FDG revient à un niveau basal après 28 jours de sevrage (Figure 22 G,H).

L'analyse statistique révèle une diminution significative de la capture de ^{18}FDG pour le groupe ShA28j dans l'hémisphère gauche avec un Z-score égal à -3,95 pour $p < 0,01$ par rapport au groupe contrôle (Tableau 5). Pour le groupe LgA7j l'analyse statistique signale une réduction significative de l'absorption de ^{18}FDG dans l'hémisphère gauche avec un Z-score égal à -3,12 pour $p < 0,01$ par rapport au groupe contrôle (Tableau 1).

OrbitoFrontal Cortex

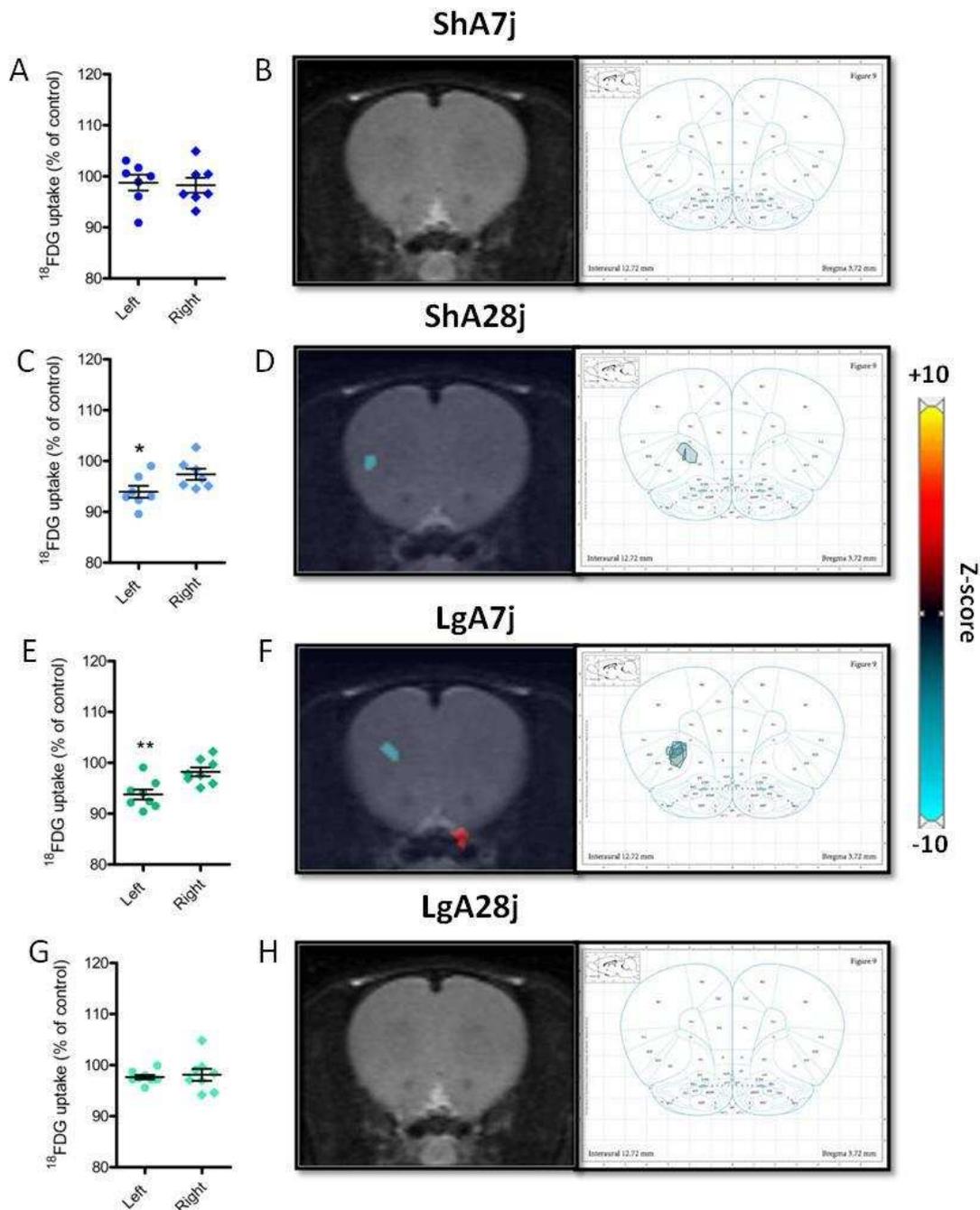


Figure 22 : Représentation des modifications significatives de la capture de ^{18}F FDG dans le cortex orbitofrontal (OFC) des rats ayant suivi une procédure d'accès limité (ShA) ou prolongé (LgA) à la cocaïne dont l'analyse métabolique a été effectuée après 7 (ShA7j n=7, LgA7j n=8) et 28 (ShA28j n=7, LgA28j n=8) jours de sevrage par rapport au groupe contrôle de rats naïfs (n=8). Pour chaque groupe expérimental (A, C, E, G) les variations de capture de ^{18}F FDG ont été rapportées en pourcentage par rapport au groupe contrôle pour l'hémisphère gauche et droite. L'analyse statistique a été effectuée avec un t-test, *p<0,05 ;

****p<0,01. Les cartes de Z-scores générées (B,D,F,H à gauche) ont été fusionnées avec des modèles IRM. De plus, un résumé des modifications sur l'axe antéro-postérieur de capture de ¹⁸FDG statistiquement significatives a été réalisé sur des coupes coronales de l'atlas Paxinos et Watson (B,D,F,G à droite). L'augmentation et la diminution de la capture de ¹⁸FDG sont respectivement représentées selon un axe de rouge à bleu. L'analyse statistique a été effectuée avec un t-test à p<0,01.**

Dans l'ACC (Figure 23), la réduction du métabolisme cérébral visualisée de façon bilatérale est légèrement plus accentuée dans le groupe ShA par rapport au groupe LgA. En effet, l'hypofonctionnalité de l'ACC est observée à court terme dès 7 jours de sevrage pour le groupe ShA (Figure 23A,B) puis persiste après 28 jours de sevrage (Figure 23C,D). Cependant, en ce qui concerne les rats ayant eu un accès prolongé à la cocaïne, la réduction du métabolisme semble être une neuro-adaptation induite à plus long terme car elle est mesurée uniquement après 28 jours de sevrage (Figure 23G,H). En effet, aucune modification du métabolisme cérébral n'est observée dans le groupe LgA à 7 jours de sevrage (Figure 23E,F).

L'analyse statistique révèle, dans l'ACC des rats du groupe ShA après 7 jours de sevrage, une diminution significative de la capture de ¹⁸FDG avec un Z-score égal à -3,64 et -4,34 pour p<0,01 respectivement pour les hémisphères gauche et droit. Elle permet également de signaler une diminution après 28 jours de sevrage avec un Z-score égal à -3,07 et -3,49 pour p<0,01 respectivement pour les hémisphères gauche et droit (Tableau 5). Pour le groupe LgA, l'analyse statistique révèle une diminution significative de l'accumulation de ¹⁸FDG seulement après 28 jours de sevrage avec un Z-score égal à -4,58 et -3,58 respectivement pour l'hémisphère gauche et droit (Tableau 5).

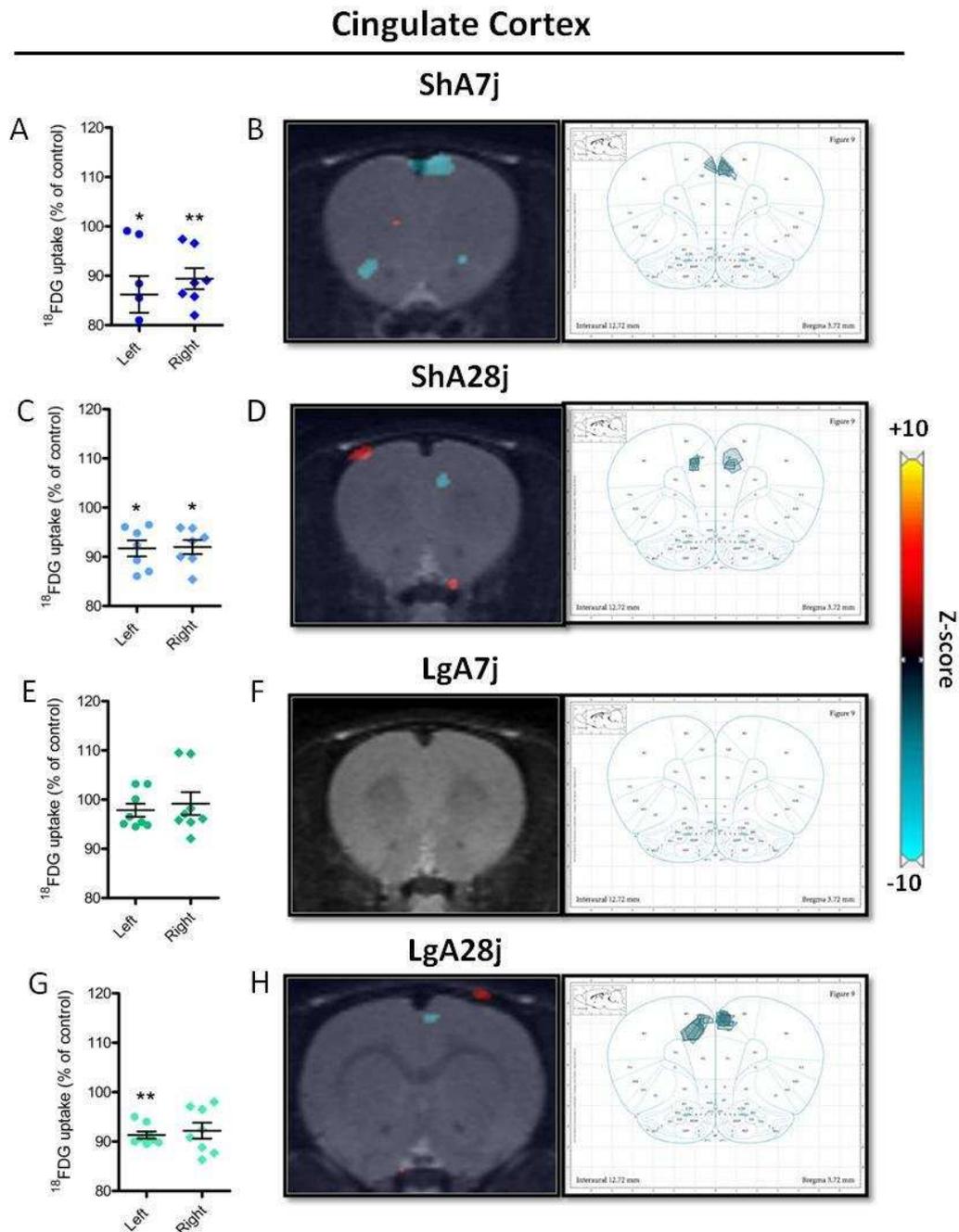


Figure 23 : Illustration des modifications significatives de l'absorption de ^{18}F FDG dans le cortex cingulaire antérieur (ACC) des 4 groupes expérimentaux ShA et LgA ayant subi l'analyse par TEP-scan après 7 (ShA7j n=7, LgA7j n=8) et 28 (ShA28j n=7, LgA28j n=8) jours de sevrage par rapport au groupe contrôle de rats naïfs (n=8). Les pourcentages de variations de la capture de ^{18}F FDG (A, C, E, G) par rapport au groupe contrôle sont représentés pour chaque hémisphère. L'analyse statistique a été effectuée avec un t-test, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$. Les cartes de Z-scores sont fusionnées avec des modèles IRM (B,D,F,H à gauche) et un résumé des modifications antéro-postérieures est représenté sur une coupe d'atlas Paxinos et Watson (B,D,F,H à droite). L'analyse statistique a été effectuée avec un t-test à $p < 0,01$.

2. Modifications du métabolisme cérébral au niveau du Noyau Accumbens (NAc)

Dans le NAc, l'analyse métabolique révèle une diminution de l'activité cérébrale régionale (Figure 24). En ce qui concerne les rats ShA, nous observons une hypoactivation du NAc à 7 jours (Figure 24 A,B), qui est transitoire puisque l'on retrouve un niveau basal à long terme après 28 jours de sevrage (Figure 24 C,D). En revanche, pour les rats du groupe LgA, l'hypométabolisme du NAc semble être une adaptation persistant à long terme puisqu'elle est mesurée dès 7 jours de sevrage (Figure 24 E,F) et perdue à long terme après 28 jours de sevrage (Figure 24 G,H).

L'analyse statistique signale une réduction significative de la capture de ^{18}F FDG dans le NAc pour le groupe ShA après 7 jours de sevrage avec un Z-score égal à -3,20 et -3,74 pour $p < 0,01$ respectivement pour l'hémisphère gauche et droit. Il en est de même pour le groupe LgA après 7 jours de sevrage avec un Z-score égal à -3,61 pour l'hémisphère gauche et après 28 jours de sevrage avec un Z-score égal à -3,06 pour l'hémisphère droit (Tableau 5).

Nucleus Accumbens

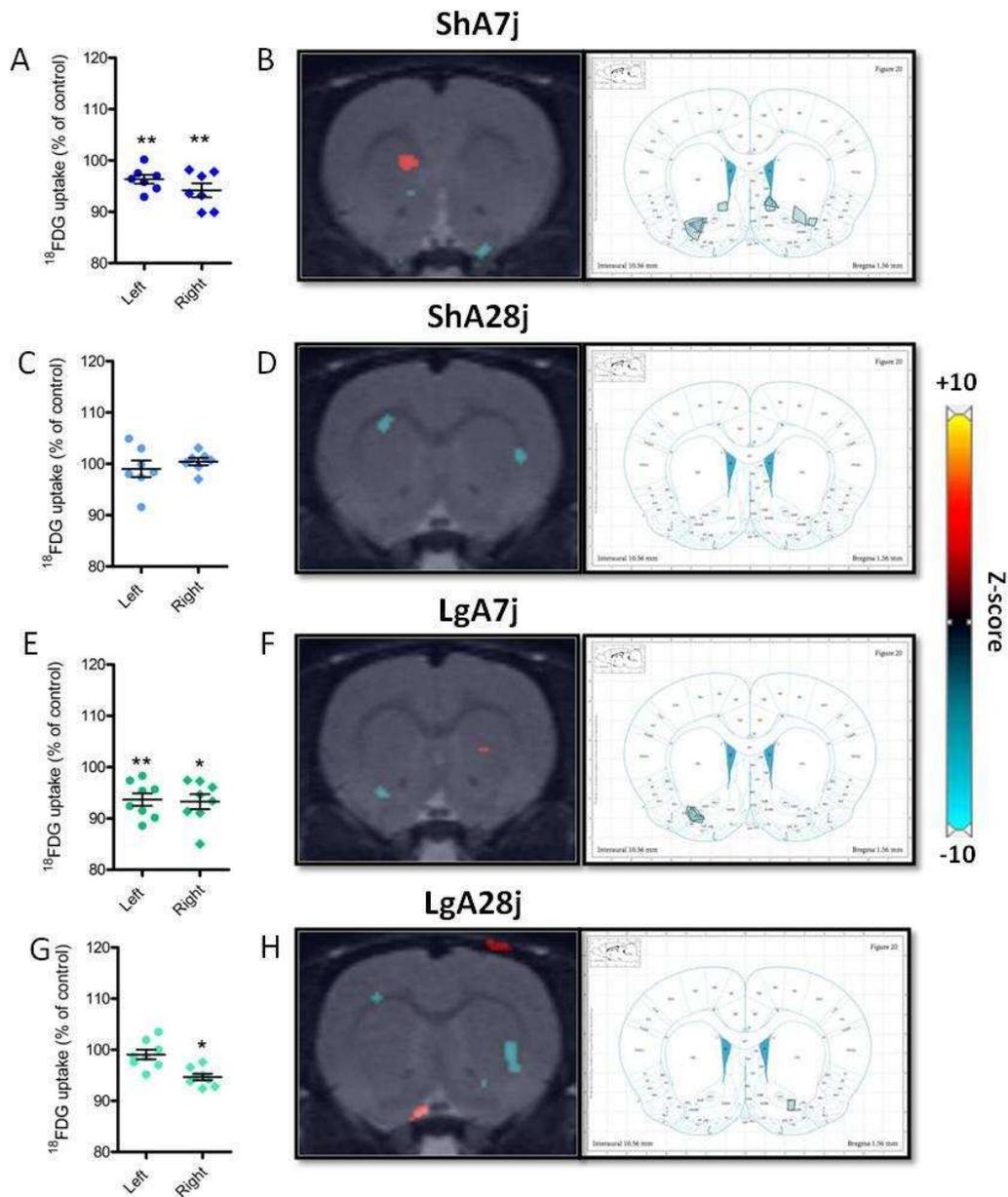


Figure 24 : Représentation des changements significatifs de l'accumulation de ^{18}F -FDG dans le noyau accumbens (NAc) des groupes expérimentaux ShA et LgA ayant subi l'analyse par TEP-scan après 7 (ShA7j n=7, LgA7j n=8) et 28 (ShA28j n=7, LgA28j n=8) jours de sevrage par rapport au groupe contrôle de rats naïfs (n=8). Les variations en pourcentage par rapport au groupe contrôle de l'accumulation de ^{18}F -FDG (A, C, E, G) sont représentées pour chaque hémisphère. L'analyse statistique a été effectuée avec un t-test, *p<0,05 ; **p<0,01. Une illustration des cartes de Z-scores a été effectuée (B,D,F,H à gauche) et un résumé des modifications antéro-postérieures est représenté sur une coupe d'atlas Paxinos et Watson (B,D,F,H à droite). L'analyse statistique a été effectuée avec un t-test à p<0,01.

3. Modifications du métabolisme cérébral au niveau du Striatum Dorsal (Str D)

L'analyse du métabolisme cérébral au niveau du Str D montre une modification de l'activité cérébrale régionale différente en fonction du temps suite à l'arrêt de la prise de cocaïne (Figure 25). En effet, à court terme, après 7 jours de sevrage, le Str D est hyperactivé, puis à long terme (28 jours), le métabolisme de cette région affiche une nette réduction témoignant ainsi de la mise en place d'un phénomène de neuro-adaptation. Pour le groupe ShA (Figure 25 A,B), après 7 jours de sevrage, le Str D montre une hyperactivation métabolique qui paraît légèrement plus accentuée que pour le groupe LgA (Figure 25 E,F). Cette région s'hypoactive ensuite à long terme. Cette réduction du métabolisme est alors nettement plus significative chez les rats du groupe LgA (Figure 25 G,H) que chez les rats ShA (Figure 25 C,D).

D'un point de vue statistique, l'analyse montre une augmentation significative de la capture de ^{18}FDG après 7 jours de sevrage pour les deux groupes : ShA avec un Z-score égal à 4,80 et 4,36 pour $p < 0,01$ respectivement pour l'hémisphère gauche et droit ; et LgA avec un Z-score égal à 3,04 pour l'hémisphère droit (Tableau 5). A l'inverse, après 28 jours de sevrage, l'analyse statistique montre une réduction significative de la fixation de ^{18}FDG pour les deux groupes : ShA avec un Z-score égal à -5,90 et -3,47 pour $p < 0,01$ respectivement pour l'hémisphère gauche et droit et LgA avec un Z-score égal à -11,15 et -5,61 pour $p < 0,01$ respectivement pour l'hémisphère gauche et droit (Tableau 5).

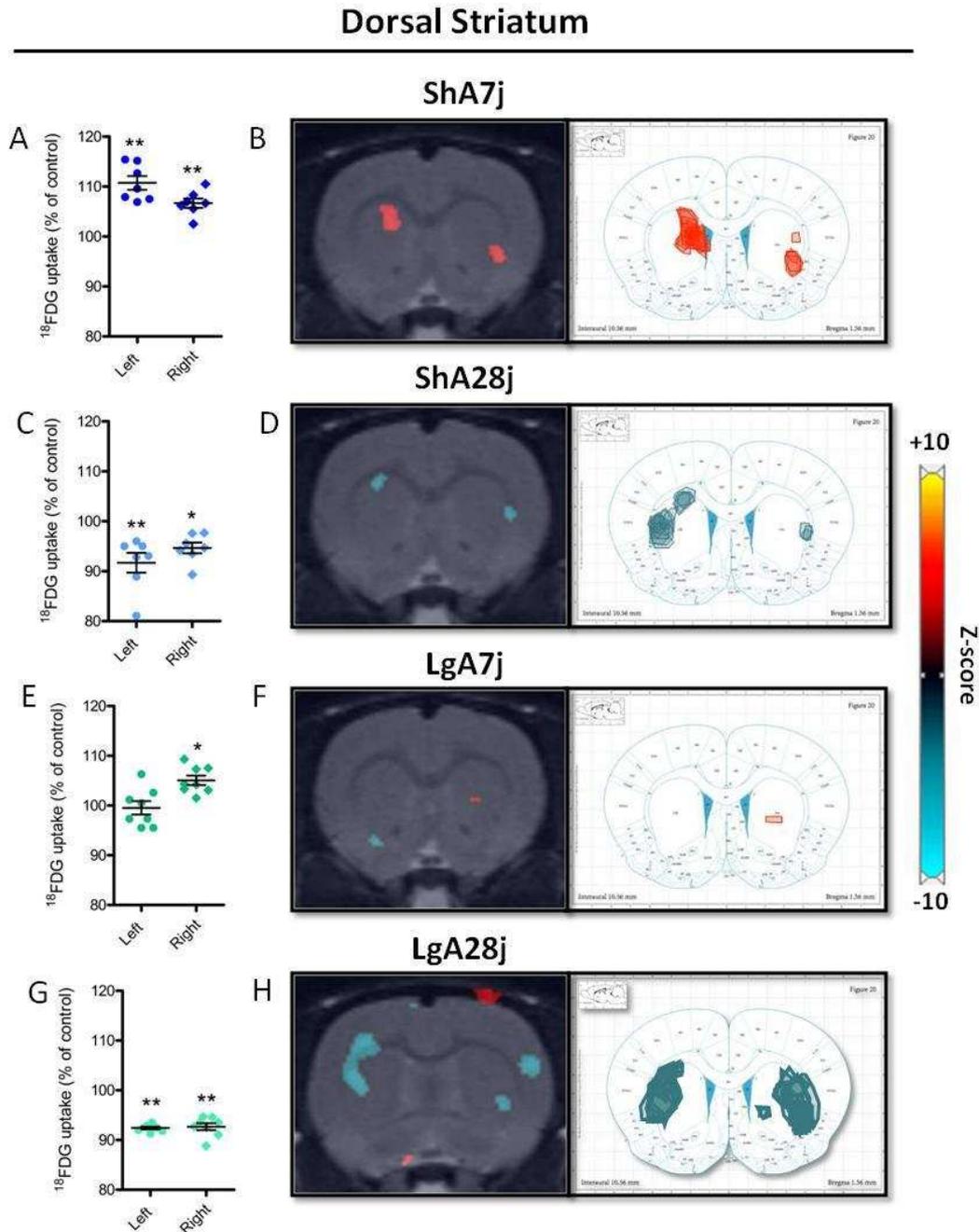


Figure 25 : Illustration des variations significatives de l'absorption de ^{18}F FDG dans le striatum dorsal des rats des groupes ShA et LgA ayant subi l'analyse métabolique après 7 (ShA7j n=7, LgA7j n=8) et 28 (ShA28j n=7, LgA28j n=8) jours de sevrage par rapport au groupe contrôle de rats naïfs (n=8). Les pourcentages de variations (A,C,E,F) de l'accumulation de ^{18}F FDG par rapport au groupe contrôle sont représentés pour l'hémisphère gauche et droit. L'analyse statistique a été effectuée avec un t-test, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$. Les cartes de Z-scores sont réalisées (B,D,F,H à gauche) et un résumé des modifications sur l'axe antéro-postérieur de capture de ^{18}F FDG statistiquement significatives est représenté sur une coupe coronale de l'atlas Paxinos et Watson. L'analyse statistique a été effectuée avec un t-test à $p < 0,01$.

4. Modifications du métabolisme cérébral au niveau de l'Aire Tegmentale Ventrale (VTA)

Concernant la VTA, une augmentation transitoire de l'activité métabolique est exclusivement observée chez les rats LgA à court terme après 7 jours de sevrage (Figure 26 E,F). Cette hyperactivation métabolique est transitoire puisque l'accumulation de ^{18}FDG retourne à un niveau basal après 28 jours de sevrage (Figure 26 G,H). Aucune modification n'est mesurée dans le groupe ShA (Figure 26 A,B,C,D).

L'analyse statistique montre une augmentation significative de la capture de ^{18}FDG dans le groupe LgA après 7 jours de sevrage avec des Z-scores égaux à 4,10 et 2,67 pour $p < 0,01$ respectivement pour l'hémisphère gauche et droit (Tableau 5).

Ventral tegmental Area

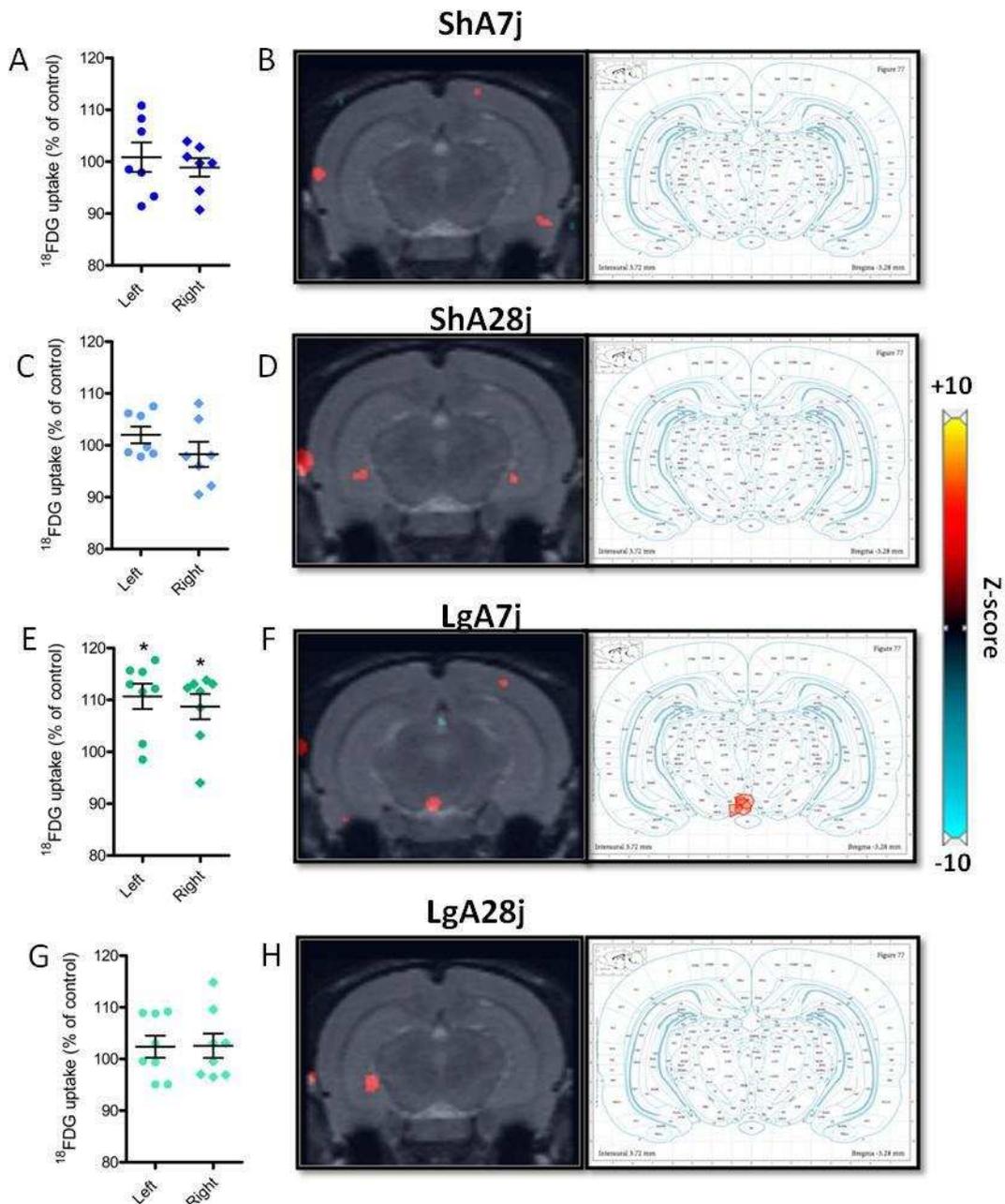


Figure 26: Illustration des modifications de l'activité métabolique mesurée par l'accumulation de ^{18}F FDG dans l'aire tegmentale ventrale (VTA) pour les groupes ShA7j (n=7), ShA28j (n=7), LgA7j (n=8), et LgA28j (n=8) par rapport aux rats contrôles naïfs (n=8). Les variations de la capture de ^{18}F FDG (A,C,E,G) pour chaque groupe expérimental exprimées en pourcentage par rapport au groupe contrôle sont représentées pour chaque hémisphère. L'analyse statistique a été effectuée avec un t-test, *p<0,05. Les cartes des Z-scores sont réalisées (B,D,F,H, à gauche) et un résumé des variations selon l'axe antéro-postérieur (B,D,F,H, à droite) est illustré sur une coupe coronale de l'atlas Paxinos et Watson. L'analyse statistique a été effectuée avec un t-test à p<0,01.

5. Modifications du métabolisme cérébral au niveau de la Substance Noire (SN)

Dans la substance noire (SN), une augmentation de l'activité métabolique est observée dans les deux groupes ShA et LgA mais suivant un déroulement temporel différent. En effet, concernant le groupe ShA, l'augmentation semble transitoire car elle est mesurée uniquement à court terme après 7 jours de sevrage (Figure 27A,B) puis le métabolisme retrouve un niveau basal après 28 jours (Figure 27C,D). Alors que pour le groupe LgA l'accroissement de l'activité métabolique est observé seulement après 28 jours de sevrage (Figure 27G,H), témoignant d'une adaptation cérébrale à long terme.

L'analyse statistique montre une augmentation significative de la captation de ^{18}F FDG après 7 jours de sevrage pour le groupe ShA avec un Z-score égal à 3,18 pour $p < 0,01$ pour l'hémisphère droit et après 28 jours pour le groupe LgA avec un Z-score égal à 3,25 pour $p < 0,01$ pour l'hémisphère gauche (Tableau 5).

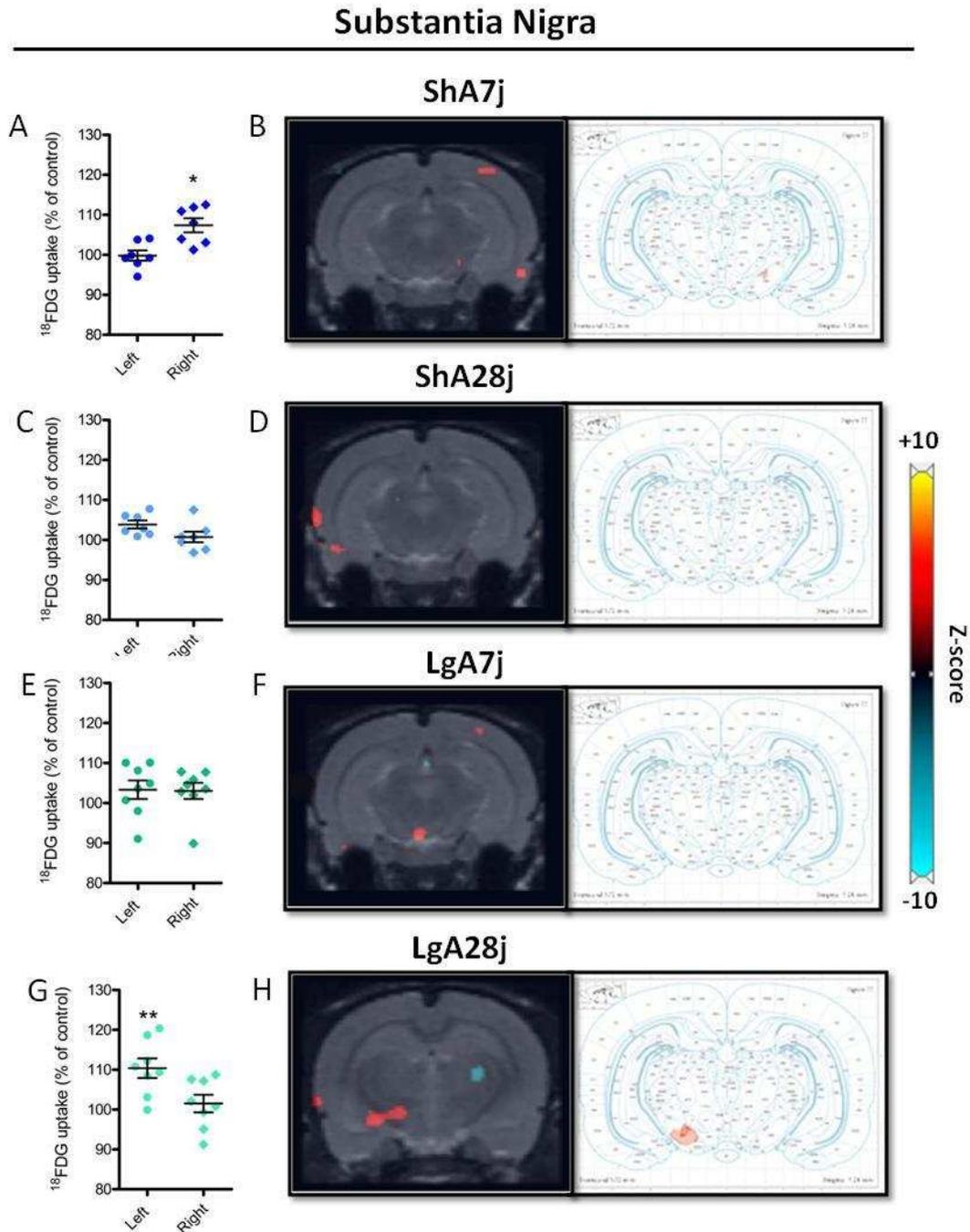


Figure 27 : Illustration des variations de l'activité métabolique évaluée par l'accumulation de ^{18}F FDG dans la substance noire (SN) pour les groupes ShA7j (n=7), ShA28j (n=7), LgA7j (n=8), et LgA28j (n=8) par rapport aux rats contrôles naïfs (n=8). Les pourcentages de variations de la capture de ^{18}F FDG (A,C,E,G) pour chaque groupe expérimental exprimés en comparaison au groupe contrôle sont représentés pour chaque hémisphère. L'analyse statistique a été effectuée avec un t-test, * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$. Les cartes des Z-scores sont réalisées (B,D,F,H, à gauche) et un résumé des variations selon l'axe antéro-postérieur (B,D,F,H, à droite) est illustré sur une coupe coronale d'atlas Paxinos et Watson. L'analyse statistique a été effectuée avec un t-test à $p < 0,01$.

6. Modifications du métabolisme cérébral au niveau de l'amygdale

Au niveau de l'amygdale, l'analyse de l'activité métabolique au sein des deux groupes ShA et LgA montre des variations d'activité allant dans des sens opposés et principalement concentrées dans l'hémisphère gauche (Figure 28). En effet, chez les rats ShA, la fixation de ^{18}F FDG dans l'amygdale est réduite et transitoire puisqu'elle n'est observée qu'après 7 jours de sevrage (Figure 28A,B). Cependant, chez les rats LgA, l'activité métabolique de l'amygdale est augmentée dès 7 jours de sevrage (Figure 28E,F) et cette augmentation perdure à long terme (Figure 28G,H).

L'analyse statistique montre une réduction significative de l'absorption de ^{18}F FDG, après 7 jours de sevrage chez les rats ShA avec une valeur de Z-score égale à -4,10 pour l'hémisphère gauche (Tableau 5). Pour les rats LgA, l'analyse statistique montre une augmentation significative de la capture de ^{18}F FDG après 7 jours de sevrage avec un Z-score égal à 3,56 pour l'hémisphère gauche mais également après 28 jours de sevrage avec des valeurs de Z-scores égales à 3,77 et 3,56, respectivement pour l'hémisphère gauche et droit (Tableau 5).

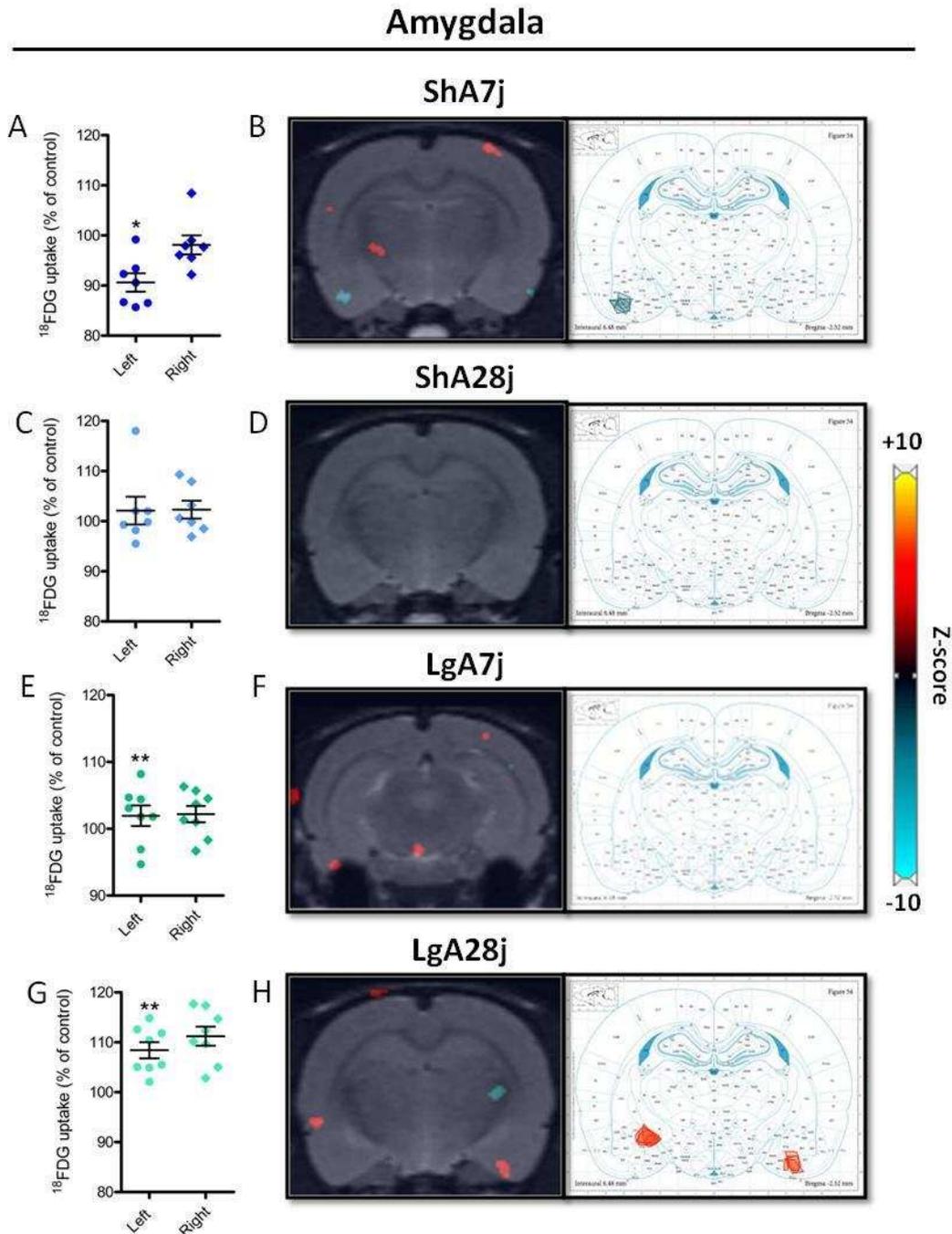


Figure 28 : Représentation des variations de l'activité métabolique mesurée par l'accumulation de ^{18}F FDG dans l'amygdale pour les groupes ShA7j (n=7), ShA28j (n=7), LgA7j (n=8), et LgA28j (n=8) par rapport aux rats contrôles naïfs (n=8). Les pourcentages de variations de la capture de ^{18}F FDG (A,C,E,G) pour chaque groupe expérimental en comparaison au groupe contrôle sont représentés pour chaque hémisphère (l'analyse statistique a été effectuée avec un t-test, * $p<0,05$, ** $p<0,01$). Les cartes des Z-scores sont réalisées (B,D,F,H, à gauche) et un résumé des variations selon l'axe antéro-postérieur (B,D,F,H, à droite) est illustré sur une coupe coronale de l'atlas Paxinos et Watson. L'analyse statistique a été effectuée avec un t-test à $p<0,01$.

II. Discussion : Modifications métaboliques induites lors du sevrage suite à la prise chronique de cocaïne

Afin d'étudier les modifications du métabolisme cérébral induites par la prise chronique de cocaïne, nous avons utilisé le même modèle d'auto-administration de cocaïne que pour l'étude précédente sur la vascularisation cérébrale, permettant aux rats d'avoir un accès prolongé (LgA) ou limité (ShA) à la drogue. L'analyse métabolique a été menée grâce à une technique d'imagerie, la TEP, en utilisant le ^{18}F FDG, un analogue non métabolisable du glucose, comme traceur. L'évaluation des variations du métabolisme cérébral a été effectuée lors de la période de sevrage. Une analyse a été réalisée à court terme, après 7 jours de sevrage permettant d'avoir une visualisation des modulations pendant le sevrage précoce puis une seconde analyse a été réalisée après 28 jours de sevrage pour évaluer les neuro-adaptations à long terme. Nous avons montré, de façon générale, une réduction de l'activité métabolique cérébrale chez les deux groupes ShA et LgA au niveau cortical (ACC et OFC), qui persiste généralement à long terme. Une diminution du métabolisme cérébral a également été observée dans le NAc. Concernant le striatum dorsal, nous avons mis en évidence une activité métabolique variable. En effet, nous observons une augmentation métabolique à court terme (7 jours de sevrage) suivi d'une réduction de l'activité sur le long terme (après 28 jours de sevrage). Au niveau de la VTA, seul le groupe LgA montre une élévation du métabolisme à court terme qui retrouve un niveau basal dès 28 jours de sevrage, alors qu'au niveau de la SN l'augmentation du métabolisme est mesurée chez les deux groupes expérimentaux, ShA et LgA, respectivement après 7 et 28 jours de sevrage. Enfin, les variations du métabolisme cérébral de l'amygdale sont différentes en fonction des deux groupes expérimentaux. En effet, suite à un accès limité à la cocaïne (ShA), l'amygdale s'hypoactive dès 7 jours de sevrage pour retrouver un niveau basal à long terme, alors qu'une prise prolongée de cocaïne (LgA) induit une augmentation du métabolisme de l'amygdale dès 7 jours de sevrage, qui se maintient à long terme. Nos résultats apportent des informations sur les multiples altérations du fonctionnement cérébral chez le rat après une prise chronique et volontaire de cocaïne qui pourraient servir de substrat biologique à la poursuite de la prise de drogue et donc précipiter la rechute.

Dans un premier temps, l'analyse des modifications du métabolisme cérébral nous a permis de mettre en évidence une réduction de l'accumulation de ^{18}F FDG, et donc une réduction du métabolisme, dans l'ACC et l'OFC témoignant d'une hypoactivation corticale dès 7 jours perdurant à long terme. Ces résultats sont en accord avec les différentes études menées également chez le rat. En effet, un hypométabolisme cortical a été mis en évidence après 48h de sevrage consécutif à 5 jours d'auto-administration de cocaïne (Calipari et al., 2013) mais également après 10 jours de sevrage suite à une période prolongée d'auto-administration de cocaïne (31 jours) (Gozzi et al., 2001). Cependant, dans l'ensemble de ces études, la modulation de l'activité métabolique n'a été évaluée uniquement pendant le sevrage précoce. Or dans notre étude, nous avons mis en évidence le fait que cette adaptation fonctionnelle du cerveau persiste à long terme. Nos données sont soutenues par des études cliniques qui mettent également en avant une réduction de l'activité cérébrale, focalisée dans les aires corticales frontales, lors du sevrage précoce, qui perdure à long terme (jusqu'à 4 à 6 mois) après l'arrêt de la consommation (Volkow et al., 1992; Volkow et al., 1993; Volkow et al., 1997a; Goldstein and Volkow, 2002). De plus, d'un point de vue comportemental, cet hypométabolisme cortical semble être en relation avec les déficits cognitifs et la perte de contrôle sur la prise de drogue qui pourraient jouer un rôle important dans la rechute (Goldstein et al., 2009; Lucantonio et al., 2012). En effet, chez les sujets dépendants, l'hypofonctionnalité corticale semble être cruciale dans la perte de contrôle de l'inhibition exercée sur la prise de drogue (Chen et al., 2013). Par conséquent, elle pourrait avoir un rôle dans la précipitation de la rechute. Nos résultats confirment donc l'hypothèse selon laquelle la mise en place à long terme d'une adaptation corticale, qui, par sa réduction d'activité métabolique, sous-tendrait à la perte de contrôle de l'inhibition sur la prise de drogue, jouerait un rôle fondamental dans la rechute à long terme.

Parallèlement, au niveau du striatum nous avons montré une modulation du métabolisme cérébral en fonction de la durée du sevrage. Cet effet est nettement plus marqué au niveau du striatum dorsal qu'au niveau du striatum ventral (i.e. le NAc). En effet, après 7 jours de sevrage, nous avons observé une augmentation du métabolisme cérébral au niveau du striatum dorsal, à la fois chez les rats ShA et LgA. Puis à long terme, suite à 28 jours de sevrage, le striatum dorsal devient hypoactif chez les deux groupes expérimentaux avec un effet plus accentué pour le groupe LgA. Nos données sont différentes de celles des

études préalablement menées, évaluant l'activité métabolique lors du sevrage, consécutif à une prise chronique de cocaïne. En effet, Calipari et ses collaborateurs ont montré une réduction de l'activité du striatum dorsal lors du sevrage à court terme (48 heures) suite à la prise chronique de cocaïne (Calipari et al., 2013). Cependant, il est important de souligner des différences de protocoles existantes entre notre étude et la leur. En effet, Calipari et ses collaborateurs évaluent l'activité cérébrale par autoradiographie, ce qui nécessite le sacrifice de l'animal et l'analyse sur coupe, limitant donc l'étude à une partie restreinte de la région. Au contraire, dans notre étude, l'activité métabolique a été mesurée par TEP-scan sur animal vivant permettant d'estimer l'activité cérébrale dans les 30 minutes qui précèdent le scan et surtout sur l'ensemble des régions. De plus, dans notre procédure, la période d'accès à la cocaïne est effectuée sur une longue durée (27 jours), alors que dans l'étude citée au préalable, les rats suivent seulement 5 jours d'auto-administration de cocaïne. L'ensemble de ces différences dans les procédures expérimentales pourrait donc induire de potentielles variations dans les résultats. Par ailleurs, si l'on se réfère aux données cliniques, nos résultats vont dans le même sens que les travaux réalisés chez l'Homme, montrant une augmentation du métabolisme du striatum dorsal lors du sevrage à court terme (London et al., 1990; Volkow et al., 1991; Goldstein and Volkow, 2002; Parvaz et al., 2011) et qui transite, à long terme, vers une hypoactivation mesurée par une diminution de l'activité dopaminergique (Volkow et al., 1997b). Concernant l'analyse métabolique au niveau du NAc, nous avons observé une réduction du métabolisme cérébral chez les deux groupes expérimentaux, ShA et LgA, dès 7 jours de sevrage. Cette diminution d'activité est rétablie à long terme pour le groupe ShA et se voit maintenue pour les rats LgA. Ces données mettent encore une fois en avant la mise en place d'adaptations fonctionnelles cérébrales durables dans le groupe LgA pouvant sous-tendre au fort taux de rechute dans ce groupe par rapport au groupe ShA. De plus, l'hypométabolisme du NAc observé dans notre étude est en accord avec les différents travaux réalisés chez le rat, montrant une diminution de l'activité du NAc lors du sevrage précoce (48 heures) suite à une administration chronique de cocaïne (Calipari et al., 2013) mais également après 10 jours de sevrage (Gozzi et al., 2001). Parallèlement, des travaux ont mis en évidence une réduction fonctionnelle du système dopaminergique dans le NAc, après 18h de sevrage, suite à l'arrêt de l'auto-administration de cocaïne. Cette diminution persiste après 2 semaines de sevrage (Ferris et al., 2011). De plus, Mateo et ses collaborateurs ont

révélé une réduction du niveau basal de DA dans le NAc suite à 7 jours de sevrage (Mateo et al., 2005). Le NAc étant la région centrale du circuit mésocorticolimbique par laquelle transitent les informations, nous pouvons considérer cette région comme étant un relais de l'information sensorielle, cognitive et affective lors de la prise de drogue. La réduction de son métabolisme peut donc être envisagée comme une adaptation fonctionnelle conjointe à la réduction de la transmission dopaminergique pouvant jouer un rôle dans l'augmentation de la sensibilité aux drogues. De plus, l'une des théories émise par Everitt et ses collaborateurs, suggère que l'addiction aux drogues est une pathologie dans laquelle le comportement est motivé par la valeur motivationnelle de la récompense, qui devient progressivement un comportement habituel (Everitt and Robbins, 2005). Ce passage d'un comportement motivé vers un comportement habituel serait dû, d'un point de vue neuronal, à l'implication progressive du striatum dorsal dépassant celle du striatum ventral (Everitt and Robbins, 2005). Au vue de nos données expérimentales, la réduction de l'activité métabolique à long terme du striatum dorsale semble plus importante que celle mesurée dans le NAc, avançant donc un argument en faveur de cette théorie.

Par ailleurs, nous avons évalué les modulations de l'activité métabolique des aires cérébrales contenant les corps cellulaires des neurones dopaminergiques que sont la SN et la VTA et nous avons mis en évidence une augmentation de cette activité au sein de ces deux structures. Plus précisément, au niveau de la SN, nous avons montré une élévation du métabolisme dès 7 jours de sevrage dans le groupe ShA qui retrouve un niveau basal à long terme, alors que pour le groupe LgA l'augmentation du métabolisme n'est observable qu'après 28 jours de sevrage. Aucune étude précédente ne relate de modification de l'activité métabolique de la SN lors du sevrage à la cocaïne. Néanmoins, certaines études mettent aujourd'hui en avant que l'implication du système nigro-strié qui ne jouerait pas exclusivement un rôle dans la motricité, mais qui, de par ces relations avec le système mésolimbique, partagerait des fonctions dans les effets récompensants et dans l'addiction (Wise, 2009). En effet, quelques études mettent aujourd'hui en avant le rôle de la SN dans les effets renforçants, puisque a) la stimulation du faisceau nigro-strié est récompensante pour les animaux et b) le blocage de la SN, par un antagoniste des récepteurs à la dopamine D1, atténue l'effet récompensant de la cocaïne, mis en évidence par une augmentation de l'auto-administration de cette drogue (Wise, 2009). Parallèlement, une étude récente a

également démontré que des souris transfectées avec un vecteur exprimant la channelrhodopsine2 dans la SN acquièrent rapidement un comportement opérant afin de recevoir une photostimulation dans cette région mettant en avant l'effet renforçant induit par l'excitation des neurones de la SN chez l'animal (Ilango et al., 2014). De plus, il a été démontré que l'administration aiguë de cocaïne accroît le métabolisme des régions nigro-striatales incluant la SN et le striatum (Stein and Fuller, 1992; Porrino, 1993). En ce qui concerne la VTA, seul le groupe LgA montre une augmentation du métabolisme à court terme qui retrouve un niveau basal sur le long terme. La littérature ne relate pas de modulation de l'activité métabolique dans cette région lors du sevrage à la cocaïne. Cependant, la VTA est connue pour jouer un rôle important dans le phénomène de rechute, puisque son inactivation atténue la rechute induite par la cocaïne (McFarland and Kalivas, 2001). De surcroît, la composante glutamatergique projetant sur la VTA semble cruciale dans la rechute, puisque l'administration d'antagoniste des récepteurs ionotropiques, bloque également le comportement de recherche de drogue (You et al., 2007). Nos résultats confortent donc l'hypothèse que la VTA et la SN, pourraient jouer un rôle dans l'addiction et notamment, dans le cas présent, subir des adaptations métaboliques à long terme pouvant être sous-jacentes au comportement de recherche de drogue.

Enfin, contrairement aux autres régions étudiées, nous avons mis en évidence une modulation de l'activité métabolique différente dans l'amygdale entre les deux groupes expérimentaux ShA et LgA. Pour le groupe ShA, l'activité métabolique de l'amygdale est réduite à court terme puis une récupération de l'activité basale est retrouvée après 28 jours de sevrage. Cependant, dans le groupe LgA, le métabolisme de l'amygdale est augmenté dès 7 jours de sevrage et perdure à long terme. Il semblerait donc que suite à une prise « récréationnelle » de cocaïne, une adaptation de l'activité de l'amygdale se mette en place à court terme, mais qu'un rétablissement de l'activité basale ait lieu à long terme. Au contraire, pour le groupe LgA, l'amygdale montre une hyperactivation métabolique dès 7 jours de sevrage, persistante sur le long terme. Ceci met en avant a) des différences de neuro-adaptations entre une consommation contrôlée et une prise addictive et b) des modifications cérébrales persistantes lors d'une consommation addictive de drogue. L'amygdale, notamment la BLA, joue un rôle majeur dans l'addiction de par son implication dans l'association entre la drogue et les signaux contingents (Ciccocioppo et al., 2001) et par

conséquent dans la recherche de drogue induite par les signaux de rappel (Meil and See, 1996; Stefanik and Kalivas, 2013). Par ailleurs, la CeA a un rôle important dans la réponse comportementale face au stress (Ventura-Silva et al., 2013), elle a ainsi son importance dans la recherche de drogue induite par le stress (Erb et al., 2001). La résolution spatiale de l'imagerie TEP ne nous permet pas de discriminer la BLA de la CeA, il est donc difficile de distinguer la localisation spécifique des modifications du métabolisme cérébral, dans l'une de ces deux subdivisions ou dans l'ensemble de la structure. Néanmoins, l'hyperactivité de cette région pourrait jouer un rôle important dans le risque persistant de rechute en augmentant la vulnérabilité aux signaux associés à la drogue et en augmentant la réactivité au stress.

Chez l'Homme, tout comme chez l'animal, la présentation de signaux relatifs à la prise de la drogue provoque une augmentation du « craving » chez le patient, en comparaison à des sujets naïfs (Grant et al., 1996; Childress et al., 1999; Garavan et al., 2000; Kilts et al., 2001). Les techniques de neuro-imagerie ont permis de mieux comprendre les modifications neuro-fonctionnelles sous-jacentes au phénomène de « craving ». Les travaux rapportent que la présentation de signaux de rappel aux patients induit une augmentation de l'activité de l'ACC (Childress et al., 1999; Garavan et al., 2000; Kilts et al., 2001; Wexler et al., 2001) du PFC dorsolatéral et de l'OFC (Grant et al., 1996; Maas et al., 1998), ainsi que des régions limbiques comme l'amygdale (Childress et al., 1999; Kilts et al., 2001). Dans notre étude, les animaux n'ont pas été exposés aux stimuli associés à la drogue, nous avons mesuré les niveaux d'activité cérébrale chez l'animal éveillé mais en condition basale. Bien qu'il soit difficile de comparer directement notre étude aux études chez l'Homme, le fait que les régions montrant une réactivité anormale chez l'Homme soient les mêmes que celles altérées dans nos expériences, suggère que notre modèle récapitule les éléments clés du processus addictif.

En résumé, l'ensemble de nos données suggère la mise en place de modifications cérébrales spécifiques de la durée du sevrage et de la région considérée. Nous observons d'une part un hypométabolisme cortical à long terme évalué plus spécifiquement dans l'ACC et l'OFC. Cette réduction de l'activité corticale pourrait sous-tendre à la perte de contrôle sur la prise de drogue et donc au développement d'une prise compulsive. D'autre part, nos

résultats montrent que, lors du sevrage à la cocaïne, d'importantes modifications de l'activité métabolique sont observées dans les régions recevant de fortes projections dopaminergiques que sont le striatum dorsal et le NAc. Le sevrage à la cocaïne étant connu pour induire une diminution fonctionnelle du système dopaminergique (Mateo et al., 2005; Ferris et al., 2011), nous suggérons que la réduction métabolique pourrait être une adaptation à long terme, conjointe à la dérégulation de la fonction dopaminergique. Parallèlement, nous avons également mis en évidence des variations métaboliques au niveau des régions contenant les neurones dopaminergiques (la SN et la VTA), apportant un argument supplémentaire en faveur d'une adaptation métabolique relative à une modulation du système dopaminergique. Enfin, contrairement aux régions préalablement décrites, nous avons mis en évidence une augmentation du métabolisme de l'amygdale dès le sevrage à court terme, qui persiste sur le long terme. L'amygdale étant largement impliquée dans l'association contingente entre un stimulus et une drogue (BLA) ainsi que dans la réponse au stress (CeA), cette région est cruciale dans le comportement de recherche de drogue induit par les signaux (Meil and See, 1996; Stefanik and Kalivas, 2013) ou le stress (Erb et al., 2001) ainsi que dans l'incubation du « craving ». Nos résultats mettent donc en avant un recrutement important de cette région pendant le sevrage qui est en accord avec son rôle crucial dans la vulnérabilité à la rechute.

III. Perspectives

Les atouts principaux des techniques de neuro-imagerie sont de permettre une analyse *in vivo* mais également de pouvoir effectuer une analyse sur le cerveau entier. Dans ce projet, nous avons concentré notre attention sur des régions bien connues pour jouer un rôle dans l'addiction et la rechute. Néanmoins, l'observation des images de TEP produites par nos collaborateurs à Tours suggère que l'activité d'autres régions telles que l'hippocampe ventrale, l'insula et le cervelet, pourrait aussi être modifiées par la prise de cocaïne. Ainsi, afin de compléter notre étude et de mieux caractériser les modifications induites lors du sevrage à la cocaïne, nous allons analyser les modifications de l'activité métabolique dans ces régions cérébrales qui pourraient amener à de nouvelles pistes pour comprendre les mécanismes responsables de la rechute à long terme.

PROJET 3 : Etude de l'influence de l'exposition chronique à une récompense alternative pendant le sevrage sur le comportement de recherche de cocaïne chez le rat

RESUME

L'influence d'une stimulation environnementale est connue pour avoir un rôle important dans les comportements addictifs. Plus spécifiquement, il est démontré que l'accès concomitant à une drogue d'abus et une récompense alternative permet de réduire les comportements addictifs chez les animaux. De plus, lorsque les animaux ont la possibilité de choisir entre la cocaïne et une récompense alternative naturelle, comme une solution sucrée, ils préfèrent largement la solution sucrée et s'abstiennent ainsi de prendre la cocaïne. Cependant, aucune étude ne révèle à ce jour si l'accès à une récompense alternative, pendant le sevrage, dans un contexte qui est temporellement et physiquement différent de celui associé à la prise de drogue, pourrait avoir un effet positif sur l'addiction et plus spécifiquement le comportement de recherche de drogue. Dans cette étude, nous nous sommes intéressés aux effets de l'accès continu à une récompense alternative naturelle hautement renforçante, telle que le sucrose, pendant la période de sevrage sur le comportement de recherche de cocaïne.

Pour cela, des rats ont suivi une procédure d'auto-administration de cocaïne (6h/j) pendant 10 jours, pendant que d'autres rats « yoked » saline recevaient uniquement des injections de saline. Par la suite, 30 jours de sevrage forcé sont imposés aux animaux. Durant cette période, les rats ont accès à de l'eau et du sucrose (10% p/v) a) continuellement (SC), b) de façon intermittente (SI) ou c) uniquement à de l'eau (WAT). A la fin de la période de sevrage, les rats suivent un test de recherche de cocaïne pendant une session de 6 heures fractionnée en périodes de 1 heure. Nos résultats montrent que, pendant la période de sevrage, les rats des groupes SC et SI consomment du sucrose de façon excessive mais que l'exposition préalable à la cocaïne ne modifie pas la consommation de sucrose. Après 30

jours de sevrage, les rats ayant un historique avec la cocaïne montrent un haut niveau de recherche de drogue mais aucune différence n'est observée entre les trois groupes expérimentaux SC, SI et WAT.

Nos données suggèrent donc que l'exposition, pendant le sevrage, à une récompense alternative, temporellement et physiquement distincte de l'environnement associé à la drogue, ne réduit pas le comportement de recherche de drogue.

Article 1 : Chronic exposure to an alternative natural reward during periods of withdrawal does not reduce cocaine-seeking behavior in rats

Céline Nicolas, Claire Lafay-Chebassier & Marcello Solinas

(Soumis et en cours de modification pour re-soumission)

**Chronic exposure to an alternative natural reward during periods of withdrawal
does not reduce cocaine-seeking behavior in rats**

Céline Nicolas^{1,2}, Claire Lafay-Chebassier^{1,2,3} & Marcello Solinas^{1,2}

¹ INSERM, U1084, F-86022 Poitiers, France

² Université de Poitiers, U1084, F-86022 Poitiers, France

³ Department of Clinical Pharmacology, Poitiers University Hospital, F-86021
Poitiers-France

Corresponding Author:

Marcello Solinas

Neurobiology and Neuropharmacology of Addiction Team

Laboratory of Experimental and Clinical Neurosciences

INSERM U-1084

University of Poitiers

Bât. B36 - Pôle Biologie Santé

1, rue Georges Bonnet - BP 633

86022 Poitiers Cedex FRANCE

Tel: 00-33-5-49-366343

FAX: 00-33-5-49-454014

E-mail : marcello.solinas@univ-poitiers.fr

ABSTRACT

Concomitant access to drugs of abuse and alternative rewards decreases addiction-related behaviors in animals. Furthermore when animals have to choose between cocaine and a powerful natural reward such as sucrose, they consistently choose sucrose and mostly abstain from taking cocaine. However, it is not known whether access to an alternative reward during abstinence in contexts that are temporally and physically distinct from drug-related contexts can have positive effects on addiction. Here we investigated whether, in rats, chronic access to a powerful natural reward such as sucrose in their housing cages, during periods of withdrawal from cocaine could reduce subsequent drug seeking.

For this, we let rats self-administer cocaine for ten sessions, while yoked-saline rats received only saline injections, and then we subjected them to a 30-day withdrawal period during which they had access a) to water and sucrose (10% w/v) continuously (SC); or b) intermittently (SI) or c) water only (WAT). At the end of the withdrawal period, rats were tested for cocaine seeking behavior during a single 6h session.

We found that, during abstinence, SC and SI rats avidly consumed sucrose and that exposure to cocaine did not alter sucrose consumption. After the 30-day withdrawal period, cocaine exposed rats showed high levels of drug-seeking behavior but no differences were found among SC, SI and WAT rats.

These results suggest that exposure to an alternative reward that is temporally and physically distinct from drug-related environments during abstinence does not to reduce drug seeking.

Keywords: Addiction, relapse, abstinence, treatment, sugar, contingency therapy

INTRODUCTION

Cocaine addiction is a chronic brain disorder characterized by compulsive drug seeking and taking, loss of control intake, difficulties in remaining abstinent and a high level of relapse (Koob and Le Moal, 2001b). Several factors, such as environmental conditions, play a critical role in determining vulnerability and severity of addiction, as well as the risk of relapse (Kreek et al., 2002). Indeed, negative environmental conditions, such as stress, increase the vulnerability to addiction whereas positive life experiences decrease it (Stairs and Bardo, 2009; Solinas et al., 2010b). More precisely, positive environmental conditions provided in laboratory settings as enriched environment (EE), have been shown to have both preventive and curative effects on drug addiction (Stairs and Bardo, 2009; Solinas et al., 2010b). Indeed, animals exposed to EE during withdrawal period show a decrease in drug seeking behavior (Solinas et al., 2008; Chauvet et al., 2009; Thiel et al., 2009; Chauvet et al., 2012; Thiel et al., 2012a).

EE is a combination of physical, cognitive and social stimulation (Nithianantharajah and Hannan, 2006), which are believed to synergize to produce beneficial effects in models of several pathologies (Laviola et al., 2008). In a recent review article, we have discussed several psychobiological mechanisms that can help explaining the psychobiological mechanisms underlying the positive effects of EE on relapse (Solinas et al., 2010b). One of these hypotheses is that EE acts as an alternative reward. As a matter of fact, social interactions (Panksepp et al., 1997b; Vanderschuren et al., 1997b; Thiel et al., 2008a), novelty (Bevins and Bardo, 1999a; Pelloux et al., 2006b) and voluntary physical activity (Lett et al., 2000) that are part of EE, are all reinforcing. In humans, alternative reinforcers mostly provided in the form

of monetary vouchers, significantly decrease relapse to several drugs of abuse (Lussier et al., 2006). In animal models, it has also been clearly demonstrated that when animals have access to alternative non-drug reinforcers during self-administration sessions, drug-taking and preference are significantly reduced (Carroll and Lac, 1993b; Cosgrove et al., 2002a; Zernig et al., 2013). Furthermore when animals are forced to choose between a sweet solution and drugs of abuse in a operant cage, they mostly prefer sweet solutions and ignore the drugs (Lenoir et al., 2007) and, even after long exposure to a highly addictive drug such as heroin, preference for drug does not surpass preference for saccharin solutions (Lenoir et al., 2013b). On the other hand, there are major differences between these studies and those ones showing anti-craving effects of EE. In fact, EE is provided as housing condition during most of the day, for several days, outside self-administration cages (Solinas et al., 2008; Chauvet et al., 2009; Thiel et al., 2009; Chauvet et al., 2012; Thiel et al., 2012a) whereas, in most studies, alternative reinforcement is given inside the self-administration cage for a limited time of the day (Carroll et al., 1989; Lenoir et al., 2007). Therefore, we designed this experiment to test the hypothesis that providing an alternative reinforcer such a sweet taste in fashion similar to EE, during periods of withdrawal, would decrease cocaine seeking in an animal model of relapse (Epstein et al., 2006).

Sucrose and sweet tastes appear to be powerful natural rewards in rodents. In addition to the aforementioned studies in which sweet solutions are often preferred to drugs (Lenoir et al., 2007; Cantin et al., 2010; Lenoir et al., 2013b), it is well known that rodents consume avidly sweet solutions (Avena et al., 2008a), show high levels of preference of sweet solutions over water (Vendruscolo et al., 2010a; Vendruscolo et al., 2010b) and work hard to obtain sweet solutions in operant tasks (Grimm et al.,

2002a; Goeders et al., 2009). In addition, sweet solutions activate the reward system (Kelley and Cador, 1988; Carelli, 2004) and increase dopamine levels in nucleus accumbens (Di Chiara and Bassareo, 2007) and reduce the neuroendocrine, cardiovascular, and behavioral responses to stress in rats (Ulrich-Lai et al., 2010). Moreover, it has been shown that chronic exposure to sweet solution can produce neuroadaptations in the reward system that may change the reactivity to drugs (Liu and Grigson, 2005; Bocarsly et al., 2012a). For example, it has been shown that exposure to sucrose during adolescence decreases the intake of sweet of solutions (Vendruscolo et al., 2010a) and ethanol intake and preference in adulthood (Vendruscolo et al., 2010b) but it does not alter cocaine's self-administration (Vendruscolo et al., 2010a). Importantly, the neurobiological consequences of exposure to sweet solutions appear to depend on the schedule of administration and indeed, intermittent access to sweet solutions appear to sensitize the reward circuit. For example, Hoebel and collaborators have shown that intermittent exposure to sucrose can produce effects similar to those of drugs of abuse such as modifications in brain reward circuits and addiction-like behaviors (Colantuoni et al., 2002; Avena et al., 2008a). Therefore, in this study we tested the ability to alter cocaine seeking of two different schedules of sucrose access, one (chronic) more associated with tolerance and the other (intermittent) with sensitization of the reward pathway.

Finally, the ability of sucrose to act as a natural reward has been frequently used as a measure of hedonia/anhedonia and therefore has been used as a measure of depression (Cryan et al., 2002b; Willner, 2005). Drug addiction has been suggested to result in the dysregulation of reward function and in depression-like states and measures of reduced activity of the reward system such as intracranial self-stimulation have indeed shown that after short, but not long, periods of withdrawal

the reward system is hypo-functional (Ahmed et al., 2002a). Therefore, monitoring consumption of sweet solutions during different phases of abstinence could reveal whether withdrawal from cocaine is associated with anhedonia and the evolution of such a phenomenon over the course of the withdrawal period.

In this study, first, rats were allowed to self-administer cocaine and were then exposed to water or sucrose for 30 days of forced abstinence. One group had access to two bottles of water (WAT), one group had a continuous access to one bottle of water and one bottle of sucrose (SC), and the third group had an intermittent access to water or sucrose (SI). After 30 days of withdrawal, rats were tested for cocaine seeking during a 6h session in an animal model of relapse (Epstein et al., 2006).

MATERIALS AND METHODS

Subjects and housing conditions

Adult (8 weeks of age) male Sprague Dawley rats (Janvier, France), experimentally naïve at the beginning of the study, were housed in a temperature and humidity controlled environment, and maintained on a 12-h light/dark cycle (light on at 7AM). All experiments were conducted during the light phase in accordance to European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC) for the care of laboratory animals. Upon arrival rats were housed two per cage for about 1 week before intrajugular vein catheterization surgery. After surgery, rats were housed individually for the rest of the study in order to quantify individual drinking behavior.

General experimental design

Our general experimental design is schematized in Fig.1. Half of the rats were allowed to self-administer cocaine whereas the other half received saline infusions

according to a yoked procedure. At the end of self-administration rats were further divided pseudo-randomly into three groups assuring similar levels of exposure to cocaine: 1) one group had access to water exclusively (Water, WAT), 2) one group had a constant access to sucrose (10% w/v) and water (Sucrose Continuous, SC) had and 3) the third group access to sucrose (10% w/v) and water intermittently (Sucrose Intermittent, SI). A total of 6 groups was obtained: 1) Coc WAT (n = 9) ; 2) Coc SC (n = 9); 3) Coc SI (n = 11); 4) Sal WAT (n = 9); 5) Sal SC (n = 8); 6) Sal SI (n = 11). After a 30-day period of withdrawal in these conditions, rats were tested for cocaine-seeking behavior.

Self-administration apparatus and procedure

For cocaine self-administration experiments, we used experimental chambers equipped with nose-pokes as operanda and controlled by Imetronic interfaces and software (Imetronic, Pessac, France; www.imetronic.com). Rats (n=29) were allowed to self-administer cocaine for ten experimental sessions that lasted 6h each, using a Fixed Ratio 1 (FR1) schedule of reinforcement as previously described (Chauvet et al., 2009), a regimen of exposure that has been associated with escalation of drug taking and development of addiction-like behaviors (Ahmed and Koob, 1998). During daily sessions, a single response in the active nose-poke hole immediately delivered an i.v injection of cocaine (0.15 mg/injection) and causes the house light to pulse for 5s followed by a 5-s time-out. During this 5-s time-out period, the chambers were dark and responding had no programmed consequences. Responses in the inactive nose-poke hole were recorded but had no programmed consequences. Control “yoked” rats (n=28) received an injection of saline, each time the paired “master” rat

self-administered an injection of cocaine. Responses in the active and inactive nose-poke hole by “yoked” rats were recorded but had no programmed consequences.

Withdrawal and exposure to sucrose

At the end of the last self-administration session, rats were pseudo-randomly divided into three groups, according to the levels of self-administered cocaine. During a 30-day withdrawal period, in their home cage, rats had access to water only (WAT) or water and sucrose under two schedules (SC and SI) of access. For the WAT groups, rats had access to two bottles of water (WAT), which were weighed every other day. For the SC groups, rats had a constant access to one bottle of water and one bottle containing sucrose (10%w/v) (and the bottles were weighed every other day and the side (right or left) was switched to avoid development of side preference). For SI groups, rats had access to one bottle of water and one bottle containing sucrose (10%w/v) over a 24h period on Monday, Wednesday and Friday and on the intervening days both bottles were filled with water. Water and sucrose bottles were weighed at the end of the 24h period. Water and sucrose consumption was measured in grams by the difference between consecutive weights. In order to facilitate comparison among groups, for all groups consumption was expressed as daily consumption. Therefore, for WAT and SC, we assumed that daily consumption over a 48h period was similar and divided actual liquid consumption by two.

The 10% (w/v) sucrose concentration was chosen because it represented a good compromise for the different aspects addressed in this study. In fact, rats vigorously self-administer solutions at these concentration (Grimm et al., 2002a), they show a strong preference for these concentrations in a choice procedures (Cantin et al.,

2010) and they develop binge-like behavior when exposed intermittently to these concentrations (Avena et al., 2008a).

Test for cocaine seeking behavior

After 30-day of withdrawal, rats were brought to the self-administration room and tested for cocaine seeking. For all rats that had access to sucrose, sucrose was accessible until the beginning of the test in order to avoid possible withdrawal effects. This choice is consistent with our previous experiments with environmental enrichment in which rats were kept in their environment until the beginning of the test (Chauvet et al., 2009; Chauvet et al., 2012). During these test sessions, responses in the active nose-poke hole produced the same stimuli (light and noise of the pump) produced during cocaine self-administration sessions, but the syringes were removed from the injection pumps and therefore cocaine was not delivered. Responses in the inactive holes were counted but had no consequence. The 6h extinction session was divided into six 1-h extinction segments, separated by 10 min intervals. The number of active nose-pokes was used as a measure of cocaine seeking.

Drugs

Cocaine HCl was obtained from Cooper (France) and dissolved in sterile saline solutions (0.9%).

Statistical Analysis

Differences in sucrose taking and drug-seeking behavior were assessed by two-way or three-way ANOVA for repeated measures. For sucrose consumption we used time (days 1 to 30) and drug (cocaine or saline) as factors. For water consumption in SI rats, we used sucrose availability (ON or OFF) as a factor. For cocaine seeking, we

used drug (cocaine or saline), and schedule of access (WAT, SC or SI) as factors. Results showing significant overall changes were subjected to Student–Newman–Keuls post hoc test. Differences were considered significant when $p < 0.05$.

RESULTS

Cocaine self-administration training

Cocaine intake was about 30 mg/kg/day in the first session and rapidly increased stabilizing around the sixth session at about 60 mg/kg (Fig. 2). Statistical analysis revealed a significant effects of session [(F9, 261) = 20.0, $p < 0.0001$]. Importantly, given our experimental design, cocaine intake (Fig. 2B) or active and inactive responses (data not shown) over 10 sessions of self-administration did not differ among rats that were later assigned to WAT, SC or SI conditions the three groups.

Liquid consumption behavior

In rats that had access to water only (WAT) during a 30-day period of withdrawal from cocaine self-administration, water intake was very stable at about 40 g/day during the entire withdrawal period and did not differ between cocaine and saline rats (Fig. 3).

Rats that had continuous access to sucrose (SC) during a 30-day period of withdrawal, consumed avidly sucrose and completely ignored water (Fig. 4). In fact, they drank about 100 g/day of sucrose and only 1-2 g/day of water (Fig. 4A), thus showing about 98% of preference for sucrose (Fig. 4B). During the first few days, sucrose consumption appeared slightly lower in cocaine-exposed rats (about 75 g/day) compared to saline-exposed rats (about 90 g/day) but this difference did not

reach statistical significance. Subsequently, sucrose consumption increased similarly in the two groups and reached an average of 110 g/day in both groups.

Concerning water consumption or sucrose preference, statistical analysis revealed no significant effect of drug, time or drug X time interaction. Concerning sucrose consumption, statistical analysis revealed no significant effect of drug but a significant effect of time [(F15, 225) = 6.5, $p < 0.0001$] and significant drug X time interaction ((F15, 225) = 2.2, $p < 0.01$).

Rats that intermittent access to sucrose (SI) during a 30-day period of withdrawal, consumed avidly and almost exclusively sucrose whenever sucrose solutions were available (Fig. 5). Again, during the first days, sucrose consumption appeared slightly lower in cocaine-exposed rats (about 85 g/day) compared to saline-exposed rats (100 g/day) but this difference did not reach statistical significance (Fig 5A). Subsequently, sucrose consumption increased similarly in the two groups and reached an average of 130 g/day in both groups.

Concerning water consumption, statistical analysis revealed no significant effect of drug but a significant effect of sucrose availability [(F1, 20) = 565.7, $p < 0.0001$] and time [(F12, 240) = 1.8, $p < 0.05$] and no significant interaction. Concerning sucrose consumption, statistical analysis revealed no significant effect of drug or drug X time interaction but a significant effect of time [(F12, 240) = 11.9, $p < 0.0001$]. Concerning sucrose preference, statistical analysis revealed no significant effect of drug, time or drug X time interaction (Fig 5B).

Fig.6 summarizes average consumption of sucrose and preference, average consumption of water and average total fluid consumption over the entire withdrawal

period. Average sucrose consumption (Fig. 6A) was higher in SI compared to SC (about 125 g/day vs about 100 g/day) but previous history of cocaine self-administration did not alter sucrose intake. Statistical analysis revealed a significant effect of schedule $[(F_{1, 35}) = 5.2, p < 0.05]$ but no significant effect of drug or drug X schedule interaction.

Preference for sucrose was almost complete (about 98%) in all groups (Fig.6B). Statistical analysis revealed no significant effect of drug, schedule or drug X schedule interaction.

On alternate days SI rats had access only to water and therefore we compared their water intake during these days to water intake in WAT rats that have never access to sucrose. Fig.6C shows that SI rats drank less water than WAT (about 32g/day vs about 38g/day) but previous access to cocaine self-administration did not influence water intake. This decrease in water intake could be interpreted either as a compensation for very high levels of drinking during days of sucrose availability (Fig. 6D) or as a negative contrast effect of sucrose on water. Statistical analysis revealed a significant effect of schedule $[(F_{1, 35}) = 5.2, p < 0.05]$ but no significant effect of drug or drug X schedule interaction.

Similarly, total liquid consumption varied according to the schedule of sucrose availability (Fig.6D). Accordingly, rats that had no access to sucrose drank less than rats which had access to sucrose in both saline and cocaine groups. Moreover, total liquid consumption showed a significant difference between the three groups, water, sucrose continuous and sucrose intermittent (respectively about 38 g/day, 103 g/day and 127g/day). Statistic analysis revealed a significant effect of schedule $[(F_{1, 51}) = 42.91, p < 0.0001]$.

Cocaine-seeking behavior

Cocaine seeking was investigated after 30-day period of withdrawal during a single 6h session divided in six 1h intervals (Fig. 7). Number of active nose-pokes was higher in rats with previous history of cocaine compared to saline-yoked rats. Constant or intermittent access to sucrose over the withdrawal period did not modify levels of response in cocaine groups compared to rats with an access to water only (respectively about 351, 394 and 385 responses/session). Statistic analysis revealed a significant effect of drug [$(F_{1, 51}) = 28.98, p < 0.0001$] but no significant effect of schedule or drug X schedule interaction.

DISCUSSION

In this study, we investigated whether a chronic exposure to a strong natural reinforcer such as sucrose would reduce cocaine seeking in rats. We found that although rats avidly consumed sucrose, exposure to sweet did not alter drug-seeking behavior. This suggests that exposure to an alternative reward non-contingent upon self-administration settings does not decrease cocaine craving. Moreover this suggests that the anti-craving effects of EE cannot be solely attributed to alternative rewards.

We chose sucrose as an alternative reinforcer because of its powerful reinforcing effects in rodents (Ahmed et al., 2013b). In addition, similarly to exposure to EE (Solinas et al., 2010b), exposure to sucrose has been to show to have powerful anti-stress effects (Ulrich-Lai et al., 2010). As expected, rats consumed avidly sucrose solutions, they drank more than twice the volume they drink when only water is available and they constantly showed almost 100% preference for sweet solutions. Also consistent with previous work (Avena et al., 2008a) rats exposed to sucrose intermittently drank significantly more than animals exposed to sucrose continuously suggesting that limited intermittent access increases the motivation for sucrose and leads to excessive drinking. On the other hand, it remains to be investigated whether other types of natural rewards such as sex (Ulrich-Lai et al., 2010), social reward (Zernig et al., 2013) or the combination of different forms of reward may be more effective in reducing cocaine seeking.

A popular hypothesis of the mechanisms underlying addiction is that after repeated drug administration the reward pathway becomes hypo-reactive to natural rewards (Koob and Le Moal, 2001b; Volkow et al., 2013b). Whereas the theoretical basis for

this hypothesis is very solid and clinical evidences appear to support it (McKay et al., 2013), a few preclinical studies have been able to detect decreased reactivity to rewards after psychostimulant administration and in most cases these effects were limited to early stages of withdrawal. A seminal paper by Ahmed et al. demonstrated that escalation of cocaine self-administration increases the threshold for intracranial self-stimulation i.e. decreases reward sensitivity (Ahmed et al., 2002a). Two recent studies found decreases in sucrose preference or reduced learning of behavioral task motivated by sucrose after sensitization to cocaine (Scheggi et al., 2011; Wei et al., 2011a). Finally, a more recent study, using a choice procedure, showed that after prolonged heroin (Lenoir et al., 2013b) but not cocaine exposure (Lenoir et al., 2007), rats decrease their choice for sweet solutions. An interesting feature of our experimental design is that while sucrose exposure was used as an independent variable, sucrose intake could be also used as a dependent variable to determine whether cocaine self-administration alters the reactivity to natural rewards. In our experiments, although there was trend for sucrose intake to be decreased during the first few days of drug abstinence, we found that a history of cocaine self-administration did not significantly alter the amount of sucrose consumed or the preference for sucrose solutions regardless on whether sucrose was given constantly or intermittently. It is possible that under our experimental conditions that the reward magnitude of 10% sucrose was too powerful and the preference was too strong (over 95% of preference over water) to allow us to detect differences. It is also possible that by measuring total drinking over 24-48h periods did not provide sufficient temporal resolution to highlight differences between cocaine- and saline-exposed rats, especially because the anhedonic effects of cocaine can be short-lived later on (Wei et al., 2011a; Lenoir et al., 2013b). Although it is possible that more subtle

measures of sucrose reward may have helped magnifying and detecting an anhedonic state after cocaine withdrawal, our results indicate that a history of cocaine self-administration induces little change in sucrose consumption in rats.

The main aim of this study was to draw a parallel between exposure to sucrose and exposure to EE. In fact, several recent studies have shown that exposure to EE during periods of withdrawal decreases drug seeking behavior (Solinas et al., 2008; Chauvet et al., 2009; Thiel et al., 2009; Chauvet et al., 2011b; Chauvet et al., 2012; Thiel et al., 2012a) and it could be argued that EE produced its anti-craving effects acting as an alternative reinforcer (Solinas et al., 2010b). Whereas a vast literature supports the positive effects of alternative reinforcers on addiction (Carroll et al., 2009; Ahmed et al., 2013a), the experimental designs that have been mostly used are fundamentally different from exposure to EE. In fact, in preclinical setting, alternative reinforcers are usually given within self-administration settings either as an option or as a choice (Carroll et al., 2009; Ahmed et al., 2013a). These procedures and especially choice procedures may be seen as analogs of contingency-management therapy in humans, in which for example, money vouchers are given to promote abstinence in addicts provided that they forgo drug use (Higgins and Petry, 1999; Stitzer and Vandrey, 2008). On the other hand, EE normally are rats' living environments and are necessarily provided non-contingently upon self-administration settings (Solinas et al., 2008; Chauvet et al., 2009; Thiel et al., 2009; Chauvet et al., 2011b; Chauvet et al., 2012; Thiel et al., 2012a). Therefore, in this experiment, to mimic exposure to EE, rats had access to sucrose only in their housing cages during periods of abstinence and sucrose was not available in the self-administration cage. In the chronic sucrose group that was specifically designed to mimic EE, sucrose was present at all times from the beginning of withdrawal until

the seeking behavior test. However, contrary to our working hypothesis, we found that although rats found sweet solutions highly rewarding, exposure to sucrose did not alter cocaine-seeking behavior. Even when sucrose was given intermittently, a schedule that leads to neuroadaptations of the reward system and addiction-like behaviors (Colantuoni et al., 2002; Avena et al., 2008a), cocaine-seeking behavior was not altered by exposure to sucrose. This suggests that exposure to an alternative reinforcer per se during periods of withdrawal is not sufficient to decrease drug seeking behavior.

In conclusion, in this study we found that exposure to sucrose during a 30-day period of withdrawal does not reduce cocaine seeking behavior, suggesting that exposure to natural reward alone is not sufficient to prevent craving for the drug. Therefore, whereas alternative reinforcement produces striking decreases in drug-taking and drug-seeking behaviors when it competes for drug reinforcement, alternative reinforcers are not effective in reducing relapse when presented non-contingently following self-administration sessions. If these results are translated to humans they appear to suggest that whereas contingency management therapy is effective, the simple presence of an alternative reward in the life of abstinent individuals may not be sufficient to drive the brain adaptations that promote abstinence. In addition, these results suggest that aspects of EE other than alternative reward such as physical exercise, social contact, novelty, etc may be more important than alternative reinforcement in producing EE's effects or the combination of alternative reward with several enriching factors may have synergistic effects that are greater than each of these factors taken alone.

ACKNOWLEDGEMENTS

This work was supported by the Institute National de la Santé et de la Recherche Medical, le Centre National pour la Recherche Scientifique, University of Poitiers, Mission Interministerielle de la Lutte contre les Drogues et la Toxicomanie (MILDT-INSERM-INCA 2007–2009) and the Contrat de Projet Etat Region (CPER) no. 5. Research. CN is recipient of PhD fellowship by the Poitou-Charentes region.

We thank Michael Bardo and Nathalie Thiriet for comments on the manuscript.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

CN and MS conceived and designed the experiments. CN performed all experiments. CN, CLC and MS interpreted data and wrote the manuscript.

REFERENCES

1. Koob GF, Le Moal M (2001) Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. *Neuropsychopharmacology* : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology 24: 97-129.
2. Kreek MJ, LaForge KS, Butelman E (2002) Pharmacotherapy of addictions. *Nat Rev Drug Discov* 1: 710-726.
3. Solinas M, Thiriet N, Chauvet C, Jaber M (2010) Prevention and treatment of drug addiction by environmental enrichment. *Progress in neurobiology* 92: 572-592.
4. Stairs DJ, Bardo MT (2009) Neurobehavioral effects of environmental enrichment and drug abuse vulnerability. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* 92: 377-382.
5. Chauvet C, Goldberg SR, Jaber M, Solinas M (2012) Effects of environmental enrichment on the incubation of cocaine craving. *Neuropharmacology* 63: 635-641.
6. Chauvet C, Lardeux V, Goldberg SR, Jaber M, Solinas M (2009) Environmental enrichment reduces cocaine seeking and reinstatement induced by cues and stress but not by cocaine. *Neuropsychopharmacology* 34: 2767-2778.
7. Solinas M, Chauvet C, Thiriet N, El Rawas R, Jaber M (2008) Reversal of cocaine addiction by environmental enrichment. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105: 17145-17150.
8. Thiel KJ, Painter MR, Pentkowski NS, Mitroi D, Crawford CA, et al. (2012) Environmental enrichment counters cocaine abstinence-induced stress and brain reactivity to cocaine cues but fails to prevent the incubation effect. *Addiction biology* 17: 365-377.
9. Thiel KJ, Sanabria F, Pentkowski NS, Neisewander JL (2009) Anti-craving effects of environmental enrichment. *Int J Neuropsychopharmacol* 12: 1151-1156.
10. Nithianantharajah J, Hannan AJ (2006) Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system. *Nat Rev Neurosci* 7: 697-709.
11. Laviola G, Hannan AJ, Macri S, Solinas M, Jaber M (2008) Effects of enriched environment on animal models of neurodegenerative diseases and psychiatric disorders. *Neurobiol Dis* 31: 159-168.
12. Panksepp J, Nelson E, Bekkedal M (1997) Brain systems for the mediation of social separation-distress and social-reward. Evolutionary antecedents and neuropeptide intermediaries. *Annals of the New York Academy of Sciences* 807: 78-100.

13. Vanderschuren LJ, Niesink RJ, Van Ree JM (1997) The neurobiology of social play behavior in rats. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 21: 309-326.
14. Thiel KJ, Okun AC, Neisewander JL (2008) Social reward-conditioned place preference: a model revealing an interaction between cocaine and social context rewards in rats. *Drug and alcohol dependence* 96: 202-212.
15. Bevins RA, Bardo MT (1999) Conditioned increase in place preference by access to novel objects: antagonism by MK-801. *Behavioural brain research* 99: 53-60.
16. Pelloux Y, Costentin J, Duterte-Boucher D (2006) Novelty preference predicts place preference conditioning to morphine and its oral consumption in rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* 84: 43-50.
17. Lett BT, Grant VL, Byrne MJ, Koh MT (2000) Pairings of a distinctive chamber with the aftereffect of wheel running produce conditioned place preference. *Appetite* 34: 87-94.
18. Ulrich-Lai YM, Christiansen AM, Ostrander MM, Jones AA, Jones KR, et al. (2010) Pleasurable behaviors reduce stress via brain reward pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107: 20529-20534.
19. Lussier JP, Heil SH, Mongeon JA, Badger GJ, Higgins ST (2006) A meta-analysis of voucher-based reinforcement therapy for substance use disorders. *Addiction* 101: 192-203.
20. Carroll ME, Lac ST (1993) Autoshaping i.v. cocaine self-administration in rats: effects of nondrug alternative reinforcers on acquisition. *Psychopharmacology* 110: 5-12.
21. Cosgrove KP, Hunter RG, Carroll ME (2002) Wheel-running attenuates intravenous cocaine self-administration in rats: sex differences. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* 73: 663-671.
22. Zernig G, Kummer KK, Prast JM (2013) Dyadic Social Interaction as an Alternative Reward to Cocaine. *Frontiers in psychiatry* 4: 100.
23. Lenoir M, Serre F, Cantin L, Ahmed SH (2007) Intense sweetness surpasses cocaine reward. *PLoS one* 2: e698.
24. Lenoir M, Cantin L, Vanhille N, Serre F, Ahmed SH (2013) Extended Heroin Access Increases Heroin Choices Over a Potent Nondrug Alternative. *Neuropsychopharmacology* : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology.

25. Carroll ME, Lac ST, Nygaard SL (1989) A concurrently available nondrug reinforcer prevents the acquisition or decreases the maintenance of cocaine-reinforced behavior. *Psychopharmacology (Berl)* 97: 23-29.
26. Epstein DH, Preston KL, Stewart J, Shaham Y (2006) Toward a model of drug relapse: an assessment of the validity of the reinstatement procedure. *Psychopharmacology* 189: 1-16.
27. Cantin L, Lenoir M, Augier E, Vanhille N, Dubreucq S, et al. (2010) Cocaine is low on the value ladder of rats: possible evidence for resilience to addiction. *PloS one* 5: e11592.
28. Avena NM, Rada P, Hoebel BG (2008) Evidence for sugar addiction: behavioral and neurochemical effects of intermittent, excessive sugar intake. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 32: 20-39.
29. Vendruscolo LF, Gueye AB, Vendruscolo JC, Clemens KJ, Mormede P, et al. (2010) Reduced alcohol drinking in adult rats exposed to sucrose during adolescence. *Neuropharmacology* 59: 388-394.
30. Vendruscolo LF, Gueye AB, Darnaudery M, Ahmed SH, Cador M (2010) Sugar overconsumption during adolescence selectively alters motivation and reward function in adult rats. *PloS one* 5: e9296.
31. Goeders JE, Murnane KS, Banks ML, Fantegrossi WE (2009) Escalation of food-maintained responding and sensitivity to the locomotor stimulant effects of cocaine in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 93: 67-74.
32. Grimm JW, Shaham Y, Hope BT (2002) Effect of cocaine and sucrose withdrawal period on extinction behavior, cue-induced reinstatement, and protein levels of the dopamine transporter and tyrosine hydroxylase in limbic and cortical areas in rats. *Behavioural pharmacology* 13: 379-388.
33. Carelli RM (2004) Nucleus accumbens cell firing and rapid dopamine signaling during goal-directed behaviors in rats. *Neuropharmacology* 47 Suppl 1: 180-189.
34. Kelley AE, Cador M (1988) Behavioral evidence for differential neuropeptide modulation of the mesolimbic dopamine system. *Annals of the New York Academy of Sciences* 537: 415-434.
35. Di Chiara G, Bassareo V (2007) Reward system and addiction: what dopamine does and doesn't do. *Current opinion in pharmacology* 7: 69-76.
36. Bocarsly ME, Barson JR, Hauca JM, Hoebel BG, Leibowitz SF, et al. (2012) Effects of perinatal exposure to palatable diets on body weight and sensitivity to drugs of abuse in rats. *Physiology & behavior* 107: 568-575.

37. Liu C, Grigson PS (2005) Brief access to sweets protect against relapse to cocaine-seeking. *Brain Res* 1049: 128-131.
38. Colantuoni C, Rada P, McCarthy J, Patten C, Avena NM, et al. (2002) Evidence that intermittent, excessive sugar intake causes endogenous opioid dependence. *Obes Res* 10: 478-488.
39. Willner P (2005) Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. *Neuropsychobiology* 52: 90-110.
40. Cryan JF, Markou A, Lucki I (2002) Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends in pharmacological sciences* 23: 238-245.
41. Ahmed SH, Kenny PJ, Koob GF, Markou A (2002) Neurobiological evidence for hedonic allostasis associated with escalating cocaine use. *Nature neuroscience* 5: 625-626.
42. Ahmed SH, Koob GF (1998) Transition from moderate to excessive drug intake: change in hedonic set point. *Science* 282: 298-300.
43. Ahmed SH, Guillem K, Vandaele Y (2013) Sugar addiction: pushing the drug-sugar analogy to the limit. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care* 16: 434-439.
44. Volkow ND, Wang GJ, Tomasi D, Baler RD (2013) Obesity and addiction: neurobiological overlaps. *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity* 14: 2-18.
45. McKay JR, Van Horn D, Rennert L, Drapkin M, Ivey M, et al. (2013) Factors in sustained recovery from cocaine dependence. *Journal of substance abuse treatment*.
46. Scheggi S, Marchese G, Grappi S, Secci ME, De Montis MG, et al. (2011) Cocaine sensitization models an anhedonia-like condition in rats. *The international journal of neuropsychopharmacology / official scientific journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum* 14: 333-346.
47. Wei YM, Li SX, Shi HS, Ding ZB, Luo YX, et al. (2011) Protracted cocaine withdrawal produces circadian rhythmic alterations of phosphorylated GSK-3beta in reward-related brain areas in rats. *Behavioural brain research* 218: 228-233.
48. Chauvet C, Lardeux V, Jaber M, Solinas M (2011) Brain regions associated with the reversal of cocaine conditioned place preference by environmental enrichment. *Neuroscience*.
49. Ahmed SH, Lenoir M, Guillem K (2013) Neurobiology of addiction versus drug use driven by lack of choice. *Current opinion in neurobiology*.

50. Carroll ME, Anker JJ, Perry JL (2009) Modeling risk factors for nicotine and other drug abuse in the preclinical laboratory. *Drug and alcohol dependence* 104 Suppl 1: S70-78.
51. Stitzer ML, Vandrey R (2008) Contingency management: utility in the treatment of drug abuse disorders. *Clinical pharmacology and therapeutics* 83: 644-647.
52. Higgins ST, Petry NM (1999) Contingency management. Incentives for sobriety. *Alcohol research & health : the journal of the National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism* 23: 122-127.

FIGURE LEGENDS

Figure 1. Schematic representation of the experimental design used. After 10 days of cocaine or saline self-administration, rats were subjected to 30-day withdrawal during which they had access to water only (WAT), to water and sucrose (10% w/v) continuously (SC) or to water and sucrose (10% w/v) intermittently (SI). After the end of withdrawal period, rats were tested for cocaine seeking during 6h session.

Figure 2. Cocaine intake during the each of ten self-administration sessions (A) and total cocaine intake (B) expressed in mg/kg in water (Coc WAT), sucrose continuous (Coc SC) and sucrose intermittent (Coc SI) cocaine groups. Control groups received saline injections according to a yoked procedure and therefore received equivalent injected volumes. The saline intake is not shown. It should be noticed that cocaine intake did not differ between the three groups.

Figure 3. Water consumption during withdrawal period for saline (Sal WAT) and cocaine (Coc WAT) water. Both groups consume an equal quantity of water during abstinence period.

Figure 4. Liquid consumption during the 30-days of withdrawal period in rats with an history of cocaine self-administration and saline-yoked controls with continuous access to sucrose (SC). (A) Liquid intake (g/day) and (B) sucrose preference expressed as percentage of total intake in saline SC (Sal SC) and cocaine SC (Coc SC) rats.

Figure 5. Liquid consumption during the 30-day of withdrawal period in rats with an history of cocaine self-administration and saline-yoked controls with intermittent access to sucrose (SI). (A) Liquid intake (g/day) and (B) sucrose preference expressed as percentage of total intake in saline SI (Sal SI) and cocaine SI (Coc SI) groups.

Figure 6. Average (A) sucrose intake, (B) sucrose preference, (C) water consumption and (D) total liquid consumption in rats with history of cocaine self-administration and saline-yoked controls and exposed to during a 30-day withdrawal period to Wat, SC or SI. Two-Way ANOVA followed by Student-Neuman-Keuls post-hoc test, for A), * < 0.05 SI compared SC; for C, * < 0.05 SI compared WAT; D, ** < 0.01 SI or SC compared to WAT.

Figure 7. Lack of effect of exposure to sucrose during withdrawal period on cocaine seeking behavior. Time course (A) and total (B) cocaine seeking measured by the number of active nose pokes during 6h-session in saline- and cocaine-exposed rats with access to water (WAT), sucrose continuous (SC) and sucrose intermittent (SI) during a 30-day withdrawal period. Two-Way ANOVA followed by Student-Neuman-Keuls post-hoc test, ** < 0.01 cocaine compared to respective saline yoked controls.

Figure 1

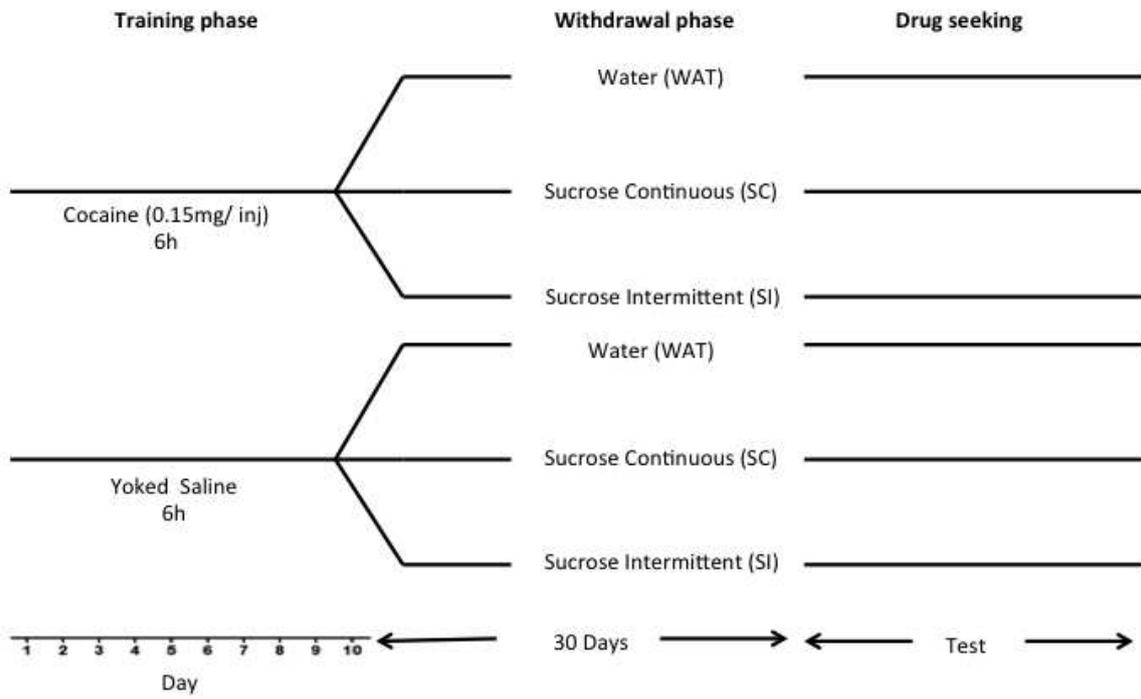


Figure 2

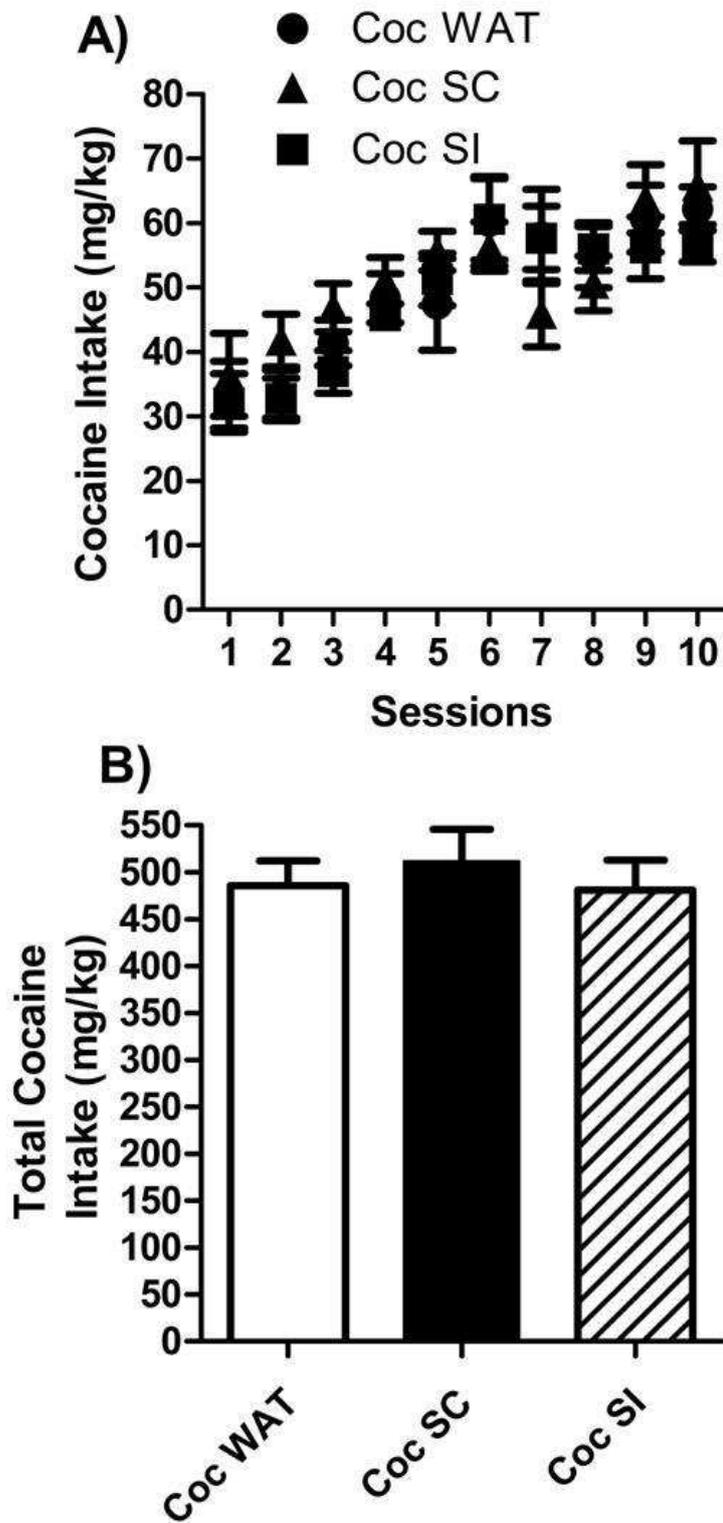


Figure 3

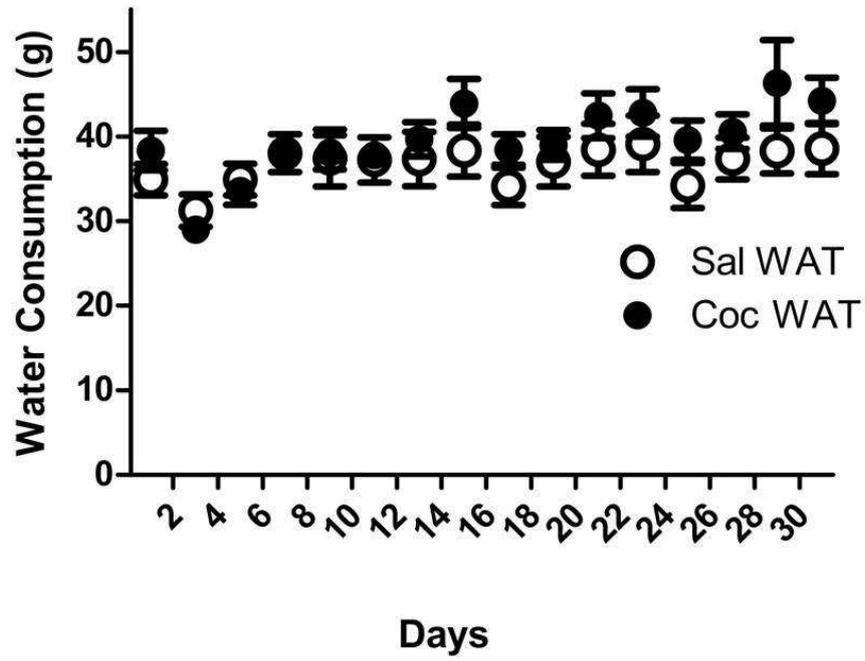


Figure 4

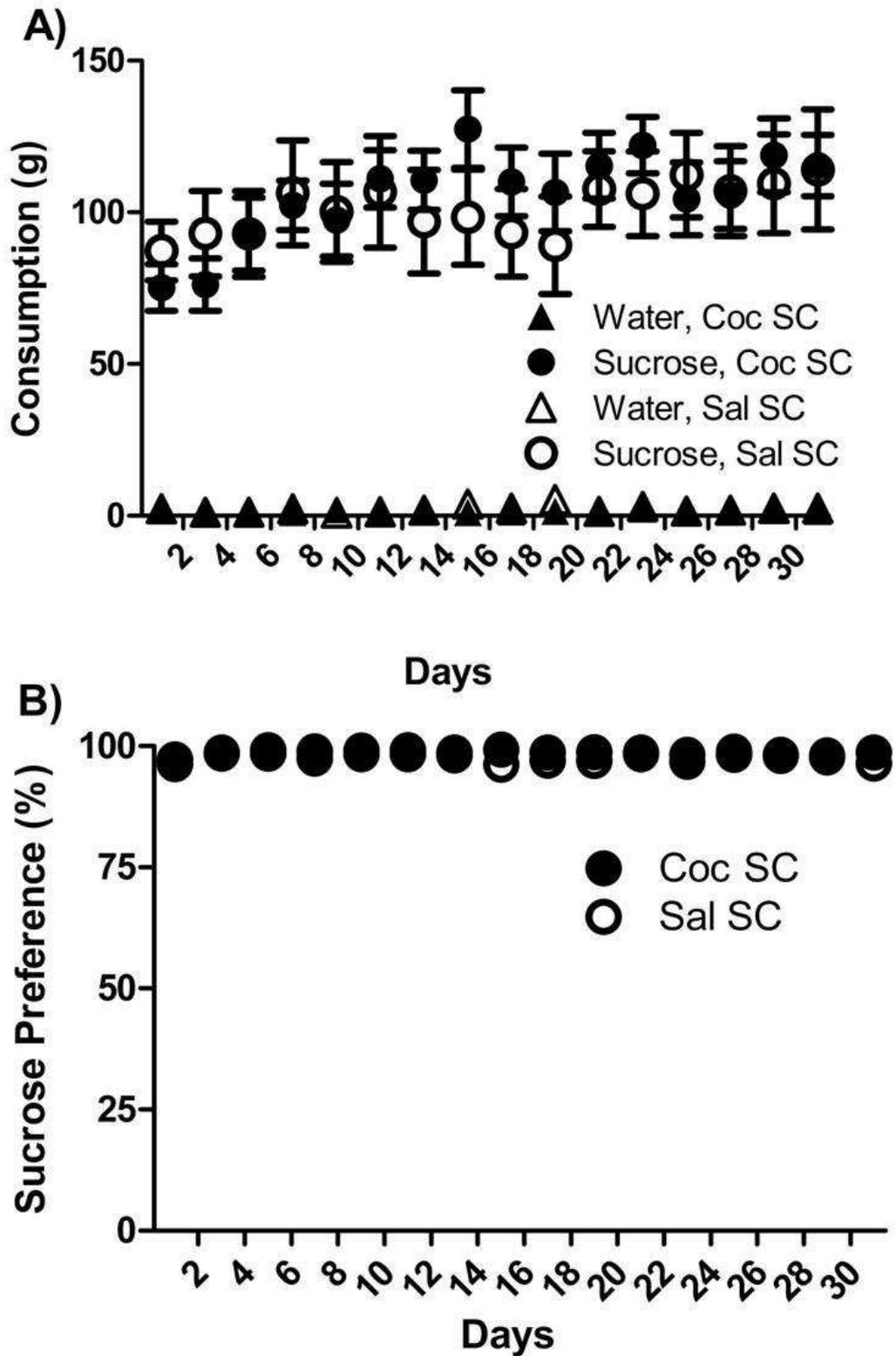


Figure 5

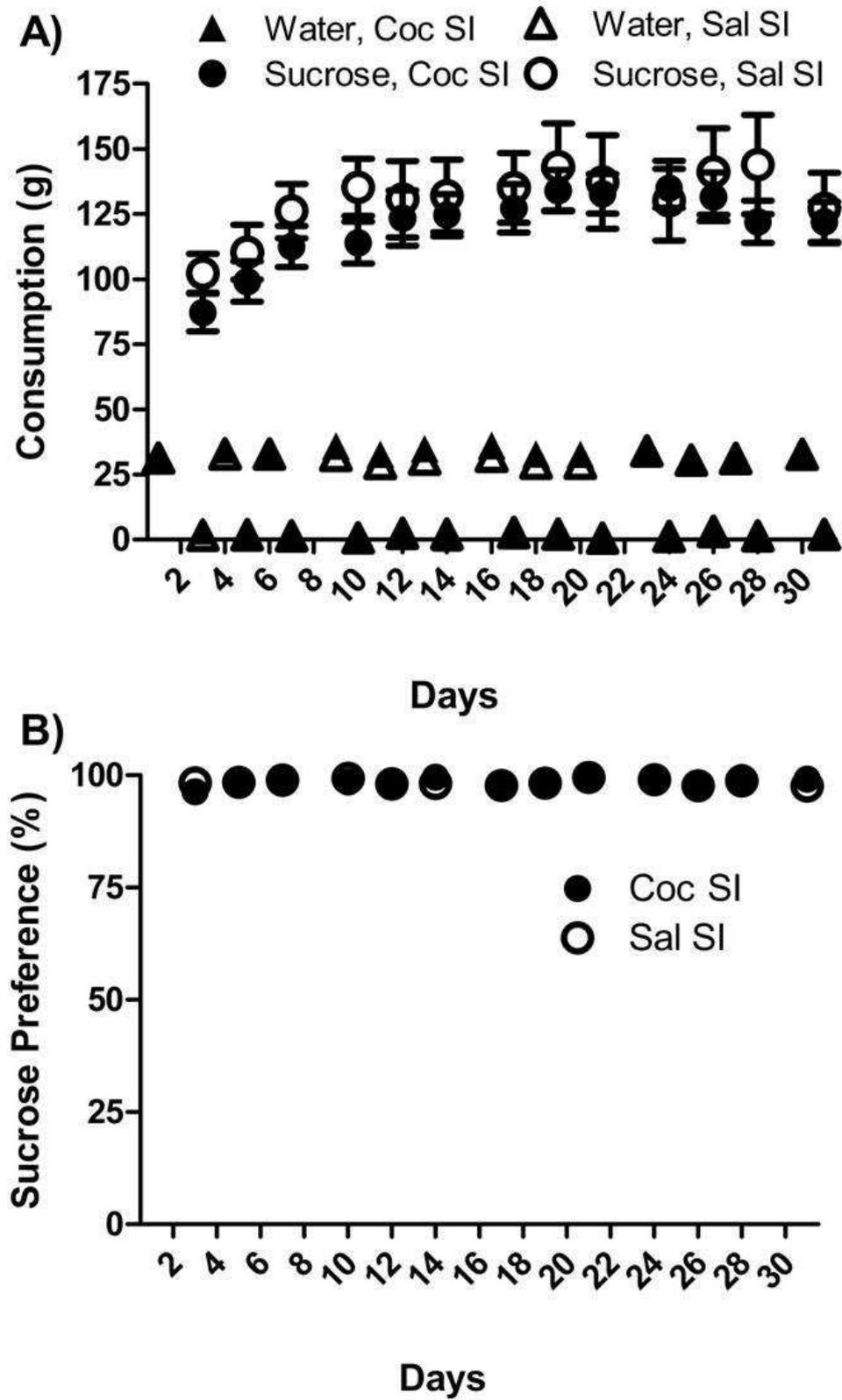


Figure 6

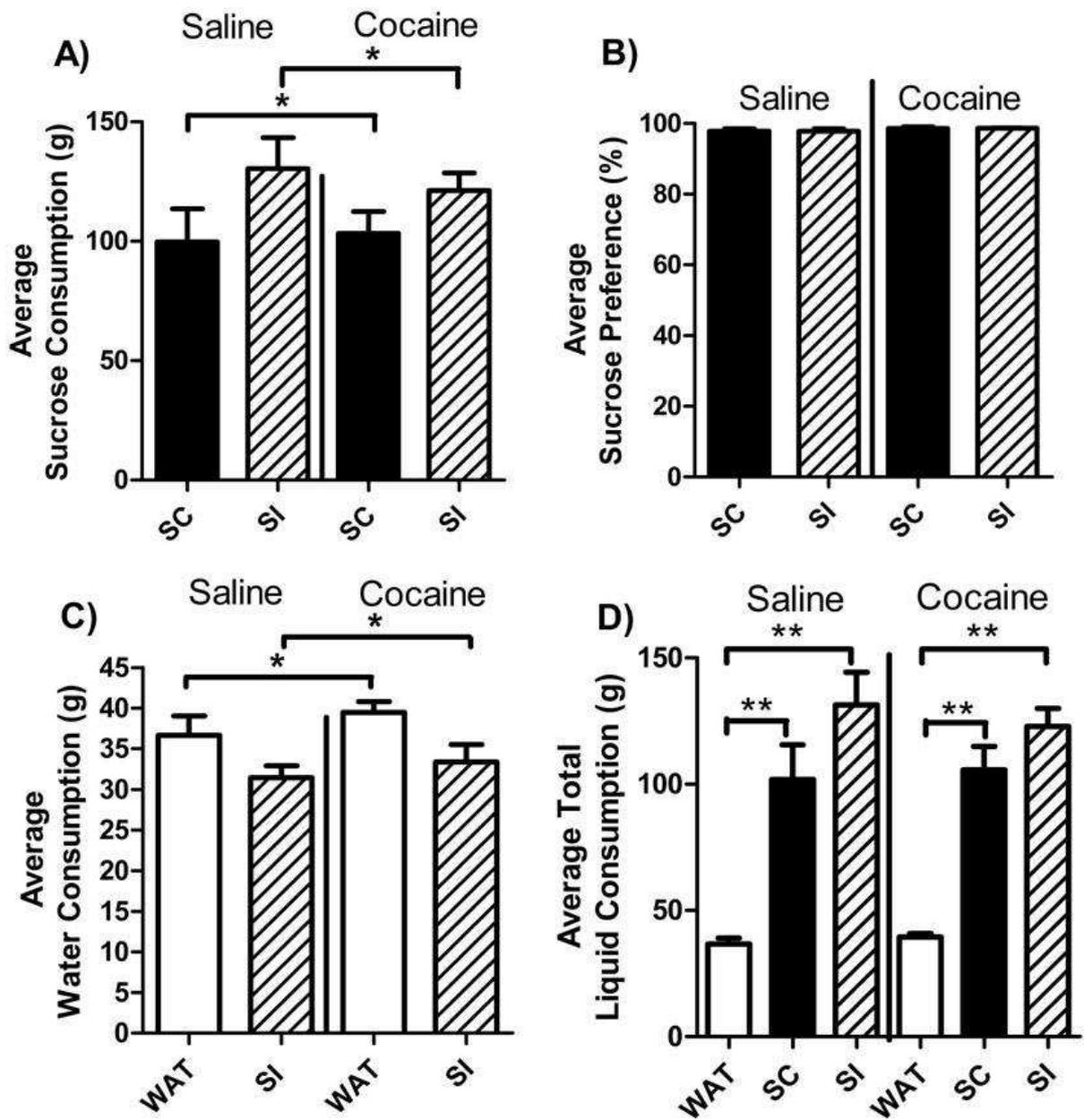
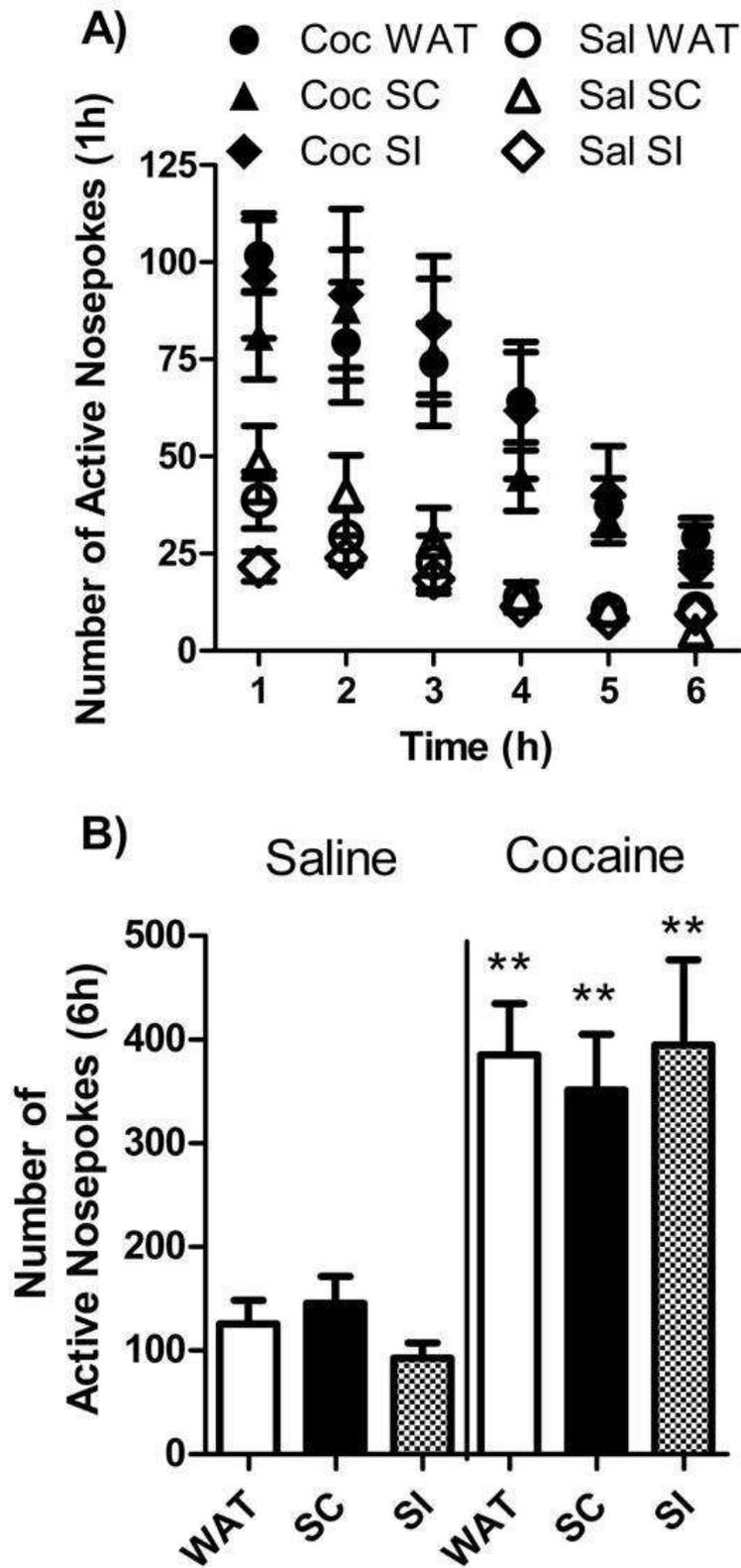


Figure 7



Projet 4 : Etude de l'influence de l'exposition chronique à une récompense alternative pendant le sevrage sur le comportement de recherche de cocaïne chez le rat : effet de l'exercice physique

RESUME

A ce jour, il est clairement établi que la composante environnementale joue un rôle important dans les comportements addictifs. Par exemple, l'accès simultané à une drogue d'abus et à une récompense alternative induit une réduction des comportements addictifs chez les animaux. Plus spécifiquement, lorsque les animaux ont un accès concomitant à une roue d'activité et à la drogue ils diminuent leur prise de drogue. De plus, la pratique d'activité physique, quelques heures pendant le sevrage, a également démontré un effet bénéfique, en réduisant le comportement de recherche de drogue. Cependant, très peu d'études ont évalué les effets d'un accès continu à une roue d'activité. Ainsi dans ce projet nous avons souhaité étudier si l'accès ininterrompu à une récompense alternative hautement renforçante chez le rongeur, comme l'exercice physique, pourrait réduire le comportement de recherche de cocaïne.

Pour cela, des rats ont suivi une procédure d'auto-administration de cocaïne (6h/j) pendant 10 jours, pendant que d'autres rats « yoked » saline recevaient uniquement des injections de saline. Les animaux ont ensuite été placés en sevrage forcé pendant 30 jours durant lesquels ils avaient accès soit a) à une roue d'activité bloquée ne permettant pas aux rats pratiquer une activité physique et nous servant ainsi de contrôle (groupe Sed), soit b) à une roue d'activité fonctionnelle (Groupe Exe). A la fin des 30 jours de sevrage, les rats ont suivi un test de recherche de cocaïne pendant une session de 6 heures fractionnée en période de 1 heure. Nos résultats montrent d'une part que les rats réalisent de grandes distances de course quotidienne pendant la période de sevrage. D'autre part, les rats ayant

un historique avec la cocaïne semblent avoir un dérèglement du rythme circadien pendant les 5 premiers jours de sevrage, mis en évidence par une pratique élevée de la course sur la période « jour » au détriment de la période « nuit ». Enfin, que le pattern de course semble présenter deux phases distinctes : durant les deux premières semaines la distance de course est stable, puis lors des deux dernières une augmentation importante de la course est observée. Enfin, après 30 jours de sevrage, les rats ayant un historique avec la cocaïne montrent un haut niveau de recherche de drogue mais aucune différence n'est observée entre les deux groupes expérimentaux sédentaire et exercice.

Nos données suggèrent donc que l'exposition prolongée, pendant le sevrage, à une récompense alternative temporellement et physiquement distincte de l'environnement associé à la drogue ne réduit pas le comportement de recherche de drogue.

I. Résultats

A. Auto-administration de cocaïne

Les rats qui suivent la procédure d'auto-administration de cocaïne, qu'ils soient par la suite inclus dans le futur groupe sédentaire (Fut Coc Sed) ou exercice (Fut Coc Exe), acquièrent dès la première session un comportement de prise de drogue et montrent des patterns comportementaux identiques. Ils montrent une nette préférence pour le nose-poke actif (Figure 29A) avec en moyenne 195 réponses réalisées lors de la première session. Ces réponses diminuent légèrement et se stabilisent autour de 150 nose-pokes lors des 4 dernières sessions (Figure 29A). Le nombre de réponses dans le nose-poke inactif passe, en moyenne, de 155 lors de la première session à 50 lors de la troisième session pour se stabiliser autour de 21 réponses dans la suite de la procédure (Figure 29B). Ce profil témoigne d'un apprentissage des animaux au cours des sessions expérimentales, avec une préférence accrue pour le nose-poke actif associé à l'effet récompensant de l'injection de cocaïne pour l'animal. En comparaison, les rats « yoked » saline montrent des patterns de réponses dans les nose-pokes actif et inactif, similaires. Les rats effectuent en moyenne respectivement 65 et 45 réponses dans les nose-pokes actif et inactif lors des deux premières sessions puis stabilisent leurs réponses (autour de 25) pour les deux nose-pokes lors des sessions suivantes (Figure 29A,B).

La prise de cocaïne par les rats au cours des sessions d'auto-administration est relativement stable sur l'ensemble des dix sessions (Figure 29C). Ils s'auto-administrent en moyenne 60mg/kg/jour de cocaïne lors des quatre premières sessions, puis augmentent leur prise lors des six dernières sessions, pour se stabiliser autour de 70mg/kg/jour (Figure 29C). A la fin de la procédure d'auto-administration, les rats ayant eu accès à la cocaïne sont séparés en 2 groupes ; le groupe sédentaire et le groupe exercice, en s'assurant lors de la répartition des animaux que la prise de cocaïne est identique pour chacun des 2 groupes (Figure 29D). Ainsi, suivant cette procédure expérimentale, le nombre de nose-pokes actifs et inactifs (Figure 29A,B) et la prise de cocaïne (Figure 29C,D) ne diffèrent pas entre les futurs groupes cocaïne sédentaire et cocaïne exercice.

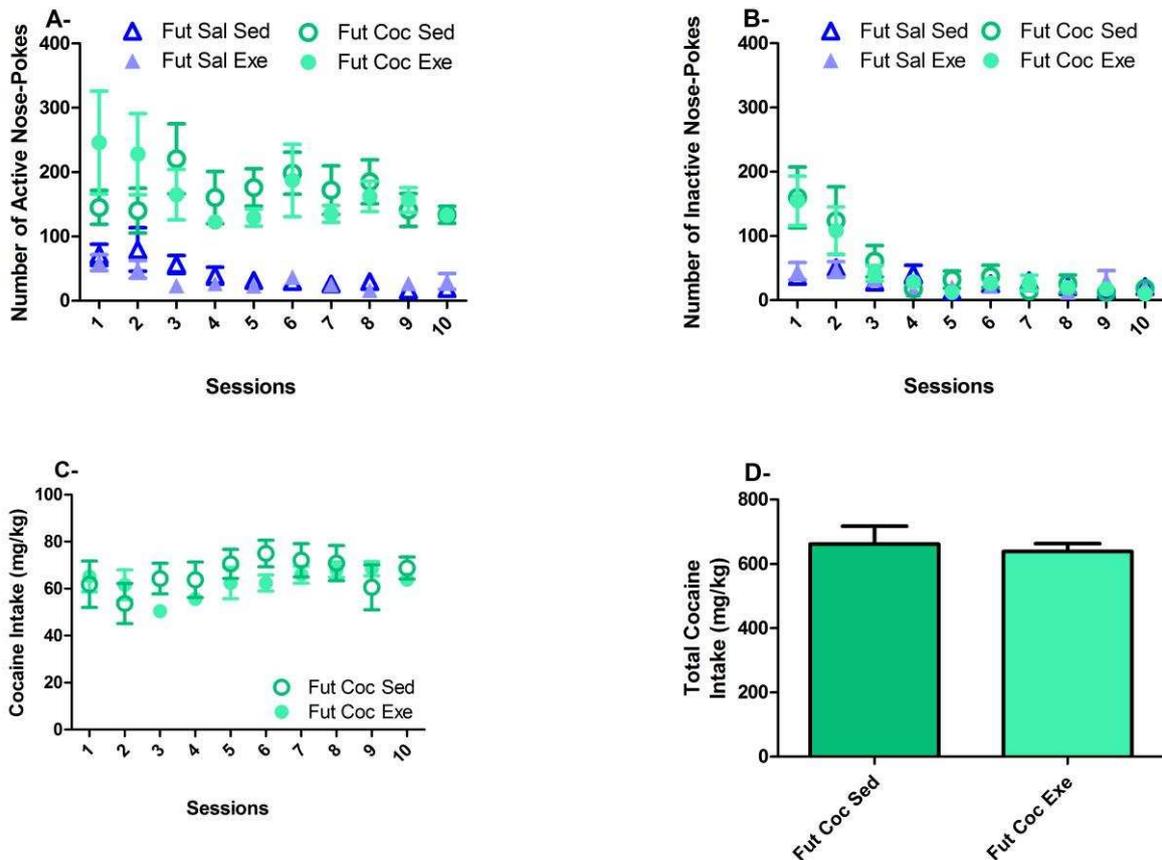


Figure 29 : Nombre de nose-pokes actifs (A) et inactifs (B) effectués au cours des sessions d’auto-administration par les futurs groupes Saline Sédentaire (Fut Sal Sed, n=6), Saline Exercice (Fut Sal Exe, n=7), Cocaïne Sédentaire (Fut Coc Sed, n=10) et Cocaïne Exercice (Fut Coc Exe, n=10). Décours temporel de la prise (C) et prise totale (D) de cocaïne pendant les 10 sessions d’auto-administration. Il est important de noter que la prise de cocaïne ne diffère pas entre les deux groupes expérimentaux, futur cocaïne sédentaire (Fut Coc Sed) et futur cocaïne exercice (Fut Coc Exe).

B. Evaluation des profils de course effectués lors de la période de sevrage

Après la période d’auto-administration, nous avons permis aux rats d’accéder librement à une roue d’activité pendant la durée totale de la phase de sevrage (Groupe Saline Exercice, Sal Exe et Cocaïne Exercice, Coc Exe). Les animaux servant de contrôles sont hébergés dans les mêmes cages mais avec une roue d’activité bloquée ne leur permettant

pas de réaliser d'exercice (Groupe Saline Sédentaire, Sal Sed et Cocaïne Sédentaire, Coc Sed). L'exercice réalisé par chaque rat dans la roue d'activité est enregistré, tout au long des 30 jours de sevrage. Ainsi, la distance de course parcourue sur la période « jour » et la période « nuit » est évaluée et permet de déterminer la course totale effectuée sur une journée (23 heures selon nos conditions expérimentales) pour chaque animal. Les rats sont placés dans les cages d'activité physique après la dernière session d'auto-administration, soit vers 16 heures. Pour la première journée d'enregistrement, nous avons donc fait le choix d'exclure les 3 premières heures de course en période « jour » (16h – 19h) car elles ne peuvent pas être comparées aux autres distances de course effectuées sur la période « jour » (de 11 heures) des jours suivants.

1. Analyse de la course sur la journée entière

L'analyse des résultats, obtenus sur une journée entière, montre des profils de course similaires entre les rats des deux groupes saline (Sal Exe) et cocaïne (Coc Exe), démontrant que l'historique avec la drogue n'a pas d'effet significatif sur la distance totale de course réalisée pendant la période de sevrage (Figure 30 C). La course effectuée par les deux groupes, Sal Exe et Coc Exe, augmente progressivement au cours du sevrage, passant de 0,7km à 2,2km par jour entre le premier et le dernier jour d'accès à la roue. L'analyse statistique montre un effet significatif du temps [$F(30,480)=5,517$, $p<0,0001$], mais pas d'effet de la drogue ni d'interaction entre la drogue et le temps.

2. Analyse de la course sur la période « jour » et la période « nuit »

En scindant la course effectuée sur une journée entière en période « jour » et période « nuit », il est possible de mettre en évidence des différences significatives entre les rats saline et cocaïne.

De façon générale, le profil de course de la période « nuit » (Figure 30 A) est similaire à celui observé sur une journée entière pour les deux groupes, saline et cocaïne (Figure 30 C). L'analyse statistique pour la course effectuée sur la période « nuit » ne montre pas d'effet significatif de la drogue, ni d'interaction entre la drogue et le temps, mais montre un effet significatif du temps [$F(30,480)=5,534$, $p<0,001$].

Cette similitude peut s'expliquer par le fait que la majorité de la distance parcourue par les animaux, en moyenne 80%, est réalisée pendant la phase nocturne (Figure 30D) qui correspond physiologiquement à la période d'activité des rats. L'analyse statistique du pourcentage de course effectuée sur la période « nuit » par rapport à la distance totale parcourue sur une journée, durant les 30 jours de sevrage, ne montre pas d'effet significatif de la drogue mais elle montre un effet significatif du temps [$F(30,450)=7,848$, $p<0,001$] et une interaction entre la drogue et le temps [$F(30,450)=3,684$, $p<0,0001$].

Sur la période « jour », la distance parcourue par les deux groupes, saline et cocaïne, est similaire et stable au cours des 30 jours de sevrage (Figure 30B). En moyenne, les rats du groupe saline courent 0,19km par jour et les rats du groupe cocaïne 0,16km par jour. L'analyse statistique ne révèle pas d'effet significatif de la drogue, du temps ni d'interaction entre la drogue et le temps.

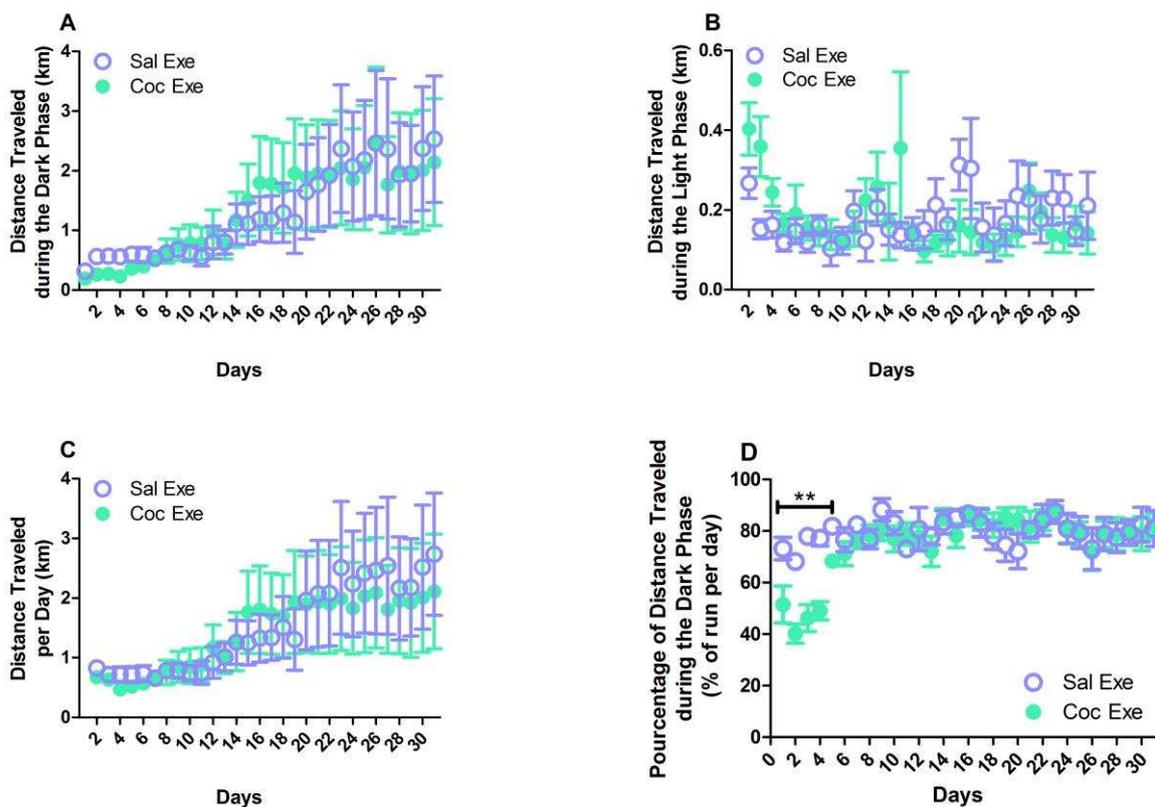


Figure 30 : Distance parcourue sur la période « nuit » (A) sur la période « jour » (B) et la journée entière (C) au cours des 30 jours de sevrage, pour les deux groupes Saline Exercice (Sal Exe, n=7) et Cocaïne Exercice (Coc Exe, n=10). Pourcentage de course effectuée sur la période « nuit » par rapport à la course réalisée sur une journée, pendant les 30 jours de sevrage (D). L'analyse statistique a été réalisée en appliquant un test ANOVA à mesures répétées, **<0,01 groupe Coc Exe comparé au groupe Sal Exe.

3. Analyse de la course sur les 5 premiers jours d'accès à la roue d'activité

Si l'on effectue une analyse de la course sur les 5 premiers jours de sevrage, nous pouvons mettre en évidence des différences significatives entre les groupes saline (Sal Exe) et cocaïne (Coc Exe). En effet, sur la période « nuit », les rats du groupe saline parcourent une distance significativement plus élevée que les rats du groupe cocaïne, avec respectivement 0,52km contre 0,26km (Figure 31A). L'analyse statistique révèle un effet significatif de la drogue [$F(1,68)=13,738$, $p<0,01$], du temps [$F(4,68)=12,242$, $p<0,0001$], et une interaction entre la drogue et le temps [$F(4,68)=2,743$, $p<0,05$]. Aucune différence

significative n'est observée sur la course effectuée sur une journée entière (Figure 31C) et sur la période « jour » (Figure 31B). Parallèlement, nous pouvons observer, sur les 5 premiers jours de sevrage, une diminution significative du pourcentage de course effectuée sur la période « nuit » chez les rats du groupe cocaïne (Coc Exe) par rapport au groupe contrôle saline (Sal Exe) (Figure 31D). L'analyse statistique révèle un effet significatif de la drogue [$F(1,64)=62,564$, $p<0,0001$], du temps [$F(4,64)=9,273$, $p<0,0001$] mais pas d'interaction entre la drogue et le temps. Le sevrage aigu à la cocaïne semble donc diminuer la pratique de l'exercice physique lors de la phase « nuit », physiologiquement connue pour être la période d'activité des rongeurs. Cette diminution peut être considérée comme une modification comportementale induite par l'exposition chronique à la cocaïne en fonction du cycle circadien. En effet, durant la phase d'auto-administration, les rats effectuaient une tâche comportementale lors de la période « jour » du cycle afin de recevoir la drogue. Il est donc possible d'envisager que lors des premiers jours de sevrage, ces mêmes rats maintiennent un niveau élevé d'activité durant la période « jour » qui s'estompe au fil du temps pour retrouver un niveau d'activité plutôt nocturne.

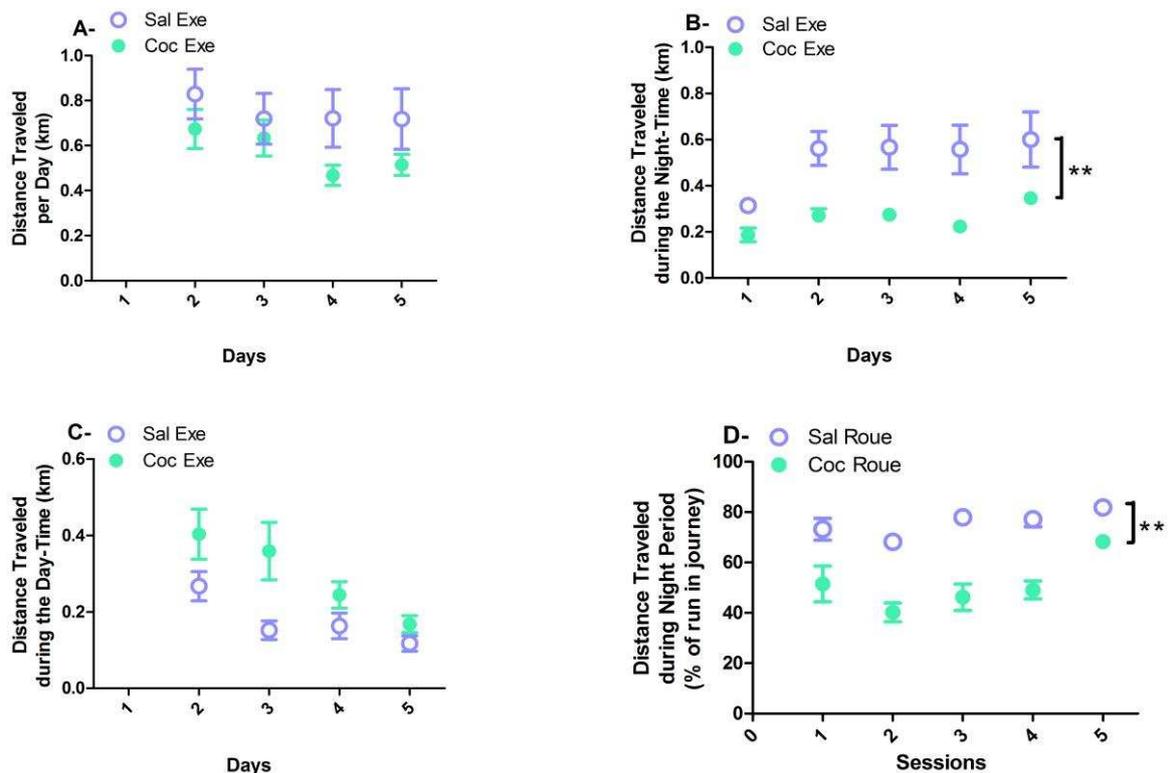


Figure 31 : Distance parcourue sur la période « nuit » (A), la période « jour » (B) et la journée entière (C) pendant les 5 premiers jours de sevrage pour les deux groupes Saline Exercice (Sal Exe, n=7) et Cocaïne Exercice (Coc Exe, n=10). Pourcentage de course effectuée pendant la période « nuit » en fonction de la course réalisée sur une journée, pendant les 5 premiers jours de sevrage (D). L'analyse statistique a été réalisée en appliquant un test ANOVA à mesures répétées, **<0,01 groupe Coc Exe comparé au groupe Sal Exe.

4. Etude interindividuelle de la course réalisée lors des 30 jours de sevrage

L'analyse de la course montre une variabilité importante de la distance parcourue par les animaux au sein d'un même groupe expérimental (Figure 30A,B et C). Ainsi, en étudiant la répartition individuelle des rats dans chacun des deux groupes, saline et cocaïne, en fonction de la distance totale parcourue sur les 30 jours de sevrage, nous pouvons distinguer, pour chaque groupe expérimental, deux « populations » de rats répartis de part et d'autre de la moyenne de course quotidienne de leur groupe respectif (environ 1.33km de course par jour pour les deux groupes, saline et cocaïne) (Figure 32). En effet, la majorité des

rats Coc Exe et Sal Exe parcourent une distance inférieure à la moyenne de leur groupe, qui semble stable durant la période de sevrage, avec en moyenne 0,5km de course parcourue par jour. A l'inverse, pendant la phase d'abstinence, une faible proportion de rats (3 rats pour chaque groupe) court une distance supérieure à la moyenne de course journalière. Ainsi, la distribution des animaux est relativement variable, avec des valeurs extrêmes à la moyenne qui s'étendent de 1,8 à 3,8 km pour le groupe saline et de 1,7 à 5,3 km pour le groupe cocaïne. Cette distribution explique alors la variabilité intra-groupe observée dans l'analyse de la course pour chacun des deux groupes expérimentaux. Enfin, il est important de noter que cette variation entre les animaux sur la distance de course parcourue quotidiennement s'accroît au cours de la phase d'abstinence. En effet, les animaux montrent un profil de course relativement stable et identique durant les 14 premiers jours de sevrage. Durant la deuxième moitié de la période de sevrage, on note une différence de course plus importante entre les animaux. Ainsi, c'est sur cette deuxième période qu'une partie des animaux montre une augmentation importante de la distance parcourue par jour, illustrée par une dispersion du profil comportemental des rats.

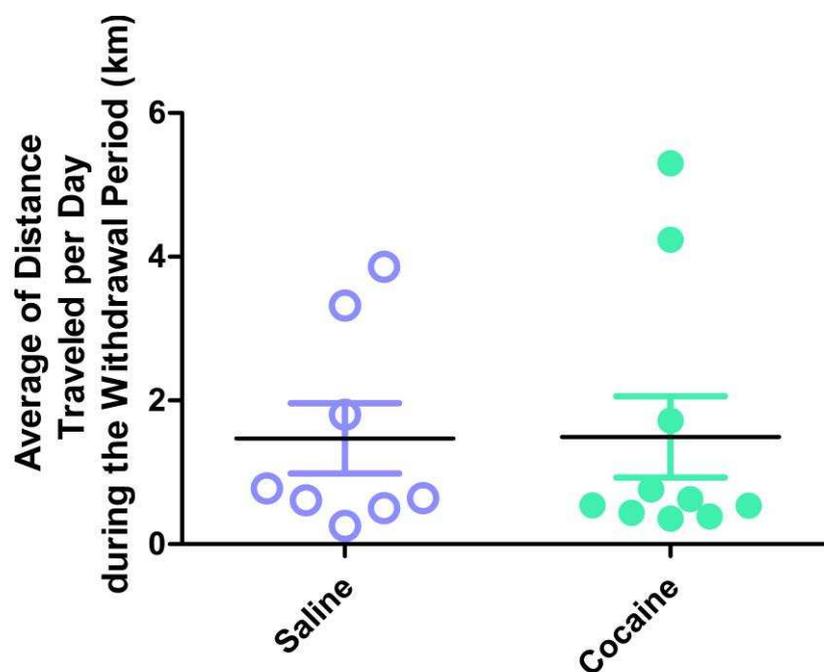


Figure 32 : Distribution individuelle des rats des deux groupes, saline et cocaïne, en fonction de la distance totale parcourue lors des 30 jours de sevrage.

5. Conclusion

L'analyse de la course, suite à la période d'auto-administration, montre que l'exposition préalable à la cocaïne n'influence pas la distance de course effectuée sur les 30 jours de sevrage par rapport aux rats ayant reçu de la solution saline. De plus, il faut noter que le pattern de course sur une journée est principalement déterminé par la course effectuée sur la période « nuit » puisque les rats parcourent la majorité de cette distance durant cette phase période, la période « nuit » étant la période d'activité en condition physiologique chez les rongeurs. Cependant, l'analyse plus spécifique des 5 premiers jours de sevrage montre que les rats ayant un historique avec la cocaïne courent significativement moins sur la période « nuit » que les rats contrôles saline. Le sevrage aigu à la cocaïne semble donc influencer la course et, plus spécifiquement, moduler la réponse comportementale en fonction du rythme circadien.

C. Comportement de recherche de drogue

Le comportement de recherche de drogue, après 30 jours de sevrage, est mesuré par le nombre de nose-pokes actifs réalisé par les rats pendant une session unique de 6 heures, divisée en intervalles de 1 heure (Figure 33A). L'analyse de cette réponse met en évidence un nombre de nose-pokes actifs plus important chez les rats ayant un historique avec la cocaïne par rapport aux rats saline « yoked » contrôles. L'analyse statistique montre un effet significatif de la drogue [$F(3,31)=11,865$, $p<0,001$]. Le niveau de réponse est plus élevé pendant la première heure et diminue au cours de la session (Figure 33B). L'exercice physique pendant la période de sevrage ne modifie donc pas de façon significative le niveau de réponse dans le groupe cocaïne exercice (Coc Exe) en comparaison au groupe cocaïne sédentaire (Coc Sed), avec respectivement 321 et 387 réponses/session (Figure 33B). Ainsi, l'exposition chronique à une roue d'activité pendant la période de sevrage ne permet pas de réduire la recherche de cocaïne en comparaison à des rats contrôles n'effectuant pas d'activité physique.

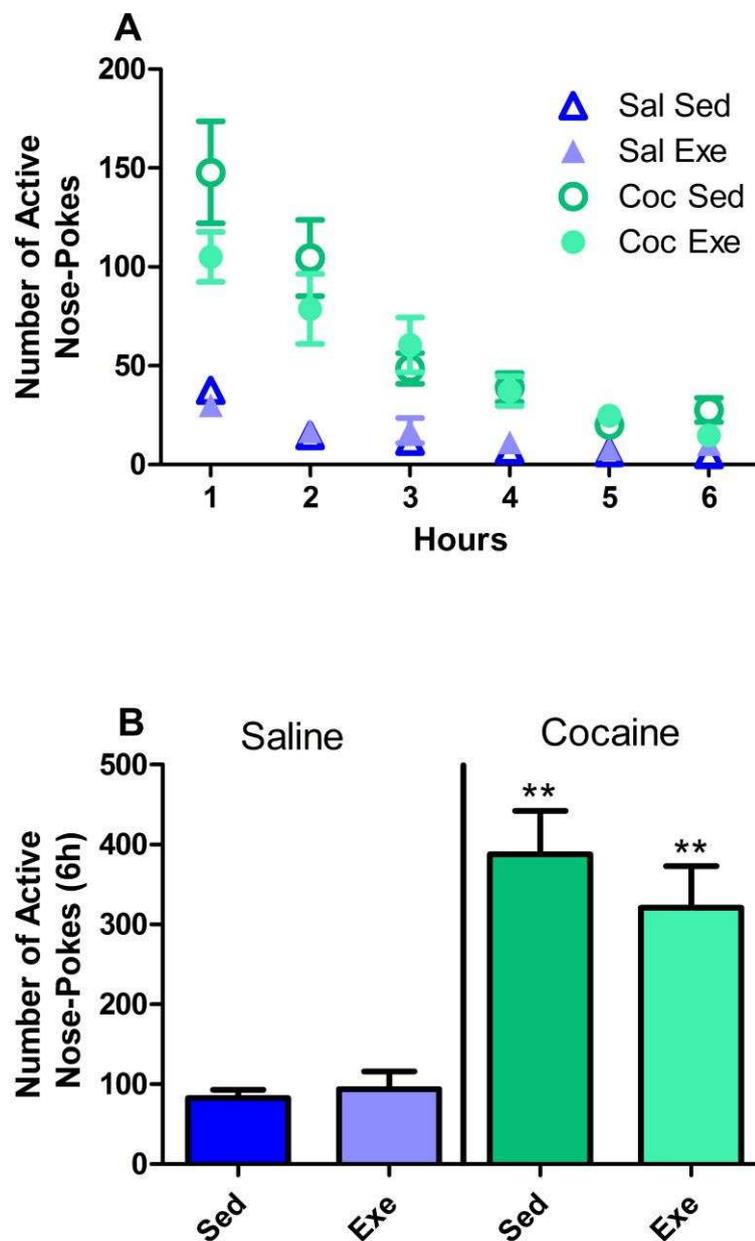


Figure 33 : L'activité physique pendant la période de sevrage n'a pas d'effet sur le comportement de recherche de cocaïne. Décours temporel de la recherche de cocaïne (A) et cumul total de la recherche de cocaïne (B), mesuré par le nombre de nose-pokes actifs effectués pendant les 6h de session chez les rats préalablement exposés à la saline ou à la cocaïne et ayant eu accès à une roue d'activité bloquée (Sal Sed n=6, Coc Sed n=10) ou fonctionnelle (Sal Exe n=7, Coc Exe n=10) pendant les 30 jours de sevrage. L'analyse statistique a été réalisée en appliquant un test two-way ANOVA suivi d'un test post-hoc Student-Neuman-Keuls, **<0,01 cocaïne comparé aux contrôles « yoked » saline respectif.

II. Discussion : l'exercice physique exerce-t- il un effet anti craving dans l'addiction à la cocaïne

Ce projet avait pour but d'étudier si l'accès chronique à une récompense alternative naturelle telle que l'exercice physique, pouvait réduire la recherche de cocaïne chez le rat. Malgré une pratique intensive d'exercice physique par nos animaux, l'exposition à cette récompense ne réduit pas de façon significative le comportement de recherche de cocaïne. Ces données, additionnées aux résultats de notre projet sur le sucrose (Projet 3), suggèrent que l'exposition à une récompense alternative, de façon non contingente à la procédure d'auto-administration de cocaïne, ne diminue pas le « craving » à la cocaïne. Ainsi, ces données suggèrent que les effets « anti-craving » de l'EE ne peuvent pas être attribués exclusivement à un effet similaire à l'effet d'une récompense alternative.

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés aux effets de l'exercice physique, connu comme étant très renforçant chez les rongeurs, (Greenwood et al., 2011; Smith and Lynch, 2012), sur la rechute à la cocaïne. Comme attendu, les rats ayant eu accès à une roue d'activité pendant la période de sevrage, parcourent de longues distances quotidiennes, augmentant au fil du temps, pour atteindre plus de 2km par jour, témoignant également d'une motivation grandissante des rats pour l'exercice physique au fil des jours de sevrage. Nos données sont donc en accord avec l'étude de Peterson et ses collaborateurs, qui montre que les rats parcourent une distance élevée, pendant le sevrage, consécutif à une période d'auto-administration de cocaïne chez le rat (Peterson et al., 2014b).

L'une des hypothèses principales des mécanismes sous-jacents à l'addiction serait que, suite à une administration répétée de drogue, le système de la récompense développe une diminution de la réactivité face aux récompenses naturelles (Koob and Le Moal, 2001a; Volkow et al., 2013a). Bien que cette hypothèse soit aujourd'hui très solide et supportée par des études cliniques (McKay et al.), très peu d'études pré-cliniques ont permis de détecter une réduction de la réactivité aux récompenses naturelles suite à la prise chronique de psychostimulants. La mise en évidence de la diminution de la motivation pour les récompenses naturelles est d'autant plus difficile qu'elle semble principalement restreinte à

la phase aigüe du sevrage. Une étude, réalisée par Ahmed et ses collaborateurs, mettent en évidence une augmentation du seuil de stimulation intracérébrale pendant le sevrage aigu suite à l'escalade de la prise de cocaïne chez le rat, suggérant une réduction du niveau de récompense (Ahmed et al., 2002b). Des études réalisées sur l'exercice physique montrent que la prise de drogue influence l'exercice physique chez les animaux. En effet, deux études ont montré qu'un accès concomitant à une roue d'activité et à l'auto-administration de méthamphétamine (Miller et al., 2012), ou de cocaïne (Cosgrove et al., 2002b), réduit l'exercice physique effectué par les rats. De même, Smith et ses collaborateurs présentent dans leur étude une nette réduction de l'exercice physique des rats suite à des sessions prolongées de 23h d'auto-administration de cocaïne (Smith et al., 2011). Ainsi, comme dans l'étude avec le sucrose (Projet 3), notre design expérimental nous permet d'utiliser la distance de course parcourue comme une variable dépendante pour évaluer si l'auto-administration de cocaïne altère la réponse comportementale face aux récompenses naturelles. Dans cette étude, nous avons mis en évidence une diminution significative de la distance de course parcourue sur la période « nuit » durant les 5 premiers jours de sevrage chez les rats ayant un historique avec la cocaïne en comparaison aux rats contrôles saline. Nos résultats sont en accord avec l'étude menée par Smith et ses collaborateurs dans laquelle l'activité physique, effectuée par les rats, est diminuée le jour suivant une exposition prolongée à la cocaïne (Smith et al., 2011). De plus, une autre étude montre que l'activité locomotrice des rats s'est également vue diminuée après 3 jours de sevrage consécutifs à 14 jours d'injection quotidienne de cocaïne. Cet effet est rétabli après 10 et 30 jours de sevrage (Wei et al., 2011b). Par ailleurs, dans notre étude, lors des 5 premiers jours de sevrage, les rats ayant un historique avec la cocaïne montrent une diminution du pourcentage de course effectuée sur la période « nuit » par rapport à la distance effectuée quotidiennement. Plusieurs hypothèses peuvent être envisagées. Les sessions d'auto-administration de drogue ayant eu lieu pendant la période « jour » du cycle circadien, les animaux ont appris à exercer une tâche et à travailler durant cette période, qui, dans les conditions physiologiques, ne correspond pas à leur période d'activité. Ainsi, lors des premiers jours de sevrage, il est possible que les rats continuent à rester actif de façon excessive pendant la période « jour » au détriment de la période « nuit ». Par ailleurs, des études rapportent que la prise chronique de cocaïne induirait un dérèglement du rythme

circadien des animaux, pouvant, par conséquent, induire des modifications comportementales en fonction de la période de la journée. En effet, quelques études ont mis en avant l'influence de l'administration chronique de cocaïne sur le dérèglement du rythme circadien (Wei et al., 2011b). Cet effet a notamment pu être mis en évidence en étudiant le comportement de prise de nourriture chez des rats traités à la cocaïne de façon chronique. Par exemple, les rats montrent une augmentation de la prise de nourriture sur la période « jour » qui est contrebalancée par une réduction de la consommation lors de la période « nuit » pendant toute la durée du traitement à la cocaïne en comparaison aux rats contrôles saline (Giorgetti and Zhdanova, 2000). De plus, le dérèglement du rythme circadien dans la consommation de nourriture perdure pendant les 5 premiers jours de sevrage (Giorgetti and Zhdanova, 2000). Par ailleurs, des études menées lors de la phase précoce du sevrage à la cocaïne rapportent que, suite à l'arrêt de l'administration en « binge » de la drogue, les rats développent une augmentation de la vocalisation pendant les 24 premières heures de sevrage, témoignant ainsi d'un syndrome de sevrage, qui perdure pendant les 5 premiers jours de cette période (Mutschler and Miczek, 1998; Mutschler et al., 2001). Il semblerait donc que la réduction de l'exercice physique, pendant ces 5 premiers jours d'abstinence, chez les rats ayant un historique avec la cocaïne, soit la résultante d'un syndrome de sevrage aigu mis en évidence par une réduction de la réactivité à une récompense alternative naturelle.

L'objectif principal de notre étude était de faire le parallèle entre l'exposition à une récompense naturelle, dans ce cas l'exercice physique, et l'exposition à un environnement enrichi. En effet, plusieurs études ont montré que l'exposition à l'EE pendant une période de sevrage diminue le comportement de recherche de drogue (Solinas et al., 2008; Chauvet et al., 2009; Thiel et al., 2009; Chauvet et al., 2011a; Chauvet et al., 2012; Thiel et al., 2012b). Ainsi nous avons émis une hypothèse selon laquelle l'EE produirait son effet « anti-craving » en agissant comme une récompense alternative naturelle (Solinas et al., 2010a). Bien que la littérature soit abondante concernant les effets bénéfiques des récompenses alternatives sur l'addiction (Smith and Lynch, 2012; Ahmed et al., 2013d), les procédures expérimentales employées sont très différentes de celles utilisées pour l'EE. En effet, la récompense alternative est généralement donnée de façon concomitante à l'auto-administration de drogue comme une option ou un choix (Cosgrove et al., 2002b; Smith and Lynch, 2012;

Zlebnik et al., 2012; Ahmed et al., 2013d). Cependant, dans les études montrant un effet « anti-craving » de l'EE, celui-ci est considéré comme une condition environnementale de vie et d'hébergement des rats à part entière et est donc accessible de façon non-contingente aux conditions expérimentales d'auto-administration. Dans notre design expérimental, les roues d'activité sont accessibles aux rats, du début du sevrage jusqu'au jour du test de comportement de recherche de drogue, tout comme l'EE. Cependant, contrairement à notre hypothèse de travail, l'exposition à l'exercice physique ne permet pas de réduire le comportement de recherche de cocaïne. Ainsi, ces données suggèrent que l'exposition à une récompense alternative, pendant le sevrage, n'est pas suffisante pour diminuer le comportement de recherche de drogue.

D'autres études évaluant l'effet de l'activité physique sur la rechute, sont présentes dans la littérature. Pour faire le parallèle, nos données sont différentes des études menées par Peterson et ses collaborateurs qui démontrent que l'accès à une roue d'activité 24h/24 pendant 14 jours de sevrage permet de réduire le comportement de recherche de cocaïne (Peterson et al., 2014b). Cependant, il est important de noter des divergences de protocoles. Pour commencer, les rats subissent seulement 14 jours de sevrage, contrairement aux 30 jours de notre procédure. De plus, dans leur étude, Peterson et ses collaborateurs travaillent suite à une extinction du comportement et évaluent la recherche de cocaïne induite par les signaux de rappel (Peterson et al., 2014b). Or, dans notre étude, nous avons fait le choix de tester le comportement de recherche de drogue sans phase préalable d'extinction. L'ensemble de ces différences peut en partie expliquer nos divergences de résultats. De plus, il est important de noter que dans l'étude menée par Peterson et ses collaborateurs, l'exercice physique réduit le comportement de recherche de cocaïne suite à l'induction par les signaux de rappel, mais les auteurs ne montrent pas d'effet sur la période d'extinction (Peterson et al., 2014b), ce qui serait plus comparable à notre condition expérimentale. Enfin, Peterson et ses collaborateurs testent le comportement de recherche de drogue après 14 jours de sevrage, or c'est à partir de cette durée d'abstinence que dans notre procédure les rats, et surtout une minorité d'entre eux, montrent une augmentation accrue de la distance de course effectuée par jour. Il est donc probable que, suite aux 14 jours de sevrage, correspondant à la moitié de la période d'abstinence dans notre design expérimental, l'exercice physique perde de son effet « nouveauté » pour les rats, qui

développent alors un comportement habituel de la pratique de la course. Ainsi, après 30 jours de sevrage, les rats effectuent de longues distances de course quotidiennes qui auraient perdu leur effet bénéfique sur la réduction du comportement de recherche de cocaïne.

En conclusion, nous avons mis en évidence dans notre étude que l'exposition à une roue d'activité pendant 30 jours de sevrage ne permet pas de réduire le comportement de recherche de cocaïne chez le rat. Ces données, complétées par les résultats obtenus avec le projet sur le sucrose, suggèrent que l'EE n'agit pas uniquement comme une récompense alternative et que d'autres composantes de cet environnement semblent plus importantes dans les effets produits de ce dernier. De plus, il est possible qu'il soit nécessaire de combiner la récompense alternative aux autres facteurs enrichissants, comme la nouveauté et l'interaction sociale, pour agir en synergie et potentialiser leurs effets respectifs, alors que, de façon individuelle, leur action n'est pas suffisante pour réduire le comportement de recherche de drogue. En effet, les deux contraintes principales de notre procédure expérimentale sont d'un part de devoir héberger individuellement les rats afin d'évaluer leur réponse comportementale individuelle face à la récompense alternative, et d'autre part de ne pouvoir présenter qu'une seule récompense dans chaque expérience. Une manière de palier à ces contraintes de taille, serait d'utiliser de nouveaux outils expérimentaux plus élaborés, comme par exemple des cages de type « Phenoworld », permettant de suivre le comportement individuel des animaux grâce à des transpondeurs et des outils informatiques puissants au sein d'un environnement semi-naturel et social. Il serait donc intéressant de déterminer si l'accès à une récompense alternative naturelle dans ce type d'environnement, incluant donc la composante sociale, permettrait de réduire le comportement de recherche de cocaïne. Ainsi, bien que les récompenses alternatives permettent une réduction majeure de la prise et de la recherche de drogue lorsqu'elles sont accessibles de façon concomitante à la drogue, nous avons mis en évidence qu'elles ne réduisent pas la rechute lorsqu'elles sont accessibles de façon non-contingente à la procédure d'auto-administration. La translation chez l'Homme laisse entendre que malgré l'efficacité des thérapies contingentes visant à donner une récompense aux patients pour renforcer le comportement d'abstinence, le simple accès à un facteur récompensant dans la vie de l'individu pendant le sevrage ne serait pas suffisant pour promouvoir l'abstinence.

DISCUSSION GENERALE

I. Modifications cérébrales induites lors du sevrage à la cocaïne : aspect vasculaire et métabolique

L'addiction aux drogues est une pathologie psychiatrique chronique caractérisée par un fort taux de rechute. Bien que des avancées importantes aient permis de mieux comprendre les modifications cérébrales induites par les drogues d'abus, les thérapies restent encore limitées. Par conséquent, l'étude des processus cérébraux qui sont impliqués dans les neuro-adaptations à long terme, semble être centrale pour proposer de nouvelles stratégies thérapeutiques. Ce travail de thèse nous a permis d'éclairer les modifications cérébrales induites à long terme suite à la prise chronique de cocaïne pouvant sous-tendre à un fort taux de rechute. Dans un premier temps, nos travaux ont permis de confirmer l'effet délétère de la prise chronique de cocaïne sur le réseau vasculaire cérébral. De plus, nous avons mis en avant la présence d'un réarrangement vasculaire transitoire exclusivement observé dans l'ACC lors du sevrage à court terme. Ces données concordent avec les données cliniques mettant en avant des atteintes vasculaires cérébrales suite à la prise chronique de cocaïne majoritairement localisées au niveau cortical. Enfin, nous suggérons que la réduction de la densité vasculaire de l'ACC pourrait participer à la réduction métabolique corticale observée lors du sevrage précoce dans notre projet « *Etude des modifications à long terme du métabolisme cérébral consécutives à la prise chronique de cocaïne* » ainsi que dans des études pré-cliniques (Gozzi et al., 2001; Calipari et al., 2013) et cliniques (Volkow et al., 1992; Volkow et al., 1993; Volkow et al., 1997c; Goldstein and Volkow, 2002). Cependant, il semblerait que sur le long terme les phénomènes vasculaires et métaboliques deviennent indépendants au vue d'une récupération anatomique tandis qu'aucune récupération métabolique n'est observée.

A travers notre deuxième étude, nous avançons un argument supplémentaire et direct en faveur de la mise en place de modifications de l'activité métabolique cérébrale lors du sevrage à la cocaïne. Nous avons, de plus, mis en avant l'effet à long terme de ces modifications, alors que l'ensemble des études pré-cliniques réalisées chez le rat jusqu'alors ne les ont montré uniquement lors du sevrage précoce (Gozzi et al., 2001; Calipari et al., 2013). Ces données suggèrent donc la mise en place d'adaptations métaboliques lors du sevrage à long terme qui pourraient participer au développement du phénomène

d'incubation du « craving » et jouer ainsi un rôle important dans la précipitation de la rechute. Les modifications du réseau vasculaire et du métabolisme cérébral induites pendant le sevrage pourraient donc contribuer aux déficits associés aux phases précoces du sevrage.

II. Modifications métaboliques induites à long terme, rechute

Le design expérimental que nous avons utilisé, au vue d'étudier l'évolution des neuro-adaptations au cours du sevrage, semble être pertinent pour comprendre le phénomène de l'incubation du « craving » lors du sevrage, phénomène qui semble intimement lié au risque de rechute à long terme (Grimm et al., 2001; Lu et al., 2004a).

Ce phénomène d'incubation du « craving », a été mis en évidence dans un modèle animal consistant à tester le comportement de recherche de drogue, après une courte (1 jour) et une longue (30 jours) période de sevrage, en replaçant les animaux dans le même contexte, et avec les mêmes signaux que ceux présents lors de l'auto-administration de cocaïne (Grimm et al., 2001). Les animaux montrent alors une recherche de drogue plus élevée après 30 jours qu'après 1 jour de sevrage, mettant en évidence une augmentation du « craving » au cours de la période d'abstinence (Grimm et al., 2001; Lu et al., 2004a). Cette recherche de drogue est maximale entre 1 et 3 mois d'abstinence et commence à diminuer après 6 mois (Lu et al., 2004b) mettant en évidence l'existence d'une longue période de vulnérabilité à la rechute. Par ailleurs, ceci montre que les symptômes de sevrage aigu et le phénomène de manque participent peu au « craving ». De façon importante, ce phénomène d'incubation du « craving » a été aussi expérimenté pour d'autres drogues (Shalev et al., 2001; Bienkowski et al., 2004; Shepard et al., 2004), pour des récompenses naturelles telles que la nourriture (Grimm et al., 2002b; Grimm et al., 2011), pour des stimuli aversifs comme la peur conditionnée (Pickens et al., 2009) et a été récemment démontré chez l'Homme (Bedi et al., 2010).

Plusieurs études récentes cherchent à élucider les circuits impliqués dans l'incubation de « craving ». L'une des régions clé impliquée dans ce phénomène est l'amygdale pour laquelle l'incubation du « craving » est associée à une augmentation de la phosphorylation

de la protéine ERK dans la CeA mais pas dans la BLA (Lu et al., 2005b; Pickens et al., 2011). De surcroît, le système glutamatergique au niveau de l'amygdale semble jouer un rôle important dans la modulation de la recherche de drogue puisque l'activation de la voie de signalisation ERK dans la CeA, par un agoniste glutamatergique (NMDA), augmente la recherche de cocaïne (Lu et al., 2003). Ces données suggèrent donc a) un rôle causal entre l'expression de la protéine ERK dans la CeA et le développement de l'incubation du « craving » et b) mettent en avant l'influence du système glutamatergique dans la réponse de l'expression de la protéine ERK dans la CeA suite à l'exposition aux signaux de rappel à long terme (Pickens et al., 2011). L'implication de la composante glutamatergique a également été démontrée par Lu et ses collaborateurs, qui ont mis en évidence une plasticité des récepteurs glutamatergiques évaluée par une augmentation du niveau d'expression des récepteurs GluR1 après 1 et 30 jours de sevrage à la fois dans la BLA et la CeA (Bossert et al., 2005; Lu et al., 2005a). Par ailleurs, des études ont montré que l'inhibition pharmacologique de la CeA diminuait le comportement de recherche de drogue induit par les signaux de rappel uniquement sur le long terme, et non pas sur le court terme, (Xi et al., 2012), tout comme la lésion ou l'inhibition de la BLA (Meil and See, 1996; Stefanik and Kalivas, 2013). L'ensemble de ces travaux met donc en avant le rôle majeur de l'amygdale dans la recherche de drogue induite par les signaux de rappel et dans le phénomène d'incubation du « craving ». Ainsi, l'étude des modifications métaboliques lors du sevrage à la cocaïne, nous a permis d'avancer un argument supplémentaire en faveur du rôle important de l'amygdale dans les modifications cérébrales induites à long terme suite à la prise chronique de cocaïne. En effet, nos données révèlent une augmentation du métabolisme au niveau de l'amygdale dès 7 jours de sevrage qui persiste à long terme (28 jours de sevrage). Nos travaux sont donc en accord avec l'ensemble de la littérature révélant un recrutement important et une activation de cette région lors du développement de l'incubation du « craving » (Lu et al., 2003, 2005, Pickens et al., 2011 pour revue). Ainsi, l'interprétation de nos résultats laisse sous-entendre que, du fait de sa forte implication dans le phénomène d'incubation du « craving », l'amygdale, qui est une région clé, subirait des adaptations et un accroissement de son métabolisme lors du sevrage à la cocaïne. Partant de cette hypothèse, il est plus aisé de comprendre les raisons pour lesquelles l'augmentation de l'activité métabolique n'est restreinte qu'au groupe LgA, représentatif

d'une prise addictive de drogue qui est donc fortement sujet au « craving » et au fort taux de rechute. En effet, dans le groupe ShA, illustrant une prise récréationnelle de cocaïne, l'amygdale subit une réduction du métabolisme qui est rétablie à long terme.

D'autres régions comme le NAc et le PFC ont également été impliquées dans le phénomène d'incubation du « craving ». D'un point de vue moléculaire, une augmentation, dépendante du temps, de l'activité neuronale du NAc, et plus spécifiquement du Core, est associée au phénomène d'incubation du « craving » (Pickens et al., 2011). De plus, l'inhibition pharmacologique de cette région (par un antagoniste des récepteurs dopaminergiques D3) inhibe la recherche de drogue induite par les signaux de rappel après 3 semaines de sevrage (Xi et al., 2012). L'ensemble de ces données suggèrent que, d'un point de vue neuronal, l'incubation du « craving » est sous-jacente à l'activation du NAc et plus spécifiquement du Core. Par ailleurs, une plasticité des récepteurs glutamatergiques de cette région est également associée au phénomène d'incubation du « craving ». En effet, Conrad et ses collaborateurs ont montré une augmentation du nombre de récepteurs AMPA dans le NAc lors du sevrage à long terme, par l'addition de nouveaux récepteurs AMPA dépourvu de la sous-unité GluR2 (Conrad et al., 2008). Cette plasticité synaptique rendrait ainsi le NAc plus sensible à la libération de glutamate lors de l'exposition aux signaux de rappel visant à stimuler le comportement de recherche de drogue. De plus, l'activation de ces récepteurs AMPA est à l'origine de ce comportement de recherche de drogue (Cornish et al., 1999), alors que le blocage de ces derniers par des antagonistes diminue la rechute induite par les signaux de rappel (Cornish et al., 1999). D'autre part, le NAc est également largement impliqué dans la recherche de drogue précipitée par les signaux de rappel. En effet, l'inactivation de cette région chez le rat provoque une diminution du taux de rechute à la cocaïne induite par ces signaux de rappel (Fuchs et al., 2004; Fuchs et al., 2008). De plus, l'administration de DA ou de glutamate directement dans le NAc induit un comportement de recherche de drogue (Cornish et al., 1999).

En ce qui concerne le PFC, la littérature rapporte que l'incubation du « craving » est fortement associée à une augmentation du taux d'expression de la phosphorylation de la protéine ERK dans le PFC ventral, mais faiblement à une augmentation de cette même protéine dans le PFC dorsal (Koya et al., 2009). De plus, l'inactivation ou l'activation

pharmacologique du PFC ventral, uniquement, induit respectivement une réduction ou une augmentation de la recherche de drogue après 30 jours de sevrage (Koya et al., 2009), suggérant un rôle majeur du PFC ventral dans l'incubation du « craving ». Cependant il est important de noter la mise en exergue de la littérature concernant l'implication majoritaire du PFC dorsal dans la recherche de cocaïne induite par les stimuli de rappel. En effet, la lésion de l'ACC dans un modèle de rat ne modifie ni l'acquisition ni le comportement d'auto-administration en comparaison à des rats « sham » contrôles, mais bloque le comportement de recherche de cocaïne induit par ces signaux préalablement associés à la drogue (Weissenborn et al., 1997). De façon similaire, l'inactivation de l'ACC provoque une diminution de la recherche de cocaïne induite par les signaux de rappel (Perry et al., 2010), témoignant de l'implication de cette région dans le comportement de recherche de drogue.

Nos résultats d'imagerie, montrent une diminution du métabolisme du NAc dès 7 jours de sevrage et maintenue à long terme, ainsi qu'un hypo-métabolisme cortical (ACC, OFC) lors du sevrage, suite à la prise chronique de cocaïne. Ces résultats supportent à la fois l'hypothèse de la mise en place d'adaptations cérébrales lors du sevrage et également l'implication centrale de ces régions dans le phénomène de recherche de drogue et d'incubation du « craving » lors de la présentation des signaux de rappel. Ces données complètent l'ensemble des connaissances sur les mécanismes cérébraux sous-jacents au phénomène d'incubation du « craving » *via* une nouvelle approche expérimentale.

Il est important de noter que nous avons effectué l'ensemble de nos analyses en conditions basales sans ré-exposition des animaux au contexte dans lequel ils se sont auto-administrés la drogue, alors que l'ensemble des études actuelles effectuées sur la compréhension des mécanismes cérébraux sous-jacents à l'incubation du « craving » sont réalisées suite au test de recherche de drogue par l'exposition aux signaux de rappel. Ces différences de protocoles sont fondamentales puisqu'il est connu qu'une simple exposition des animaux aux stimuli associés à la drogue induit une activation cérébrale. En effet, la présentation aux animaux de signaux préalablement associés à la drogue est à l'origine de l'activation de la BLA (Ciccocioppo et al., 2001), du PFC (Ciccocioppo et al., 2001) comprenant l'ACC et l'OFC (Thomas et al., 2003) ainsi que du NAc (Weiss et al., 2000). Ces différences de procédure peuvent ainsi expliquer les divergences dans les résultats. Il serait

donc intéressant d'utiliser l'imagerie pour étudier l'activation métabolique suite au test de rechute. La technique d'imagerie par TEP utilisant le ^{18}F FDG est une approche idéale pour étudier l'activité cérébrale pendant la phase éveillée de l'animal. En effet, comme nous l'avons décrit dans la partie matériel et méthode, l'animal est placé librement dans une cage pendant 1 heure après l'injection de ^{18}F FDG, puis un scan de 30 minutes est effectué. Ainsi, dans cette configuration, les valeurs de capture de ^{18}F FDG reflètent l'activation cérébrale des 30-45 minutes précédant le TEP-scan, relatives à la période où l'animal était éveillé et libre de se déplacer dans sa cage. Il serait donc possible de réaliser un test de rechute et immédiatement après de mesurer l'activité métabolique par la technique de TEP. Nous travaillons actuellement en collaboration avec le laboratoire, Imagerie et Cerveau, INSERM U930, de l'université de Tours pour mettre en oeuvre ce type d'expérience.

Enfin, l'ensemble des travaux d'imagerie, réalisé notamment chez l'Homme, ont permis de développer un modèle qui conceptualise l'addiction autour des quatre circuits impliqués dans l'addiction que sont a) la récompense, regroupant la VTA et le NAc, b) la conduite motivationnelle, principalement localisée dans le striatum dorsal c) la mémoire et l'apprentissage regroupant par exemple, l'amygdale, l'hippocampe et le striatum dorsal et, d) le contrôle, localisé au niveau du PFC et de l'ACC et l'OFC (Volkow et al., 2003; Volkow et al., 2011a) (Figure 34). De nombreuses études suggèrent que, dans le cas d'une addiction, la très haute valeur récompensante de la drogue induit une série d'adaptations au niveau de l'ensemble de ces circuits favorisant la mise en place d'une boucle de rétrocontrôle positif, initiée par la consommation de la drogue et potentialisée par l'activation accentuée des circuits de la motivation et de la mémoire. De plus, les modifications d'activité de ces circuits impliquent l'interaction avec d'autres circuits, comme par exemple la régulation de la réponse au stress, incluant entre autre l'amygdale (Volkow et al., 2003; Volkow et al., 2011a).

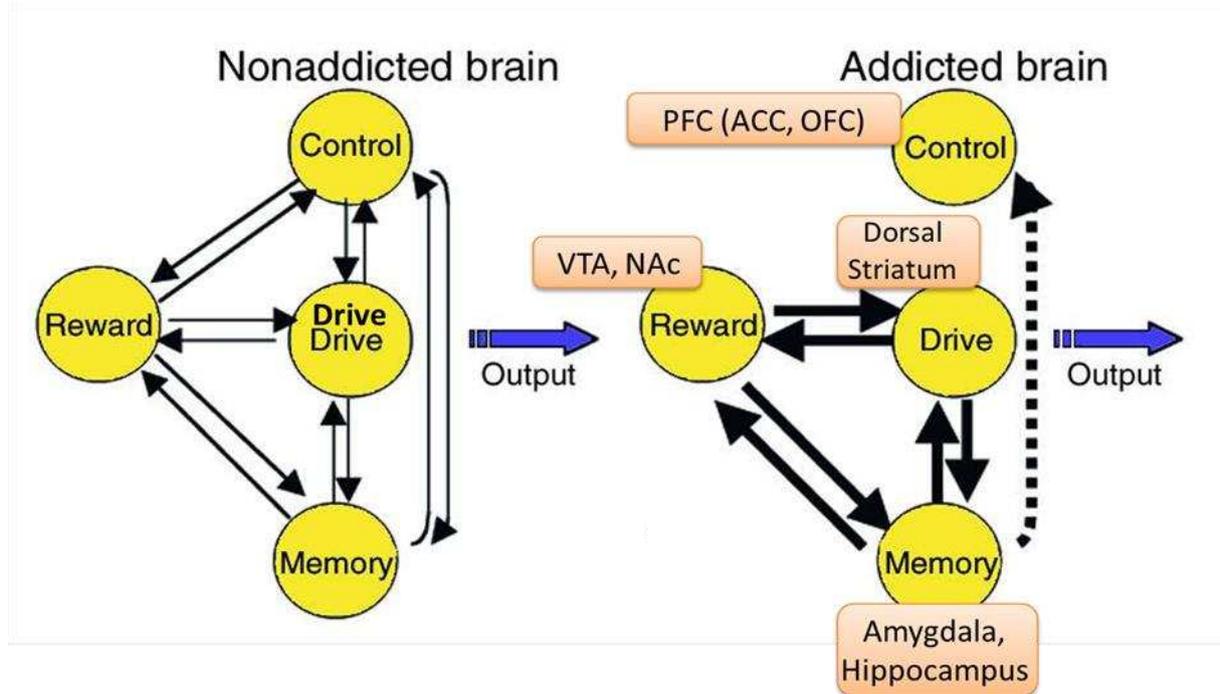


Figure 34 : Modèle proposant un réseau de quatre circuits impliqués dans l'addiction : la récompense (comprenant la VTA et le NAc), la conduite motivationnelle (comprenant le striatum dorsal), la mémoire (comprenant l'amygdale et l'hippocampe) et le contrôle (comprenant le PCF avec l'ACC et l'OFC). L'ensemble des circuits fonctionne conjointement et subit des adaptations lors de la consommation de drogue. Dans le cas de l'addiction, l'augmentation de la valeur renforçante de la drogue au niveau des circuits de la récompense, de la conduite motivationnelle et de la mémoire surmonte le contrôle inhibiteur exercé par le PFC, favorisant alors une boucle de rétrocontrôle positif initiée par la prise de la drogue et perpétuée par le renforcement de l'activation des circuits de la motivation et de la mémoire notamment dans le cas d'une exposition à des stimuli de rappel conduisant à une reprise du comportement addictif lors du sevrage. (D'après Volkow et al., 2003).

Nos résultats illustrant les modifications d'activité métabolique suite à la prise chronique de cocaïne lors de la période de sevrage apportent donc d'un point de vue pré-clinique, un argument supplémentaire appuyant cette théorie. En effet, nos données suggèrent également l'existence d'une réduction du métabolisme dans le « cerveau addict » au niveau des régions du PFC incluant l'ACC et l'OFC. Cette modification induit une perte de l'inhibition du contrôle et potentiellement une conduite compulsive ainsi qu'une augmentation du comportement dirigé par les stimuli associés à la drogue. De plus, nos

résultats révèlent, tout comme dans la théorie développée précédemment, une augmentation de l'activité dans des régions de la récompense, comme la VTA, de la conduite motivationnelle, comme le striatum dorsal, et de la mémoire, comme l'amygdale. Nos données participent ainsi à la compréhension des mécanismes cérébraux sous-jacents au comportement addictif. Elles suggèrent la mise en place de neuro-adaptations induisant un dérèglement des fonctions cérébrales physiologiques, provoquant une réduction des fonctions de contrôle du PFC ainsi qu'une sur-stimulation des circuits neuronaux jouant un rôle central dans les conduites addictives (récompense, conduite motivationnelle, mémoire).

III. Implication du système vasculaire dans les modifications métaboliques induites à long terme

L'un des objectifs de l'ensemble de ces travaux était de déterminer, au travers d'une procédure expérimentale commune, si les modifications métaboliques induites par la prise de cocaïne développées pendant la phase de sevrage pouvaient être le reflet des modifications du réseau vasculaire à long terme, et inversement. De manière générale, nos résultats montrent que, les modulations métaboliques mesurées pendant le sevrage ne sont pas liées à une adaptation vasculaire. En revanche pour l'ACC, et uniquement après une courte période de sevrage, les modifications de l'activité métabolique et les modifications vasculaires vont dans la même direction, c'est-à-dire une réduction induite par la prise excessive de cocaïne. Ainsi, nos données suggèrent que la contribution du système vasculaire dans les modifications métaboliques reste très limitée. Ainsi, ces variations d'activités métaboliques mesurées reflètent une modulation de l'activité neuronale plutôt qu'un réarrangement du réseau vasculaire. Par conséquent, dans notre étude, les neuroadaptations observées lors du sevrage semblent être indépendantes. Il est également possible que notre méthode de quantification des changements du réseau vasculaire ne soit pas suffisamment sensible pour détecter d'éventuelles modifications de la vascularisation ou des changements au niveau du flux sanguin. D'autres techniques telles que le doppler, pourraient apporter des informations complémentaires à cette question.

IV. L'exposition à une récompense alternative ne réduit pas le comportement de recherche de cocaïne

L'addiction aux drogues est une maladie psychiatrique dont la prise en charge thérapeutique est aujourd'hui encore limitée. En effet, bien que certaines stratégies de substitution pharmacologiques soient aujourd'hui utilisées en clinique (comme par exemple les substituts nicotiques ou la méthadone), aucun traitement n'est actuellement connu pour avoir une réelle efficacité sur le long terme.

Depuis quelques années, de nombreuses études se sont mises en place au vue de mieux comprendre l'influence environnementale dans les comportements addictifs ainsi que dans son potentiel thérapeutique. Plusieurs études cliniques mettent aujourd'hui en avant que la stimulation environnementale des patients dépendants, par la pratique sportive, la musique ou encore la méditation, induit des effets bénéfiques sur les comportements addictifs. Ceci suggérant ainsi le fort potentiel thérapeutique de cette stimulation. Parallèlement, les recherches pré-cliniques actuelles ont largement démontré que l'exposition à des conditions de vie stimulantes, modélisée en laboratoire par l'EE, a un réel effet protecteur envers l'addiction aux drogues. Plus précisément, au sein de mon laboratoire nous avons démontré qu'en plus de son effet préventif, l'exposition à l'EE, pendant le sevrage, possède un effet curatif sur le comportement de recherche de cocaïne (Chauvet et al., 2009). Néanmoins, la compréhension des mécanismes sous-jacents à cet effet protecteur nécessite encore d'être approfondi. Dans la deuxième partie de ma thèse, nous avons souhaité déterminer si l'effet « anti-craving » de l'EE passait par une action de type « récompense alternative ». Nos travaux ont mis en évidence que l'exposition à une simple récompense alternative pendant le sevrage ne permet pas de diminuer la recherche de cocaïne contrairement à l'EE. Ceci suggère donc que ce type d'environnement n'agit pas exclusivement comme une récompense alternative mais que d'autres composantes comme par exemple, l'interaction sociale ou la nouveauté soient plus importantes dans les effets produits par l'EE. De plus, il est possible d'envisager que l'action combinée de l'ensemble des composantes de l'EE (récompense alternative, interaction sociale, nouveauté...) agissant en

synergie permet à l'EE d'avoir un effet « anti-craving » mais qu'individuellement ces composantes n'aient pas une action suffisante.

Comme explicité précédemment, il existe une grande variabilité dans la course effectuée par les rats lors du sevrage. Il serait donc intéressant de mieux caractériser le comportement des rats face à l'activité physique. Tout d'abord, nous aimerions savoir si à travers cette grande variabilité il ne se dessinerait pas deux populations d'animaux ; l'une que l'on pourrait considérer comme faiblement coureur et l'autre comme hautement coureur. Ainsi, la caractérisation de ces deux populations d'animaux nous permettrait de déterminer si la prise de cocaïne peut prédire le comportement de course mais également si le profil de course peut influencer le comportement de recherche de cocaïne. Ceci nous permettrait a) de mieux caractériser le phénotype comportemental des animaux face à une récompense alternative suite à la prise chronique de cocaïne et b) d'affiner la compréhension de l'effet de la pratique physique sur le comportement de recherche de drogue. Pour ce faire, il est nécessaire d'effectuer des expériences complémentaires afin d'augmenter l'effectif des animaux.

V. Perspectives

A. Effets de l'exposition à l'EE sur le métabolisme cérébral

Nous avons déjà démontré au sein de mon laboratoire que l'exposition à l'EE pendant le sevrage permet de réduire le risque de rechute à la cocaïne. Notre hypothèse de travail sous-jacente à l'effet bénéfique de l'EE est que l'exposition à l'EE permettrait d'éliminer, ou de contre-carrer, les neuro-adaptations induites par la prise chronique de cocaïne. Ainsi, dans le but de mieux caractériser les mécanismes cérébraux sous-jacents à l'effet « anti-craving » de l'EE, nous aimerions tester en parallèle du projet « *Etude des modifications à long terme du métabolisme cérébral consécutives à la prise chronique de cocaïne* » que nous avons menée, si l'exposition à l'EE pendant l'abstinence pourrait normaliser l'activité métabolique cérébrale observée lors du sevrage à la cocaïne. Notre hypothèse de travail est que la prise chronique de drogue et plus spécifiquement de cocaïne

induit des neuro-adaptations cérébrales durables que nous pouvons définir comme des « traces » de la mémoire de la drogue. Cette hypothèse est soutenue par nos travaux qui mettent en avant des modifications de l'activité métabolique dans plusieurs régions cérébrales lors du sevrage à long terme. L'effet curatif de l'EE semblerait donc passer par une normalisation de l'activité cérébrale. En effet, nous avons mis en évidence que l'exposition à l'EE pendant le sevrage permet de réduire la sensibilisation comportementale et la préférence de place à la cocaïne, conjointement à la réduction de l'expression de la protéine c-fos dans de nombreuses régions jouant un rôle important dans l'addiction comme l'ACC, l'OFC, le CPU, le NAc, la VTA et l'amygdale (Solinas et al., 2008; Chauvet et al., 2011a). Ainsi, l'utilisation d'une technique de neuro-imagerie nous permettra de déterminer *in vivo* et grâce à une analyse sur cerveau entier si l'exposition à l'EE pendant le sevrage, suite à l'auto-administration chronique de cocaïne, permet de rétablir de façon globale l'activité métabolique cérébrale basale.

Par ailleurs, nos travaux ont montré que l'exposition à l'EE ne protège pas contre la rechute induite par la cocaïne (Chauvet et al., 2009). De plus, si l'exposition à l'EE est interrompue, l'effet « anti-craving » de ce dernier disparaît (Chauvet et al., 2012). Il semblerait donc que la prise chronique de cocaïne engendrerait des modifications cérébrales, comme une mémoire de la drogue, qui ne peuvent pas être totalement effacées par l'EE. Il serait donc possible que l'EE agisse de façon plus ciblée, comme un régulateur des modifications induites par la drogue. Ainsi grâce à une approche par neuro-imagerie il sera possible d'évaluer si l'EE agit et rétablit le fonctionnement de l'ensemble du cerveau ou plus spécifiquement de certaines régions. Par exemple, nous avons suggéré que l'EE agirait comme un mécanisme anti-stress et donc que son effet positif serait sous-jacent à une diminution du niveau de stress, rendant ainsi les animaux moins vulnérables aux comportements addictifs (Solinas et al., 2010a). Par ailleurs, des expériences non publiées, conduites au sein du laboratoire, et auxquelles j'ai participé suggèrent que les effets « anti-craving » de l'EE ne passent pas par une amélioration des déficits cognitifs induits par les psychostimulants. Il serait donc possible d'imaginer que les effets de l'EE passent par un rétablissement de l'activité métabolique basale de régions impliquées dans le stress telles que l'amygdale sans affecter l'hypo-fonctionnalité des régions plus impliquées dans la cognition telles que l'ACC et l'OFC. Cette approche expérimentale apporterait une nouvelle

vision des mécanismes cérébraux pouvant être recrutés pour lutter contre les conséquences de la prise chronique de cocaïne et ainsi limiter les risques de rechute.

B. De nouveaux modèles animaux d'addiction

L'ensemble de nos expériences a été conduit sur un modèle animal d'addiction d'escalade de la prise de drogue. Ce modèle est basé sur l'une des caractéristiques fondamentales de l'addiction qui est la perte progressive de contrôle de la prise de drogue et par conséquent une escalade de cette prise. Bien que la perte de contrôle soit un symptôme important des comportements addictifs, et que ce modèle ait permis des avancées majeures dans la compréhension de l'addiction, il ne prend en compte qu'un seul symptôme. En effet, les différences inter-individuelles des animaux face à la drogue ne sont pas prises en considération puisque l'ensemble des animaux suivant cette procédure développent une escalade de la prise. Ces dernières années, de nouveaux modèles animaux ont été développés pour prendre en considération ces différences inter-individuelles, mais également des changements comportementaux ressemblant à ceux observés dans l'addiction chez l'Homme basés sur le DSM-V (par exemple, l'augmentation de la motivation, la poursuite de la prise en dépit des conséquences négatives, la diminution des activités alternatives...). Partant de cette idée, pour obtenir un modèle plus complet, en plus de s'auto-administrer de la drogue, les animaux doivent également développer des signes comportementaux pouvant être apparentés aux critères nécessaires à l'établissement du diagnostic d'une addiction chez l'Homme. Par exemple, l'un des nouveaux modèles développés est basé sur l'idée selon laquelle dans la majorité des modèles d'auto-administration les animaux ont un libre accès à la drogue avec très peu d'options et d'activités alternatives (Lenoir et al., 2007). Ceci ne reflète guère l'environnement humain, composé d'ensemble de facteurs attractifs et d'activités stimulantes qui constitue des choix et des options plus valorisant pour l'individu que la prise de drogue. Partant de ce constat, Lenoir et ses collaborateurs ont proposé un modèle animal de choix chez le rat, permettant à l'animal de choisir au sein de la cage d'auto-administration entre une récompense alternative très renforçante (une solution sucrée) et la cocaïne (Lenoir et al., 2007). Après

une période d'apprentissage, permettant aux animaux d'associer spécifiquement chacun des leviers à une récompense particulière (solution sucrée ou cocaïne), les rats ont la possibilité de choisir de façon exclusive, c'est-à-dire que le choix d'une récompense exclut de façon obligatoire la possibilité d'avoir l'autre récompense lors de la même phase. Ainsi, les rats montrant un choix préférentiel pour la cocaïne seront considérés comme la population d'animaux dépendante en comparaison aux rats avec une préférence pour la solution sucrée.

Un autre modèle est basé sur le critère de diagnostic selon lequel « le sujet continue de reprendre la drogue, malgré la compréhension et la représentation des conséquences négatives ». Ce modèle associe une punition à l'auto-administration de drogue (Pelloux et al., 2007). Une fois le comportement opérant stabilisé, les animaux reçoivent cette punition, sous forme d'un choc électrique, suite à la prise de drogue. L'objectif étant d'apprendre aux animaux que leur comportement opérant est associé à des conséquences néfastes. Ainsi, les animaux continuant la poursuite de la prise de drogue malgré l'effet négatif de la punition seront considérés comme la population dépendante, alors que les rats qui arrêtent leur consommation seront considérés comme résistant à l'addiction.

Enfin, un autre modèle développé par Deroche-Gamonet et ses collaborateurs est basé sur l'apparition de plusieurs symptômes pouvant être apparentés aux critères diagnostiques du DSM-V, sur le même animal conjointement à une prise prolongée de drogue (Deroche-Gamonet et al., 2004). Ainsi, le modèle des 3 critères consiste à déterminer s'il est possible de voir se développer chez le même animal 3 critères parmi l'ensemble de ceux permettant le diagnostic d'une addiction chez l'Homme, soit : a) la difficulté à contrôler sa prise de drogue ou arrêter sa consommation, b) une motivation importante pour la drogue avec une augmentation du temps passé à rechercher et consommer la drogue, c) la poursuite de la prise malgré les conséquences négatives néfastes. Le premier critère est évalué par la persistance des animaux à rechercher la drogue lors de périodes, incluses dans des sessions d'auto-administration, où celle-ci n'est pas indisponible. Le second critère est mesuré grâce à un test de progressive ratio et enfin le troisième critère est évalué par la persistance des animaux à effectuer un comportement opérant pour obtenir la drogue bien qu'elle soit suivie d'une punition. Les rats répondant aux 3 critères sont considérés comme

dépendants, ceux qui ne répondent à aucun des critères sont considérés comme résistant à l'addiction à la cocaïne alors que les animaux répondant à 1 ou 2 critères restent difficiles à caractériser.

Il serait donc intéressant d'effectuer ces mêmes approches expérimentales dans l'un de ces modèles animaux prenant en compte les différences inter-individuelles et les critères de diagnostic supplémentaires attribués à l'addiction chez l'Homme. Ceci afin d'évaluer les modifications cérébrales à long terme induites par la prise de cocaïne, de déterminer si nous obtiendrions des effets identiques ou non, et enfin, si les modifications observées pourraient être accentuées. Il est tout de même important de noter que l'utilisation de ces modèles, permettant d'étudier la neurobiologie de l'addiction, n'est pas dépourvue d'inconvénients. D'un point de vue pratique, le fait d'étudier des phénotypes comportementaux s'exprimant dans une minorité de la population, implique la nécessité d'utiliser un nombre nettement plus élevé d'animaux dans ces modèles en comparaison aux modèles plus classiques. L'un des inconvénients majeur de ces modèles, est la difficulté d'établir de bons contrôles prenant en considération une prise différentielle de drogue. En effet, les rats résistants aux chocs électriques ou choisissant la drogue plus que le sucre auront des niveaux d'exposition différents aux drogues par rapport aux animaux résistants aux chocs et préférant le sucre. Il paraît donc difficile d'estimer la contribution de cette prise de drogue différentielle sur les changements neurobiologiques par rapport aux caractéristiques intrinsèques de ces animaux. Enfin, il nous semble que chacun de ces modèles pourrait mettre en évidence un seul type de sous-population vulnérable. Au contraire, chez l'Homme, différents types de vulnérabilité pourraient exister. Ainsi, il sera fondamentale de confronter les résultats obtenus dans notre étude sur les neuroadaptations à ceux issus de ces différents modèles, dans le but de mieux comprendre les mécanismes de l'addiction.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

-A-

- Adams E, Klug J, Quast M, Stairs DJ Effects of environmental enrichment on nicotine-induced sensitization and cross-sensitization to d-amphetamine in rats. *Drug Alcohol Depend* 129:247-253.
- Adams E, Klug J, Quast M, Stairs DJ (2013) Effects of environmental enrichment on nicotine-induced sensitization and cross-sensitization to d-amphetamine in rats. *Drug Alcohol Depend* 129:247-253.
- Ahmed SH (2005) Imbalance between drug and non-drug reward availability: a major risk factor for addiction. *Eur J Pharmacol* 526:9-20.
- Ahmed SH (2012) The science of making drug-addicted animals. *Neuroscience* 211:107-125.
- Ahmed SH, Koob GF (1998) Transition from moderate to excessive drug intake: change in hedonic set point. *Science* 282:298-300.
- Ahmed SH, Lenoir M, Guillem K (2013a) Neurobiology of addiction versus drug use driven by lack of choice. *Curr Opin Neurobiol* 23:581-587.
- Ahmed SH, Guillem K, Vandaele Y (2013b) Sugar addiction: pushing the drug-sugar analogy to the limit. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 16:434-439.
- Ahmed SH, Lenoir M, Guillem K (2013c) Neurobiology of addiction versus drug use driven by lack of choice. *Current opinion in neurobiology*.
- Ahmed SH, Guillem K, Vandaele Y (2013d) Sugar addiction: pushing the drug-sugar analogy to the limit. *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care* 16:434-439.
- Ahmed SH, Kenny PJ, Koob GF, Markou A (2002a) Neurobiological evidence for hedonic allostasis associated with escalating cocaine use. *Nat Neurosci* 5:625-626.
- Ahmed SH, Kenny PJ, Koob GF, Markou A (2002b) Neurobiological evidence for hedonic allostasis associated with escalating cocaine use. *Nature neuroscience* 5:625-626.
- Alcaro A, Huber R, Panksepp J (2007) Behavioral functions of the mesolimbic dopaminergic system: an affective neuroethological perspective. *Brain Res Rev* 56:283-321.
- Alheid GF (2003) Extended amygdala and basal forebrain. *Ann N Y Acad Sci* 985:185-205.
- Avena NM, Rada P, Hoebel BG (2008a) Evidence for sugar addiction: behavioral and neurochemical effects of intermittent, excessive sugar intake. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 32:20-39.
- Avena NM, Rada P, Hoebel BG (2008b) Evidence for sugar addiction: behavioral and neurochemical effects of intermittent, excessive sugar intake. *Neurosci Biobehav Rev* 32:20-39.

-B-

- Bardo MT, Valone JM (1994) Morphine-conditioned analgesia using a taste cue: dissociation of taste aversion and analgesia. *Psychopharmacology (Berl)* 114:269-274.
- Bardo MT, Rowlett JK, Harris MJ (1995a) Conditioned place preference using opiate and stimulant drugs: a meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev* 19:39-51.
- Bardo MT, Klebaue JE, Valone JM, Deaton C (2001) Environmental enrichment decreases intravenous self-administration of amphetamine in female and male rats. *Psychopharmacology (Berl)* 155:278-284.

- Bardo MT, Bowling SL, Rowlett JK, Manderscheid P, Buxton ST, Dwoskin LP (1995b) Environmental enrichment attenuates locomotor sensitization, but not in vitro dopamine release, induced by amphetamine. *Pharmacol Biochem Behav* 51:397-405.
- Barroso-Moguel R, Villeda-Hernandez J, Mendez-Armenta M, Rios C (1997) Brain capillary lesions produced by cocaine in rats. *Toxicol Lett* 92:9-14.
- Bassareo V, Di Chiara G (1997) Differential influence of associative and nonassociative learning mechanisms on the responsiveness of prefrontal and accumbal dopamine transmission to food stimuli in rats fed ad libitum. *J Neurosci* 17:851-861.
- Bassareo V, De Luca MA, Di Chiara G (2002) Differential Expression of Motivational Stimulus Properties by Dopamine in Nucleus Accumbens Shell versus Core and Prefrontal Cortex. *J Neurosci* 22:4709-4719.
- Bedi G, Preston KL, Epstein DH, Heishman SJ, Marrone GF, Shaham Y, de Wit H (2010) Incubation of cue-induced cigarette craving during abstinence in human smokers. *Biol Psychiatry* 69:708-711.
- Belanger M, Allaman I, Magistretti PJ (2011) Brain energy metabolism: focus on astrocyte-neuron metabolic cooperation. *Cell Metab* 14:724-738.
- Beveridge TJ, Smith HR, Nader MA, Porrino LJ (2009) Abstinence from chronic cocaine self-administration alters striatal dopamine systems in rhesus monkeys. *Neuropsychopharmacology* 34:1162-1171.
- Beveridge TJ, Smith HR, Nader SH, Nader MA, Porrino LJ (2014) Functional consequences of cocaine re-exposure after discontinuation of cocaine availability. *Neuropharmacology* 85:528-537.
- Bevins RA, Bardo MT (1999a) Conditioned increase in place preference by access to novel objects: antagonism by MK-801. *Behav Brain Res* 99:53-60.
- Bevins RA, Bardo MT (1999b) Conditioned increase in place preference by access to novel objects: antagonism by MK-801. *Behavioural brain research* 99:53-60.
- Bevins RA, Besheer J (2005) Novelty reward as a measure of anhedonia. *Neurosci Biobehav Rev* 29:707-714.
- Bi JJ, Yi L (2014) Effects of integrins and integrin alphavbeta3 inhibitor on angiogenesis in cerebral ischemic stroke. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 34:299-305.
- Bienkowski P, Rogowski A, Korkosz A, Mierzejewski P, Radwanska K, Kaczmarek L, Bogucka-Bonikowska A, Kostowski W (2004) Time-dependent changes in alcohol-seeking behaviour during abstinence. *Eur Neuropsychopharmacol* 14:355-360.
- Blum K, Noble EP, Sheridan PJ, Montgomery A, Ritchie T, Jagadeeswaran P, Nogami H, Briggs AH, Cohn JB (1990) Allelic association of human dopamine D2 receptor gene in alcoholism. *Jama* 263:2055-2060.
- Bocarsly ME, Barson JR, Hauca JM, Hoebel BG, Leibowitz SF, Avena NM (2012a) Effects of perinatal exposure to palatable diets on body weight and sensitivity to drugs of abuse in rats. *Physiology & behavior* 107:568-575.
- Bocarsly ME, Barson JR, Hauca JM, Hoebel BG, Leibowitz SF, Avena NM (2012b) Effects of perinatal exposure to palatable diets on body weight and sensitivity to drugs of abuse in rats. *Physiol Behav* 107:568-575.
- Bossert JM, Ghitza UE, Lu L, Epstein DH, Shaham Y (2005) Neurobiology of relapse to heroin and cocaine seeking: an update and clinical implications. *Eur J Pharmacol* 526:36-50.
- Bowers MS, Kalivas PW (2003) Forebrain astroglial plasticity is induced following withdrawal from repeated cocaine administration. *Eur J Neurosci* 17:1273-1278.

- Bowling SL, Bardo MT (1994) Locomotor and rewarding effects of amphetamine in enriched, social, and isolate reared rats. *Pharmacol Biochem Behav* 48:459-464.
- Bowling SL, Rowlett JK, Bardo MT (1993) The effect of environmental enrichment on amphetamine-stimulated locomotor activity, dopamine synthesis and dopamine release. *Neuropharmacology* 32:885-893.
- Bradberry CW, Roth RH (1989) Cocaine increases extracellular dopamine in rat nucleus accumbens and ventral tegmental area as shown by in vivo microdialysis. *Neurosci Lett* 103:97-102.
- Broderick PA, Rahni DN, Zhou Y (2003) Acute and subacute effects of risperidone and cocaine on accumbens dopamine and serotonin release using in vivo microvoltammetry on line with open-field behavior. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 27:1037-1054.
- Brown RA, Abrantes AM, Read JP, Marcus BH, Jakicic J, Strong DR, Oakley JR, Ramsey SE, Kahler CW, Stuart GG, Dubreuil ME, Gordon AA (2010) A Pilot Study of Aerobic Exercise as an Adjunctive Treatment for Drug Dependence. *Ment Health Phys Act* 3:27-34.

-C-

- Calipari ES, Beveridge TJ, Jones SR, Porrino LJ (2013) Withdrawal from extended-access cocaine self-administration results in dysregulated functional activity and altered locomotor activity in rats. *Eur J Neurosci* 38:3749-3757.
- Cantin L, Lenoir M, Augier E, Vanhille N, Dubreucq S, Serre F, Vouillac C, Ahmed SH (2010) Cocaine is low on the value ladder of rats: possible evidence for resilience to addiction. *PLoS One* 5:e11592.
- Capriles N, Rodaros D, Sorge RE, Stewart J (2003) A role for the prefrontal cortex in stress- and cocaine-induced reinstatement of cocaine seeking in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 168:66-74.
- Carelli RM (2004) Nucleus accumbens cell firing and rapid dopamine signaling during goal-directed behaviors in rats. *Neuropharmacology* 47 Suppl 1:180-189.
- Carroll ME (1993) The economic context of drug and non-drug reinforcers affects acquisition and maintenance of drug-reinforced behavior and withdrawal effects. *Drug Alcohol Depend* 33:201-210.
- Carroll ME, Stotz DC (1983) Oral d-amphetamine and ketamine self-administration by rhesus monkeys: effects of food deprivation. *J Pharmacol Exp Ther* 227:28-34.
- Carroll ME, Lac ST (1993a) Autoshaping i.v. cocaine self-administration in rats: effects of nondrug alternative reinforcers on acquisition. *Psychopharmacology (Berl)* 110:5-12.
- Carroll ME, Lac ST (1993b) Autoshaping i.v. cocaine self-administration in rats: effects of nondrug alternative reinforcers on acquisition. *Psychopharmacology* 110:5-12.
- Carroll ME, Lac ST, Nygaard SL (1989) A concurrently available nondrug reinforcer prevents the acquisition or decreases the maintenance of cocaine-reinforced behavior. *Psychopharmacology (Berl)* 97:23-29.
- Carroll ME, Rodefer JS, Rawleigh JM (1995) Concurrent self-administration of ethanol and an alternative nondrug reinforcer in monkeys: effects of income (session length) on demand for drug. *Psychopharmacology (Berl)* 120:1-9.
- Carroll ME, Anker JJ, Perry JL (2009) Modeling risk factors for nicotine and other drug abuse in the preclinical laboratory. *Drug and alcohol dependence* 104 Suppl 1:S70-78.

- Chang RA, Rossi NF (1995) Intermittent cocaine use associated with recurrent dissection of the thoracic and abdominal aorta. *Chest* 108:1758-1762.
- Chauvet C, Lardeux V, Jaber M, Solinas M (2011a) Brain regions associated with the reversal of cocaine conditioned place preference by environmental enrichment. *Neuroscience*.
- Chauvet C, Lardeux V, Jaber M, Solinas M (2011b) Brain regions associated with the reversal of cocaine conditioned place preference by environmental enrichment. *Neuroscience* 184:88-96.
- Chauvet C, Goldberg SR, Jaber M, Solinas M (2012) Effects of environmental enrichment on the incubation of cocaine craving. *Neuropharmacology* 63:635-641.
- Chauvet C, Lardeux V, Goldberg SR, Jaber M, Solinas M (2009) Environmental enrichment reduces cocaine seeking and reinstatement induced by cues and stress but not by cocaine. *Neuropsychopharmacology* 34:2767-2778.
- Chen BT, Yau HJ, Hatch C, Kusumoto-Yoshida I, Cho SL, Hopf FW, Bonci A (2013) Rescuing cocaine-induced prefrontal cortex hypoactivity prevents compulsive cocaine seeking. *Nature* 496:359-362.
- Childress AR, Mozley PD, McElgin W, Fitzgerald J, Reivich M, O'Brien CP (1999) Limbic activation during cue-induced cocaine craving. *Am J Psychiatry* 156:11-18.
- Church WH, Justice JB, Jr., Byrd LD (1987) Extracellular dopamine in rat striatum following uptake inhibition by cocaine, nomifensine and benztropine. *Eur J Pharmacol* 139:345-348.
- Ciccocioppo R, Sanna PP, Weiss F (2001) Cocaine-predictive stimulus induces drug-seeking behavior and neural activation in limbic brain regions after multiple months of abstinence: reversal by D(1) antagonists. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98:1976-1981.
- Clark KH, Wiley CA, Bradberry CW (2013) Psychostimulant abuse and neuroinflammation: emerging evidence of their interconnection. *Neurotox Res* 23:174-188.
- Colantuoni C, Rada P, McCarthy J, Patten C, Avena NM, Chadeayne A, Hoebel BG (2002) Evidence that intermittent, excessive sugar intake causes endogenous opioid dependence. *Obes Res* 10:478-488.
- Comings DE, Blum K (2000) Reward deficiency syndrome: genetic aspects of behavioral disorders. *Prog Brain Res* 126:325-341.
- Conrad KL, Tseng KY, Uejima JL, Reimers JM, Heng LJ, Shaham Y, Marinelli M, Wolf ME (2008) Formation of accumbens GluR2-lacking AMPA receptors mediates incubation of cocaine craving. *Nature* 454:118-121.
- Cornish JL, Duffy P, Kalivas PW (1999) A role for nucleus accumbens glutamate transmission in the relapse to cocaine-seeking behavior. *Neuroscience* 93:1359-1367.
- Cosgrove KP, Hunter RG, Carroll ME (2002a) Wheel-running attenuates intravenous cocaine self-administration in rats: sex differences. *Pharmacol Biochem Behav* 73:663-671.
- Cosgrove KP, Hunter RG, Carroll ME (2002b) Wheel-running attenuates intravenous cocaine self-administration in rats: sex differences. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* 73:663-671.
- Crawford FC, Wood ML, Wilson SE, Mathura VS, Hollen TR, Geall F, Kolippakkam DN, Mullan MJ (2006) Cocaine induced inflammatory response in human neuronal progenitor cells. *J Neurochem* 97:662-674.
- Cregler LL, Mark H (1986) Medical complications of cocaine abuse. *N Engl J Med* 315:1495-1500.

- Cryan JF, Markou A, Lucki I (2002a) Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacol Sci* 23:238-245.
- Cryan JF, Markou A, Lucki I (2002b) Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends in pharmacological sciences* 23:238-245.

-D-

- Dabbouseh NM, Ardelt A (2011) Cocaine mediated apoptosis of vascular cells as a mechanism for carotid artery dissection leading to ischemic stroke. *Med Hypotheses* 77:201-203.
- Dackis CA, O'Brien CP (2001) Cocaine dependence: a disease of the brain's reward centers. *J Subst Abuse Treat* 21:111-117.
- Daniel JC, Huynh TT, Zhou W, Kougiyas P, El Sayed HF, Huh J, Coselli JS, Lin PH, LeMaire SA (2007) Acute aortic dissection associated with use of cocaine. *J Vasc Surg* 46:427-433.
- Daras M, Tuchman AJ, Marks S (1991) Central nervous system infarction related to cocaine abuse. *Stroke* 22:1320-1325.
- De Bellis MD (2002) Developmental traumatology: a contributory mechanism for alcohol and substance use disorders. *Psychoneuroendocrinology* 27:155-170.
- De Wit H, Wise RA (1977) Blockade of cocaine reinforcement in rats with the dopamine receptor blocker pimozide, but not with the noradrenergic blockers phentolamine or phenoxybenzamine. *Can J Psychol* 31:195-203.
- Deminier JM, Taghzouti K, Tassin JP, Le Moal M, Simon H (1988) Increased sensitivity to amphetamine and facilitation of amphetamine self-administration after 6-hydroxydopamine lesions of the amygdala. *Psychopharmacology (Berl)* 94:232-236.
- Deroche-Gamonet V, Belin D, Piazza PV (2004) Evidence for addiction-like behavior in the rat. *Science* 305:1014-1017.
- Di Chiara G (2002) Nucleus accumbens shell and core dopamine: differential role in behavior and addiction. *Behav Brain Res* 137:75-114.
- Di Chiara G, Bassareo V (2007) Reward system and addiction: what dopamine does and doesn't do. *Current opinion in pharmacology* 7:69-76.

-E-

- El Rawas R, Thiriet N, Lardeux V, Jaber M, Solinas M (2009) Environmental enrichment decreases the rewarding but not the activating effects of heroin. *Psychopharmacology (Berl)* 203:561-570.
- Elwafi HM, Witkiewitz K, Mallik S, Thornhill TAt, Brewer JA (2013) Mindfulness training for smoking cessation: moderation of the relationship between craving and cigarette use. *Drug Alcohol Depend* 130:222-229.
- Epstein DH, Preston KL, Stewart J, Shaham Y (2006) Toward a model of drug relapse: an assessment of the validity of the reinstatement procedure. *Psychopharmacology* 189:1-16.
- Erb S, Salmaso N, Rodaros D, Stewart J (2001) A role for the CRF-containing pathway from central nucleus of the amygdala to bed nucleus of the stria terminalis in the stress-induced reinstatement of cocaine seeking in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 158:360-365.

- Everitt BJ, Robbins TW (2005) Neural systems of reinforcement for drug addiction: from actions to habits to compulsion. *Nat Neurosci* 8:1481-1489.
- Everitt BJ, Morris KA, O'Brien A, Robbins TW (1991) The basolateral amygdala-ventral striatal system and conditioned place preference: further evidence of limbic-striatal interactions underlying reward-related processes. *Neuroscience* 42:1-18.
- Everitt BJ, Hutcheson DM, Ersche KD, Pelloux Y, Dalley JW, Robbins TW (2007) The orbital prefrontal cortex and drug addiction in laboratory animals and humans. *Ann N Y Acad Sci* 1121:576-597.
- Everson ES, Daley AJ, Ussher M (2006) Does exercise have an acute effect on desire to smoke, mood and withdrawal symptoms in abstaining adolescent smokers? *Addict Behav* 31:1547-1558.

-F-

- Fattore L, Puddu MC, Picciau S, Cappai A, Fratta W, Serra GP, Spiga S (2002) Astroglial in vivo response to cocaine in mouse dentate gyrus: a quantitative and qualitative analysis by confocal microscopy. *Neuroscience* 110:1-6.
- Febo M, Segarra AC, Tenney JR, Brevard ME, Duong TQ, Ferris CF (2004) Imaging cocaine-induced changes in the mesocorticolimbic dopaminergic system of conscious rats. *J Neurosci Methods* 139:167-176.
- Ferris MJ, Mateo Y, Roberts DC, Jones SR (2011) Cocaine-insensitive dopamine transporters with intact substrate transport produced by self-administration. *Biol Psychiatry* 69:201-207.
- Fotros A, Casey KF, Larcher K, Verhaeghe JA, Cox SM, Gravel P, Reader AJ, Dagher A, Benkelfat C, Leyton M (2013) Cocaine cue-induced dopamine release in amygdala and hippocampus: a high-resolution PET [(1)(8)F]fallypride study in cocaine dependent participants. *Neuropsychopharmacology* 38:1780-1788.
- Fuchs RA, Ramirez DR, Bell GH (2008) Nucleus accumbens shell and core involvement in drug context-induced reinstatement of cocaine seeking in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 200:545-556.
- Fuchs RA, Evans KA, Parker MC, See RE (2004) Differential involvement of the core and shell subregions of the nucleus accumbens in conditioned cue-induced reinstatement of cocaine seeking in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 176:459-465.

-G-

- Garavan H, Pankiewicz J, Bloom A, Cho JK, Sperry L, Ross TJ, Salmeron BJ, Risinger R, Kelley D, Stein EA (2000) Cue-induced cocaine craving: neuroanatomical specificity for drug users and drug stimuli. *Am J Psychiatry* 157:1789-1798.
- Giorgetti M, Zhdanova IV (2000) Chronic cocaine treatment induces dysregulation in the circadian pattern of rats' feeding behavior. *Brain Res* 877:170-175.
- Gipson CD, Beckmann JS, El-Maraghi S, Marusich JA, Bardo MT Effect of environmental enrichment on escalation of cocaine self-administration in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 214:557-566.
- Gipson CD, Beckmann JS, El-Maraghi S, Marusich JA, Bardo MT (2011) Effect of environmental enrichment on escalation of cocaine self-administration in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 214:557-566.

- Giros B, Jaber M, Jones SR, Wightman RM, Caron MG (1996) Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter. *Nature* 379:606-612.
- Goeders JE, Murnane KS, Banks ML, Fantegrossi WE (2009) Escalation of food-maintained responding and sensitivity to the locomotor stimulant effects of cocaine in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 93:67-74.
- Goeders NE, Smith JE (1983) Cortical dopaminergic involvement in cocaine reinforcement. *Science* 221:773-775.
- Goldstein RZ, Volkow ND (2002) Drug addiction and its underlying neurobiological basis: neuroimaging evidence for the involvement of the frontal cortex. *Am J Psychiatry* 159:1642-1652.
- Goldstein RZ, Alia-Klein N, Tomasi D, Carrillo JH, Maloney T, Woicik PA, Wang R, Telang F, Volkow ND (2009) Anterior cingulate cortex hypoactivations to an emotionally salient task in cocaine addiction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:9453-9458.
- Gozzi A, Tessari M, Dacome L, Agosta F, Lepore S, Lanzoni A, Cristofori P, Pich EM, Corsi M, Bifone A (2001) Neuroimaging evidence of altered fronto-cortical and striatal function after prolonged cocaine self-administration in the rat. *Neuropsychopharmacology* 36:2431-2440.
- Gozzi A, Tessari M, Dacome L, Agosta F, Lepore S, Lanzoni A, Cristofori P, Pich EM, Corsi M, Bifone A (2011) Neuroimaging evidence of altered fronto-cortical and striatal function after prolonged cocaine self-administration in the rat. *Neuropsychopharmacology* 36:2431-2440.
- Grakalic I, Panlilio LV, Quiroz C, Schindler CW (2010) Effects of orbitofrontal cortex lesions on cocaine self-administration. *Neuroscience* 165:313-324.
- Grant S, London ED, Newlin DB, Villemagne VL, Liu X, Contoreggi C, Phillips RL, Kimes AS, Margolin A (1996) Activation of memory circuits during cue-elicited cocaine craving. *Proc Natl Acad Sci U S A* 93:12040-12045.
- Green TA, Gehrke BJ, Bardo MT (2002) Environmental enrichment decreases intravenous amphetamine self-administration in rats: dose-response functions for fixed- and progressive-ratio schedules. *Psychopharmacology (Berl)* 162:373-378.
- Green TA, Cain ME, Thompson M, Bardo MT (2003) Environmental enrichment decreases nicotine-induced hyperactivity in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 170:235-241.
- Green TA, Alibhai IN, Roybal CN, Winstanley CA, Theobald DE, Birnbaum SG, Graham AR, Unterberg S, Graham DL, Vialou V, Bass CE, Terwilliger EF, Bardo MT, Nestler EJ (2010) Environmental enrichment produces a behavioral phenotype mediated by low cyclic adenosine monophosphate response element binding (CREB) activity in the nucleus accumbens. *Biol Psychiatry* 67:28-35.
- Greenwood BN, Foley TE, Le TV, Strong PV, Loughridge AB, Day HE, Fleshner M (2011) Long-term voluntary wheel running is rewarding and produces plasticity in the mesolimbic reward pathway. *Behav Brain Res* 217:354-362.
- Grimm JW, Shaham Y, Hope BT (2002a) Effect of cocaine and sucrose withdrawal period on extinction behavior, cue-induced reinstatement, and protein levels of the dopamine transporter and tyrosine hydroxylase in limbic and cortical areas in rats. *Behav Pharmacol* 13:379-388.
- Grimm JW, Shaham Y, Hope BT (2002b) Effect of cocaine and sucrose withdrawal period on extinction behavior, cue-induced reinstatement, and protein levels of the dopamine

transporter and tyrosine hydroxylase in limbic and cortical areas in rats. *Behavioural pharmacology* 13:379-388.

Grimm JW, Hope BT, Wise RA, Shaham Y (2001) Neuroadaptation. Incubation of cocaine craving after withdrawal. *Nature* 412:141-142.

Grimm JW, Barnes J, North K, Collins S, Weber R (2011) A general method for evaluating incubation of sucrose craving in rats. *J Vis Exp*:e3335.

-H-

He J, Xiao Y, Zhang L (2000a) Cocaine induces apoptosis in human coronary artery endothelial cells. *J Cardiovasc Pharmacol* 35:572-580.

He J, Xiao Y, Zhang L (2001) Cocaine-mediated apoptosis in bovine coronary artery endothelial cells: role of nitric oxide. *J Pharmacol Exp Ther* 298:180-187.

He J, Xiao Y, Casiano CA, Zhang L (2000b) Role of mitochondrial cytochrome c in cocaine-induced apoptosis in coronary artery endothelial cells. *J Pharmacol Exp Ther* 295:896-903.

Heath AC, Bucholz KK, Madden PA, Dinwiddie SH, Slutske WS, Bierut LJ, Statham DJ, Dunne MP, Whitfield JB, Martin NG (1997) Genetic and environmental contributions to alcohol dependence risk in a national twin sample: consistency of findings in women and men. *Psychol Med* 27:1381-1396.

Hebb DO (1947) The effects of early experience on problem solving at maturity. *Am Psychol* 2:306-307.

Henry PK, Murnane KS, Votaw JR, Howell LL (2010) Acute brain metabolic effects of cocaine in rhesus monkeys with a history of cocaine use. *Brain Imaging Behav* 4:212-219.

Higgins ST, Petry NM (1999) Contingency management. Incentives for sobriety. *Alcohol research & health : the journal of the National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism* 23:122-127.

Howell LL, Wilcox KM (2001) The dopamine transporter and cocaine medication development: drug self-administration in nonhuman primates. *J Pharmacol Exp Ther* 298:1-6.

Hutcheson DM, Everitt BJ (2003) The effects of selective orbitofrontal cortex lesions on the acquisition and performance of cue-controlled cocaine seeking in rats. *Ann N Y Acad Sci* 1003:410-411.

Hyman SE, Malenka RC (2001) Addiction and the brain: the neurobiology of compulsion and its persistence. *Nat Rev Neurosci* 2:695-703.

Hyman SE, Malenka RC, Nestler EJ (2006a) Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. *Annu Rev Neurosci* 29:565-598.

Hyman SM, Garcia M, Sinha R (2006b) Gender specific associations between types of childhood maltreatment and the onset, escalation and severity of substance use in cocaine dependent adults. *Am J Drug Alcohol Abuse* 32:655-664.

- Ikemoto S, Panksepp J (1999) The role of nucleus accumbens dopamine in motivated behavior: a unifying interpretation with special reference to reward-seeking. *Brain Res Brain Res Rev* 31:6-41.
- Ilango A, Kesner AJ, Keller KL, Stuber GD, Bonci A, Ikemoto S (2014) Similar roles of substantia nigra and ventral tegmental dopamine neurons in reward and aversion. *J Neurosci* 34:817-822.
- Iversen IH (1993) Techniques for establishing schedules with wheel running as reinforcement in rats. *J Exp Anal Behav* 60:219-238.

-J-

- Jaffe BD, Broderick TM, Leier CV (1994) Cocaine-induced coronary-artery dissection. *N Engl J Med* 330:510-511.

-K-

- Kalivas PW, Duffy P (1993) Time course of extracellular dopamine and behavioral sensitization to cocaine. I. Dopamine axon terminals. *J Neurosci* 13:266-275.
- Kanarek RB, Marks-Kaufman R, D'Anci KE, Przypek J (1995) Exercise attenuates oral intake of amphetamine in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 51:725-729.
- Kauer JA, Malenka RC (2007) Synaptic plasticity and addiction. *Nat Rev Neurosci* 8:844-858.
- Kaufman MJ, Levin JM, Ross MH, Lange N, Rose SL, Kukes TJ, Mendelson JH, Lukas SE, Cohen BM, Renshaw PF (1998) Cocaine-induced cerebral vasoconstriction detected in humans with magnetic resonance angiography. *Jama* 279:376-380.
- Kelley AE, Cadore M (1988) Behavioral evidence for differential neuropeptide modulation of the mesolimbic dopamine system. *Annals of the New York Academy of Sciences* 537:415-434.
- Kilts CD, Schweitzer JB, Quinn CK, Gross RE, Faber TL, Muhammad F, Ely TD, Hoffman JM, Drexler KP (2001) Neural activity related to drug craving in cocaine addiction. *Arch Gen Psychiatry* 58:334-341.
- Kloner RA, Hale S, Alker K, Rezkalla S (1992) The effects of acute and chronic cocaine use on the heart. *Circulation* 85:407-419.
- Koob GF, Le Moal M (1997) Drug abuse: hedonic homeostatic dysregulation. *Science* 278:52-58.
- Koob GF, Le Moal M (2001a) Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. *Neuropsychopharmacology* 24:97-129.
- Koob GF, Le Moal M (2001b) Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology* 24:97-129.
- Koob GF, Volkow ND (2010) Neurocircuitry of addiction. *Neuropsychopharmacology* 35:217-238.
- Koob GF, Sanna PP, Bloom FE (1998) Neuroscience of addiction. *Neuron* 21:467-476.
- Koya E, Uejima JL, Wihbey KA, Bossert JM, Hope BT, Shaham Y (2009) Role of ventral medial prefrontal cortex in incubation of cocaine craving. *Neuropharmacology* 56 Suppl 1:177-185.
- Kreek MJ, LaForge KS, Butelman E (2002) Pharmacotherapy of addictions. *Nat Rev Drug Discov* 1:710-726.

Kuhar MJ, Ritz MC, Boja JW (1991) The dopamine hypothesis of the reinforcing properties of cocaine. *Trends Neurosci* 14:299-302.

-L-

LaLumiere RT, Smith KC, Kalivas PW (2010) Neural circuit competition in cocaine-seeking: roles of the infralimbic cortex and nucleus accumbens shell. *Eur J Neurosci* 35:614-622.

LaLumiere RT, Niehoff KE, Kalivas PW (2012) The infralimbic cortex regulates the consolidation of extinction after cocaine self-administration. *Learn Mem* 17:168-175.

Lange RA, Hillis LD (2001) Cardiovascular complications of cocaine use. *N Engl J Med* 345:351-358.

Laviola G, Hannan AJ, Macri S, Solinas M, Jaber M (2008) Effects of enriched environment on animal models of neurodegenerative diseases and psychiatric disorders. *Neurobiol Dis* 31:159-168.

Lenoir M, Serre F, Cantin L, Ahmed SH (2007) Intense sweetness surpasses cocaine reward. *PLoS One* 2:e698.

Lenoir M, Cantin L, Vanhille N, Serre F, Ahmed SH (2013a) Extended Heroin Access Increases Heroin Choices Over a Potent Nondrug Alternative. *Neuropsychopharmacology* : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology.

Lenoir M, Cantin L, Vanhille N, Serre F, Ahmed SH (2013b) Extended heroin access increases heroin choices over a potent nondrug alternative. *Neuropsychopharmacology* 38:1209-1220.

Leshner AI (1997) Addiction is a brain disease, and it matters. *Science* 278:45-47.

Lett BT, Grant VL, Byrne MJ, Koh MT (2000) Pairings of a distinctive chamber with the aftereffect of wheel running produce conditioned place preference. *Appetite* 34:87-94.

Levine SR, Welch KM (1988) Cocaine and stroke. *Stroke* 19:779-783.

Levine SR, Washington JM, Moen M, Kieran SN, Junger S, Welch KM (1987a) Crack-associated stroke. *Neurology* 37:1092-1093.

Levine SR, Washington JM, Jefferson MF, Kieran SN, Moen M, Feit H, Welch KM (1987b) "Crack" cocaine-associated stroke. *Neurology* 37:1849-1853.

Levine SR, Brust JC, Futrell N, Ho KL, Blake D, Millikan CH, Brass LM, Fayad P, Schultz LR, Selwa JF, et al. (1990) Cerebrovascular complications of the use of the "crack" form of alkaloidal cocaine. *N Engl J Med* 323:699-704.

Liu C, Grigson PS (2005) Brief access to sweets protect against relapse to cocaine-seeking. *Brain Res* 1049:128-131.

London ED, Cascella NG, Wong DF, Phillips RL, Dannals RF, Links JM, Herning R, Grayson R, Jaffe JH, Wagner HN, Jr. (1990) Cocaine-induced reduction of glucose utilization in human brain. A study using positron emission tomography and [fluorine 18]-fluorodeoxyglucose. *Arch Gen Psychiatry* 47:567-574.

Loughlin SE, Fallon JH (1983) Dopaminergic and non-dopaminergic projections to amygdala from substantia nigra and ventral tegmental area. *Brain Res* 262:334-338.

Lu L, Grimm JW, Shaham Y, Hope BT (2003) Molecular neuroadaptations in the accumbens and ventral tegmental area during the first 90 days of forced abstinence from cocaine self-administration in rats. *J Neurochem* 85:1604-1613.

- Lu L, Grimm JW, Dempsey J, Shaham Y (2004a) Cocaine seeking over extended withdrawal periods in rats: different time courses of responding induced by cocaine cues versus cocaine priming over the first 6 months. *Psychopharmacology (Berl)* 176:101-108.
- Lu L, Grimm JW, Hope BT, Shaham Y (2004b) Incubation of cocaine craving after withdrawal: a review of preclinical data. *Neuropharmacology* 47 Suppl 1:214-226.
- Lu L, Dempsey J, Shaham Y, Hope BT (2005a) Differential long-term neuroadaptations of glutamate receptors in the basolateral and central amygdala after withdrawal from cocaine self-administration in rats. *J Neurochem* 94:161-168.
- Lu L, Uejima JL, Gray SM, Bossert JM, Shaham Y (2007) Systemic and central amygdala injections of the mGluR(2/3) agonist LY379268 attenuate the expression of incubation of cocaine craving. *Biol Psychiatry* 61:591-598.
- Lu L, Hope BT, Dempsey J, Liu SY, Bossert JM, Shaham Y (2005b) Central amygdala ERK signaling pathway is critical to incubation of cocaine craving. *Nat Neurosci* 8:212-219.
- Lucantonio F, Stalnaker TA, Shaham Y, Niv Y, Schoenbaum G (2012) The impact of orbitofrontal dysfunction on cocaine addiction. *Nat Neurosci* 15:358-366.
- Lussier JP, Heil SH, Mongeon JA, Badger GJ, Higgins ST (2006) A meta-analysis of voucher-based reinforcement therapy for substance use disorders. *Addiction* 101:192-203.
- Lynch WJ, Piehl KB, Acosta G, Peterson AB, Hemby SE (2010) Aerobic exercise attenuates reinstatement of cocaine-seeking behavior and associated neuroadaptations in the prefrontal cortex. *Biol Psychiatry* 68:774-777.

-M-

- Maas LC, Lukas SE, Kaufman MJ, Weiss RD, Daniels SL, Rogers VW, Kukes TJ, Renshaw PF (1998) Functional magnetic resonance imaging of human brain activation during cue-induced cocaine craving. *Am J Psychiatry* 155:124-126.
- Macey DJ, Rice WN, Freedland CS, Whitlow CT, Porrino LJ (2004) Patterns of functional activity associated with cocaine self-administration in the rat change over time. *Psychopharmacology (Berl)* 172:384-392.
- Madsen HB, Ahmed SH (2014) Drug versus sweet reward: greater attraction to and preference for sweet versus drug cues. *Addict Biol*.
- Maisonneuve IM, Kreek MJ (1994) Acute tolerance to the dopamine response induced by a binge pattern of cocaine administration in male rats: an in vivo microdialysis study. *J Pharmacol Exp Ther* 268:916-921.
- Maisonneuve IM, Keller RW, Glick SD (1990) Similar effects of D-amphetamine and cocaine on extracellular dopamine levels in medial prefrontal cortex of rats. *Brain Res* 535:221-226.
- Maisonneuve IM, Ho A, Kreek MJ (1995) Chronic administration of a cocaine "binge" alters basal extracellular levels in male rats: an in vivo microdialysis study. *J Pharmacol Exp Ther* 272:652-657.
- Marcus BH, Albrecht AE, King TK, Parisi AF, Pinto BM, Roberts M, Niaura RS, Abrams DB (1999) The efficacy of exercise as an aid for smoking cessation in women: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med* 159:1229-1234.
- Marella GL, Furnari C, Perfetti E, Arcudi G (2011) Aortic dissection and cocaine use. *J Forensic Leg Med* 18:329-331.

- Martin-Iverson MT, Szostak C, Fibiger HC (1986) 6-Hydroxydopamine lesions of the medial prefrontal cortex fail to influence intravenous self-administration of cocaine. *Psychopharmacology (Berl)* 88:310-314.
- Mateo Y, Lack CM, Morgan D, Roberts DC, Jones SR (2005) Reduced dopamine terminal function and insensitivity to cocaine following cocaine binge self-administration and deprivation. *Neuropsychopharmacology* 30:1455-1463.
- McFarland K, Kalivas PW (2001) The circuitry mediating cocaine-induced reinstatement of drug-seeking behavior. *J Neurosci* 21:8655-8663.
- McFarland K, Lapish CC, Kalivas PW (2003) Prefrontal glutamate release into the core of the nucleus accumbens mediates cocaine-induced reinstatement of drug-seeking behavior. *J Neurosci* 23:3531-3537.
- McFarland K, Davidge SB, Lapish CC, Kalivas PW (2004) Limbic and motor circuitry underlying footshock-induced reinstatement of cocaine-seeking behavior. *J Neurosci* 24:1551-1560.
- McGregor A, Roberts DC (1993) Dopaminergic antagonism within the nucleus accumbens or the amygdala produces differential effects on intravenous cocaine self-administration under fixed and progressive ratio schedules of reinforcement. *Brain Res* 624:245-252.
- McGregor A, Baker G, Roberts DC (1994) Effect of 6-hydroxydopamine lesions of the amygdala on intravenous cocaine self-administration under a progressive ratio schedule of reinforcement. *Brain Res* 646:273-278.
- McGregor A, Baker G, Roberts DC (1996) Effect of 6-hydroxydopamine lesions of the medial prefrontal cortex on intravenous cocaine self-administration under a progressive ratio schedule of reinforcement. *Pharmacol Biochem Behav* 53:5-9.
- McKay JR, Van Horn D, Rennert L, Drapkin M, Ivey M, Koppenhaver J Factors in sustained recovery from cocaine dependence. *J Subst Abuse Treat* 45:163-172.
- McKay JR, Van Horn D, Rennert L, Drapkin M, Ivey M, Koppenhaver J (2013) Factors in sustained recovery from cocaine dependence. *Journal of substance abuse treatment*.
- McLaughlin J, See RE (2003) Selective inactivation of the dorsomedial prefrontal cortex and the basolateral amygdala attenuates conditioned-cued reinstatement of extinguished cocaine-seeking behavior in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 168:57-65.
- Meil WM, See RE (1996) Conditioned cued recovery of responding following prolonged withdrawal from self-administered cocaine in rats: an animal model of relapse. *Behav Pharmacol* 7:754-763.
- Miller ML, Vaillancourt BD, Wright MJ, Jr., Aarde SM, Vandewater SA, Creehan KM, Taffe MA (2012) Reciprocal inhibitory effects of intravenous d-methamphetamine self-administration and wheel activity in rats. *Drug Alcohol Depend* 121:90-96.
- Morgan D, Grant KA, Gage HD, Mach RH, Kaplan JR, Prioleau O, Nader SH, Buchheimer N, Ehrenkaufer RL, Nader MA (2002) Social dominance in monkeys: dopamine D2 receptors and cocaine self-administration. *Nat Neurosci* 5:169-174.
- Mouton PR, Gokhale AM, Ward NL, West MJ (2002) Stereological length estimation using spherical probes. *J Microsc* 206:54-64.
- Murnane KS, Howell LL (2011) Neuroimaging and drug taking in primates. *Psychopharmacology (Berl)* 216:153-171.
- Mutschler NH, Miczek KA (1998) Withdrawal from i.v. cocaine "binges" in rats: ultrasonic distress calls and startle. *Psychopharmacology (Berl)* 135:161-168.

Mutschler NH, Covington HE, 3rd, Miczek KA (2001) Repeated self-administered cocaine "binges" in rats: effects on cocaine intake and withdrawal. *Psychopharmacology (Berl)* 154:292-300.

-N-

Neiman J, Haapaniemi HM, Hillbom M (2000) Neurological complications of drug abuse: pathophysiological mechanisms. *Eur J Neurol* 7:595-606.

Nestler EJ (2001) Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. *Nat Rev Neurosci* 2:119-128.

Nithianantharajah J, Hannan AJ (2006) Enriched environments, experience-dependent plasticity and disorders of the nervous system. *Nat Rev Neurosci* 7:697-709.

Noble EP (2000) Addiction and its reward process through polymorphisms of the D2 dopamine receptor gene: a review. *Eur Psychiatry* 15:79-89.

Nolte KB, Brass LM, Fletterick CF (1996) Intracranial hemorrhage associated with cocaine abuse: a prospective autopsy study. *Neurology* 46:1291-1296.

Nusair M, Abuzetun JY, Khaja A, Dohrmann M (2008) A case of aortic dissection in a cocaine abuser: a case report and review of literature. *Cases J* 1:369.

-P-

Palmiere C, Burkhardt S, Staub C, Hallenbarter M, Paolo Pizzolato G, Dettmeyer R, La Harpe R (2004) Thoracic aortic dissection associated with cocaine abuse. *Forensic Sci Int* 141:137-142.

Panksepp J, Nelson E, Bekkedal M (1997a) Brain systems for the mediation of social separation-distress and social-reward. Evolutionary antecedents and neuropeptide intermediaries. *Ann N Y Acad Sci* 807:78-100.

Panksepp J, Nelson E, Bekkedal M (1997b) Brain systems for the mediation of social separation-distress and social-reward. Evolutionary antecedents and neuropeptide intermediaries. *Annals of the New York Academy of Sciences* 807:78-100.

Panksepp JB, Lahvis GP (2007) Social reward among juvenile mice. *Genes Brain Behav* 6:661-671.

Parvaz MA, Alia-Klein N, Woicik PA, Volkow ND, Goldstein RZ (2011) Neuroimaging for drug addiction and related behaviors. *Rev Neurosci* 22:609-624.

Pelloux Y, Costentin J, Duterte-Boucher D (2006a) Novelty preference predicts place preference conditioning to morphine and its oral consumption in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 84:43-50.

Pelloux Y, Costentin J, Duterte-Boucher D (2006b) Novelty preference predicts place preference conditioning to morphine and its oral consumption in rats. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* 84:43-50.

Pelloux Y, Everitt BJ, Dickinson A (2007) Compulsive drug seeking by rats under punishment: effects of drug taking history. *Psychopharmacology (Berl)* 194:127-137.

Perry JL, Joseph JE, Jiang Y, Zimmerman RS, Kelly TH, Darna M, Huettl P, Dwoskin LP, Bardo MT (2010) Prefrontal cortex and drug abuse vulnerability: translation to prevention and treatment interventions. *Brain Res Rev* 65:124-149.

Peters J, LaLumiere RT, Kalivas PW (2008) Infralimbic prefrontal cortex is responsible for inhibiting cocaine seeking in extinguished rats. *J Neurosci* 28:6046-6053.

- Peterson AB, Hivick DP, Lynch WJ (2014a) Dose-dependent effectiveness of wheel running to attenuate cocaine-seeking: impact of sex and estrous cycle in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 231:2661-2670.
- Peterson AB, Abel JM, Lynch WJ (2014b) Dose-dependent effects of wheel running on cocaine-seeking and prefrontal cortex Bdnf exon IV expression in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 231:1305-1314.
- Pettit HO, Ettenberg A, Bloom FE, Koob GF (1984) Destruction of dopamine in the nucleus accumbens selectively attenuates cocaine but not heroin self-administration in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 84:167-173.
- Piazza PV, Le Moal ML (1996) Pathophysiological basis of vulnerability to drug abuse: role of an interaction between stress, glucocorticoids, and dopaminergic neurons. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 36:359-378.
- Pickens CL, Golden SA, Adams-Deutsch T, Nair SG, Shaham Y (2009) Long-lasting incubation of conditioned fear in rats. *Biol Psychiatry* 65:881-886.
- Pickens CL, Airavaara M, Theberge F, Fanous S, Hope BT, Shaham Y (2011) Neurobiology of the incubation of drug craving. *Trends Neurosci* 34:411-420.
- Pierce RC, Kalivas PW (1997) Repeated cocaine modifies the mechanism by which amphetamine releases dopamine. *J Neurosci* 17:3254-3261.
- Pontieri FE, Mainero C, La Riccia M, Passarelli F, Orzi F (1995) Functional correlates of repeated administration of cocaine and apomorphine in the rat. *Eur J Pharmacol* 284:205-209.
- Porrino LJ (1993) Functional consequences of acute cocaine treatment depend on route of administration. *Psychopharmacology (Berl)* 112:343-351.
- Porrino LJ, Smith HR, Nader MA, Beveridge TJ (2007) The effects of cocaine: a shifting target over the course of addiction. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 31:1593-1600.
- Prapavessis H, Cameron L, Baldi JC, Robinson S, Borrie K, Harper T, Grove JR (2007) The effects of exercise and nicotine replacement therapy on smoking rates in women. *Addict Behav* 32:1416-1432.
- Prochaska JJ, Hall SM, Humfleet G, Munoz RF, Reus V, Gorecki J, Hu D (2008) Physical activity as a strategy for maintaining tobacco abstinence: a randomized trial. *Prev Med* 47:215-220.
- Puhl MD, Blum JS, Acosta-Torres S, Grigson PS (2012) Environmental enrichment protects against the acquisition of cocaine self-administration in adult male rats, but does not eliminate avoidance of a drug-associated saccharin cue. *Behav Pharmacol* 23:43-53.

-R-

- Rampon C, Jiang CH, Dong H, Tang YP, Lockhart DJ, Schultz PG, Tsien JZ, Hu Y (2000) Effects of environmental enrichment on gene expression in the brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:12880-12884.
- Rashid J, Eisenberg MJ, Topol EJ (1996) Cocaine-induced aortic dissection. *Am Heart J* 132:1301-1304.
- Ren H, Du C, Yuan Z, Park K, Volkow ND, Pan Y (2012) Cocaine-induced cortical microischemia in the rodent brain: clinical implications. *Mol Psychiatry* 17:1017-1025.
- Richter RM, Pich EM, Koob GF, Weiss F (1995) Sensitization of cocaine-stimulated increase in extracellular levels of corticotropin-releasing factor from the rat amygdala after

- repeated administration as determined by intracranial microdialysis. *Neurosci Lett* 187:169-172.
- Ritz MC, Lamb RJ, Goldberg SR, Kuhar MJ (1987) Cocaine receptors on dopamine transporters are related to self-administration of cocaine. *Science* 237:1219-1223.
- Rivera LB, Bergers G (2014) Angiogenesis. Targeting vascular sprouts. *Science* 344:1449-1450.
- Roberts DC, Koob GF (1982) Disruption of cocaine self-administration following 6-hydroxydopamine lesions of the ventral tegmental area in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 17:901-904.
- Robinson TE, Berridge KC (2003) Addiction. *Annu Rev Psychol* 54:25-53.
- Rodd-Henricks ZA, McKinzie DL, Li TK, Murphy JM, McBride WJ (2002) Cocaine is self-administered into the shell but not the core of the nucleus accumbens of Wistar rats. *J Pharmacol Exp Ther* 303:1216-1226.
- Rodefer JS, Carroll ME (1996) Progressive ratio and behavioral economic evaluation of the reinforcing efficacy of orally delivered phencyclidine and ethanol in monkeys: effects of feeding conditions. *Psychopharmacology (Berl)* 128:265-273.
- Rosenzweig MR, Bennett EL (1996) Psychobiology of plasticity: effects of training and experience on brain and behavior. *Behav Brain Res* 78:57-65.
- Rosenzweig MR, Bennett EL, Hebert M, Morimoto H (1978) Social grouping cannot account for cerebral effects of enriched environments. *Brain Res* 153:563-576.
- Rothman RB, Baumann MH, Dersch CM, Romero DV, Rice KC, Carroll FI, Partilla JS (2001) Amphetamine-type central nervous system stimulants release norepinephrine more potently than they release dopamine and serotonin. *Synapse* 39:32-41.

-S-

- Sah P, Lopez De Armentia M (2003) Excitatory synaptic transmission in the lateral and central amygdala. *Ann N Y Acad Sci* 985:67-77.
- Salamone JD, Correa M, Mingote SM, Weber SM (2005) Beyond the reward hypothesis: alternative functions of nucleus accumbens dopamine. *Curr Opin Pharmacol* 5:34-41.
- Samuvel DJ, Jayanthi LD, Manohar S, Kaliyaperumal K, See RE, Ramamoorthy S (2008) Dysregulation of dopamine transporter trafficking and function after abstinence from cocaine self-administration in rats: evidence for differential regulation in caudate putamen and nucleus accumbens. *J Pharmacol Exp Ther* 325:293-301.
- Scheggi S, Marchese G, Grappi S, Secci ME, De Montis MG, Gambarana C (2011) Cocaine sensitization models an anhedonia-like condition in rats. *The international journal of neuropsychopharmacology / official scientific journal of the Collegium Internationale Neuropsychopharmacologicum* 14:333-346.
- Schenk S, Horger BA, Peltier R, Shelton K (1991) Supersensitivity to the reinforcing effects of cocaine following 6-hydroxydopamine lesions to the medial prefrontal cortex in rats. *Brain Res* 543:227-235.
- Schoenbaum G, Roesch MR, Stalnaker TA (2006) Orbitofrontal cortex, decision-making and drug addiction. *Trends Neurosci* 29:116-124.
- Shalev U, Morales M, Hope B, Yap J, Shaham Y (2001) Time-dependent changes in extinction behavior and stress-induced reinstatement of drug seeking following withdrawal from heroin in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 156:98-107.

- Shepard JD, Bossert JM, Liu SY, Shaham Y (2004) The anxiogenic drug yohimbine reinstates methamphetamine seeking in a rat model of drug relapse. *Biol Psychiatry* 55:1082-1089.
- Sinha R (2001) How does stress increase risk of drug abuse and relapse? *Psychopharmacology (Berl)* 158:343-359.
- Smith MA, Pitts EG (2011) Access to a running wheel inhibits the acquisition of cocaine self-administration. *Pharmacol Biochem Behav* 100:237-243.
- Smith MA, Pitts EG (2012) Wheel running decreases the positive reinforcing effects of heroin. *Pharmacol Rep* 64:960-964.
- Smith MA, Witte MA (2012) The effects of exercise on cocaine self-administration, food-maintained responding, and locomotor activity in female rats: importance of the temporal relationship between physical activity and initial drug exposure. *Exp Clin Psychopharmacol* 20:437-446.
- Smith MA, Lynch WJ (2012) Exercise as a potential treatment for drug abuse: evidence from preclinical studies. *Front Psychiatry* 2:82.
- Smith MA, Schmidt KT, Iordanou JC, Mustroph ML (2008) Aerobic exercise decreases the positive-reinforcing effects of cocaine. *Drug Alcohol Depend* 98:129-135.
- Smith MA, Walker KL, Cole KT, Lang KC (2011) The effects of aerobic exercise on cocaine self-administration in male and female rats. *Psychopharmacology (Berl)* 218:357-369.
- Smith MA, Pennock MM, Walker KL, Lang KC (2012) Access to a running wheel decreases cocaine-primed and cue-induced reinstatement in male and female rats. *Drug Alcohol Depend* 121:54-61.
- Solinas M, Thiriet N, Chauvet C, Jaber M (2010a) Prevention and treatment of drug addiction by environmental enrichment. *Prog Neurobiol* 92:572-592.
- Solinas M, Thiriet N, Chauvet C, Jaber M (2010b) Prevention and treatment of drug addiction by environmental enrichment. *Progress in neurobiology* 92:572-592.
- Solinas M, Chauvet C, Thiriet N, El Rawas R, Jaber M (2008) Reversal of cocaine addiction by environmental enrichment. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:17145-17150.
- Solinas M, Thiriet N, El Rawas R, Lardeux V, Jaber M (2009) Environmental enrichment during early stages of life reduces the behavioral, neurochemical, and molecular effects of cocaine. *Neuropsychopharmacology* 34:1102-1111.
- Stairs DJ, Bardo MT (2009) Neurobehavioral effects of environmental enrichment and drug abuse vulnerability. *Pharmacology, biochemistry, and behavior* 92:377-382.
- Stairs DJ, Klein ED, Bardo MT (2006) Effects of environmental enrichment on extinction and reinstatement of amphetamine self-administration and sucrose-maintained responding. *Behav Pharmacol* 17:597-604.
- Stefanik MT, Kalivas PW (2013) Optogenetic dissection of basolateral amygdala projections during cue-induced reinstatement of cocaine seeking. *Front Behav Neurosci* 7:213.
- Stein EA, Fuller SA (1992) Selective effects of cocaine on regional cerebral blood flow in the rat. *J Pharmacol Exp Ther* 262:327-334.
- Stitzer ML, Vandrey R (2008) Contingency management: utility in the treatment of drug abuse disorders. *Clinical pharmacology and therapeutics* 83:644-647.
- Su J, Li J, Li W, Altura BT, Altura BM (2003) Cocaine induces apoptosis in cerebral vascular muscle cells: potential roles in strokes and brain damage. *Eur J Pharmacol* 482:61-66.

- Taylor AH, Ussher MH, Faulkner G (2007) The acute effects of exercise on cigarette cravings, withdrawal symptoms, affect and smoking behaviour: a systematic review. *Addiction* 102:534-543.
- Thiel KJ, Okun AC, Neisewander JL (2008a) Social reward-conditioned place preference: a model revealing an interaction between cocaine and social context rewards in rats. *Drug Alcohol Depend* 96:202-212.
- Thiel KJ, Okun AC, Neisewander JL (2008b) Social reward-conditioned place preference: a model revealing an interaction between cocaine and social context rewards in rats. *Drug and alcohol dependence* 96:202-212.
- Thiel KJ, Sanabria F, Pentkowski NS, Neisewander JL (2009) Anti-craving effects of environmental enrichment. *Int J Neuropsychopharmacol* 12:1151-1156.
- Thiel KJ, Pentkowski NS, Peartree NA, Painter MR, Neisewander JL (2010) Environmental living conditions introduced during forced abstinence alter cocaine-seeking behavior and Fos protein expression. *Neuroscience* 171:1187-1196.
- Thiel KJ, Painter MR, Pentkowski NS, Mitroi D, Crawford CA, Neisewander JL (2012a) Environmental enrichment counters cocaine abstinence-induced stress and brain reactivity to cocaine cues but fails to prevent the incubation effect. *Addict Biol* 17:365-377.
- Thiel KJ, Painter MR, Pentkowski NS, Mitroi D, Crawford CA, Neisewander JL (2012b) Environmental enrichment counters cocaine abstinence-induced stress and brain reactivity to cocaine cues but fails to prevent the incubation effect. *Addiction biology* 17:365-377.
- Thiriet N, Gennequin B, Lardeux V, Chauvet C, Decressac M, Janet T, Jaber M, Solinas M (2011) Environmental enrichment does not reduce the rewarding and neurotoxic effects of methamphetamine. *Neurotox Res* 19:172-182.
- Thomas KL, Arroyo M, Everitt BJ (2003) Induction of the learning and plasticity-associated gene Zif268 following exposure to a discrete cocaine-associated stimulus. *Eur J Neurosci* 17:1964-1972.
- Thomas MJ, Kalivas PW, Shaham Y (2008) Neuroplasticity in the mesolimbic dopamine system and cocaine addiction. *Br J Pharmacol* 154:327-342.
- Toossi S, Hess CP, Hills NK, Josephson SA (2010) Neurovascular complications of cocaine use at a tertiary stroke center. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 19:273-278.

-U-

- Ulrich-Lai YM, Christiansen AM, Ostrander MM, Jones AA, Jones KR, Choi DC, Krause EG, Evanson NK, Furay AR, Davis JF, Solomon MB, de Kloet AD, Tamashiro KL, Sakai RR, Seeley RJ, Woods SC, Herman JP (2010) Pleasurable behaviors reduce stress via brain reward pathways. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 107:20529-20534.
- Ussher M, West R, McEwen A, Taylor A, Steptoe A (2007) Randomized controlled trial of physical activity counseling as an aid to smoking cessation: 12 month follow-up. *Addict Behav* 32:3060-3064.

-V-

- Vanderschuren LJ, Niesink RJ, Van Ree JM (1997a) The neurobiology of social play behavior in rats. *Neuroscience and biobehavioral reviews* 21:309-326.
- Vanderschuren LJ, Niesink RJ, Van Ree JM (1997b) The neurobiology of social play behavior in rats. *Neurosci Biobehav Rev* 21:309-326.
- Vasica G, Tennant CC (2002) Cocaine use and cardiovascular complications. *Med J Aust* 177:260-262.
- Vendruscolo LF, Gueye AB, Darnaudery M, Ahmed SH, Cador M (2010a) Sugar overconsumption during adolescence selectively alters motivation and reward function in adult rats. *PLoS One* 5:e9296.
- Vendruscolo LF, Gueye AB, Vendruscolo JC, Clemens KJ, Mormede P, Darnaudery M, Cador M (2010b) Reduced alcohol drinking in adult rats exposed to sucrose during adolescence. *Neuropharmacology* 59:388-394.
- Ventura-Silva AP, Melo A, Ferreira AC, Carvalho MM, Campos FL, Sousa N, Pego JM (2013) Excitotoxic lesions in the central nucleus of the amygdala attenuate stress-induced anxiety behavior. *Front Behav Neurosci* 7:32.
- Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS (1997a) Imaging studies of cocaine in the human brain and studies of the cocaine addict. *Ann N Y Acad Sci* 820:41-54; discussion 54-45.
- Volkow ND, Fowler JS, Wang GJ (2003) The addicted human brain: insights from imaging studies. *J Clin Invest* 111:1444-1451.
- Volkow ND, Fowler JS, Wolf AP, Gillespi H (1990a) Metabolic studies of drugs of abuse. *NIDA Res Monogr* 105:47-53.
- Volkow ND, Wang GJ, Tomasi D, Baler RD (2013a) Obesity and addiction: neurobiological overlaps. *Obesity reviews : an official journal of the International Association for the Study of Obesity* 14:2-18.
- Volkow ND, Wang GJ, Tomasi D, Baler RD (2013b) Obesity and addiction: neurobiological overlaps. *Obes Rev* 14:2-18.
- Volkow ND, Fowler JS, Wang GJ, Baler R, Telang F (2009) Imaging dopamine's role in drug abuse and addiction. *Neuropharmacology* 56 Suppl 1:3-8.
- Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS, Tomasi D, Telang F (2011a) Addiction: beyond dopamine reward circuitry. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:15037-15042.
- Volkow ND, Hitzemann R, Wang GJ, Fowler JS, Wolf AP, Dewey SL, Handlesman L (1992) Long-term frontal brain metabolic changes in cocaine abusers. *Synapse* 11:184-190.
- Volkow ND, Fowler JS, Wolf AP, Hitzemann R, Dewey S, Bendriem B, Alpert R, Hoff A (1991) Changes in brain glucose metabolism in cocaine dependence and withdrawal. *Am J Psychiatry* 148:621-626.
- Volkow ND, Fowler JS, Wang GJ, Hitzemann R, Logan J, Schlyer DJ, Dewey SL, Wolf AP (1993) Decreased dopamine D2 receptor availability is associated with reduced frontal metabolism in cocaine abusers. *Synapse* 14:169-177.
- Volkow ND, Tomasi D, Wang GJ, Fowler JS, Telang F, Goldstein RZ, Alia-Klein N, Wong C (2011b) Reduced metabolism in brain "control networks" following cocaine-cues exposure in female cocaine abusers. *PLoS One* 6:e16573.
- Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS, Logan J, Gatley SJ, Hitzemann R, Chen AD, Dewey SL, Pappas N (1997b) Decreased striatal dopaminergic responsiveness in detoxified cocaine-dependent subjects. *Nature* 386:830-833.

- Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS, Logan J, Gatley SJ, Gifford A, Hitzemann R, Ding YS, Pappas N (1999) Prediction of reinforcing responses to psychostimulants in humans by brain dopamine D2 receptor levels. *Am J Psychiatry* 156:1440-1443.
- Volkow ND, Wang GJ, Telang F, Fowler JS, Logan J, Childress AR, Jayne M, Ma Y, Wong C (2006) Cocaine cues and dopamine in dorsal striatum: mechanism of craving in cocaine addiction. *J Neurosci* 26:6583-6588.
- Volkow ND, Fowler JS, Wolf AP, Schlyer D, Shiue CY, Alpert R, Dewey SL, Logan J, Bendriem B, Christman D, et al. (1990b) Effects of chronic cocaine abuse on postsynaptic dopamine receptors. *Am J Psychiatry* 147:719-724.
- Volkow ND, Wang GJ, Fischman MW, Foltin RW, Fowler JS, Abumrad NN, Vitkun S, Logan J, Gatley SJ, Pappas N, Hitzemann R, Shea CE (1997c) Relationship between subjective effects of cocaine and dopamine transporter occupancy. *Nature* 386:827-830.

-W-

- Wei YM, Li SX, Shi HS, Ding ZB, Luo YX, Xue YX, Lu L, Yu CX (2011a) Protracted cocaine withdrawal produces circadian rhythmic alterations of phosphorylated GSK-3beta in reward-related brain areas in rats. *Behavioural brain research* 218:228-233.
- Wei YM, Li SX, Shi HS, Ding ZB, Luo YX, Xue YX, Lu L, Yu CX (2011b) Protracted cocaine withdrawal produces circadian rhythmic alterations of phosphorylated GSK-3beta in reward-related brain areas in rats. *Behav Brain Res* 218:228-233.
- Weiss F, Maldonado-Vlaar CS, Parsons LH, Kerr TM, Smith DL, Ben-Shahar O (2000) Control of cocaine-seeking behavior by drug-associated stimuli in rats: effects on recovery of extinguished operant-responding and extracellular dopamine levels in amygdala and nucleus accumbens. *Proc Natl Acad Sci U S A* 97:4321-4326.
- Weissenborn R, Robbins TW, Everitt BJ (1997) Effects of medial prefrontal or anterior cingulate cortex lesions on responding for cocaine under fixed-ratio and second-order schedules of reinforcement in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 134:242-257.
- Werme M, Messer C, Olson L, Gilden L, Thoren P, Nestler EJ, Brene S (2002) Delta FosB regulates wheel running. *J Neurosci* 22:8133-8138.
- Wexler BE, Gottschalk CH, Fulbright RK, Prohovnik I, Lacadie CM, Rounsaville BJ, Gore JC (2001) Functional magnetic resonance imaging of cocaine craving. *Am J Psychiatry* 158:86-95.
- Whitelaw RB, Markou A, Robbins TW, Everitt BJ (1996) Excitotoxic lesions of the basolateral amygdala impair the acquisition of cocaine-seeking behaviour under a second-order schedule of reinforcement. *Psychopharmacology (Berl)* 127:213-224.
- Willner P (2005) Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. *Neuropsychobiology* 52:90-110.
- Willner P, Towell A, Sampson D, Sophokleous S, Muscat R (1987) Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology (Berl)* 93:358-364.
- Willuhn I, Burgeno LM, Groblewski PA, Phillips PE Excessive cocaine use results from decreased phasic dopamine signaling in the striatum. *Nat Neurosci* 17:704-709.
- Winkelman M (2003) Complementary therapy for addiction: "drumming out drugs". *Am J Public Health* 93:647-651.

Références Bibliographiques

- Wise RA (2009) Roles for nigrostriatal--not just mesocorticolimbic--dopamine in reward and addiction. *Trends Neurosci* 32:517-524.
- Witkiewitz K, Bowen S, Douglas H, Hsu SH (2013) Mindfulness-based relapse prevention for substance craving. *Addict Behav* 38:1563-1571.
- Wojak JC, Flamm ES (1987) Intracranial hemorrhage and cocaine use. *Stroke* 18:712-715.
- Wong L, Gipp J, Carr J, Loftus CJ, Benck M, Lee S, Mehta V, Vezina CM, Bushman W (2013) Prostate angiogenesis in development and inflammation. *Prostate* 74:346-358.

-X-

- Xi ZX, Li X, Li J, Peng XQ, Song R, Gaal J, Gardner EL (2012) Blockade of dopamine D3 receptors in the nucleus accumbens and central amygdala inhibits incubation of cocaine craving in rats. *Addict Biol* 18:665-677.

-Y-

- You ZB, Wang B, Zitzman D, Azari S, Wise RA (2007) A role for conditioned ventral tegmental glutamate release in cocaine seeking. *J Neurosci* 27:10546-10555.

-Z-

- Zahm DS (1999) Functional-anatomical implications of the nucleus accumbens core and shell subterritories. *Ann N Y Acad Sci* 877:113-128.
- Zernig G, Kummer KK, Prast JM (2013) Dyadic Social Interaction as an Alternative Reward to Cocaine. *Frontiers in psychiatry* 4:100.
- Zito KA, Vickers G, Roberts DC (1985) Disruption of cocaine and heroin self-administration following kainic acid lesions of the nucleus accumbens. *Pharmacol Biochem Behav* 23:1029-1036.
- Zlebnik NE, Anker JJ, Carroll ME (2012) Exercise to reduce the escalation of cocaine self-administration in adolescent and adult rats. *Psychopharmacology (Berl)* 224:387-400.
- Zlebnik NE, Hedges VL, Carroll ME, Meisel RL (2014) Chronic wheel running affects cocaine-induced c-Fos expression in brain reward areas in rats. *Behav Brain Res* 261:71-78.

Ouvrages :

HISTOLOGIE - Bases fondamentales. Bertrand Macé. Omnisciences 2008

HISTOLOGIE HUMAINE, Stevens A et Lowe J., 2009

HISTOLOGIE, L'essentiel. Fawcett DW et Jensch RP., 2002,

Neurosciences Médicale, Les bases neuroanatomiques et neurophysiologiques. Thomas C Pritchard, Kevin D Alloway. DeBoeck Université, 2002.