

Université Bordeaux Segalen
UFR Sciences de la Vie

Année 2011

Thèse n°1845

THESE

Pour le

DOCTORAT DE L'UNIVERSITE BORDEAUX 2

Mention : Sciences, Technologie, Santé

Option : Neurosciences

Présentée et soutenue publiquement le 22 novembre 2011 par

ERIC AUGIER

Résilience et vulnérabilité à l'addiction chez le rat : rôle
révélateur du choix

Directeur de Thèse :

Dr. SERGE AHMED

Membres du Jury

Dr. Marcello Solinas
Dr. Florence Noble
Pr. Marc Auriacombe
Dr. Serge Ahmed

Poitiers
Paris
Bordeaux
Bordeaux

Rapporteur
Rapporteur
Examineur
Examineur

Résumé

La dépendance à la cocaïne, aussi appelée addiction, est un trouble psychiatrique chronique associé à un risque élevé de rechute (APA 1994). Ce trouble touche une fraction significative des consommateurs de cocaïne (environ 15%) et est caractérisé par (1) une compulsion de la recherche et de la prise de cocaïne, (2) une perte de la capacité de contrôler sa consommation et (3) l'émergence d'un état émotionnel négatif (par exemple anxiété, irritabilité) lorsque le sujet dépendant est sevré. Le plus surprenant dans l'addiction est que les sujets atteints semblent agir contre leur propre intérêt, et ce malgré la conscience des conséquences néfastes de leur comportement. Un des grands enjeux actuels de la recherche sur l'addiction est de comprendre les mécanismes neurobiologiques expliquant le passage d'une consommation de drogue occasionnelle, récréative à une consommation compulsive et incontrôlée.

Devant les limitations inhérentes aux études neurobiologiques chez l'homme (impossibilité d'utiliser des techniques invasives, méthodes employées corrélationnelles), ces études sont souvent complémentées par des études parallèles sur des modèles animaux de prise de drogue et d'addiction. Bien qu'ayant permis des découvertes importantes sur la neurobiologie de la cocaïne (comme par exemple l'implication du système dopaminergique dans les propriétés renforçantes de la cocaïne), la validité de ces modèles reste toutefois incertaine, en particulier à cause de l'absence de choix pendant l'accès aux drogues. Dans ces conditions, il est difficile de savoir si les animaux consomment de la drogue par compulsion ou bien par défaut d'autres choix.

Afin d'étudier ce problème, nous avons développé dans notre équipe en 2007 un nouveau modèle dans lequel des rats ont le choix de prendre de la cocaïne ou de s'engager dans une autre activité récompensante (par exemple boire de l'eau sucrée avec de la saccharine). Il a ainsi pu être montré que la vaste majorité des animaux se détournent de la drogue au profit de la récompense alternative. Mon travail de thèse a consisté à confirmer et à tester la généralité et la robustesse de cette découverte surprenante. J'ai ainsi pu montrer que la cocaïne occupait une faible place sur l'échelle de valeur du rat, au niveau des concentrations les plus faibles d'eau sucrée. J'ai également pu établir que la préférence des animaux pour l'eau sucrée ne peut être expliquée ni par l'existence de propriétés anxiogènes de la cocaïne,

ni par l'attrait pour la nouveauté du goût sucré et, enfin, ni par l'impossibilité de l'animal de contrôler son degré d'intoxication à la drogue. Enfin, de manière importante, j'ai pu constater que seule une minorité d'individus, n'excédant pas 15 % au niveau le plus sévère d'exposition à la drogue, continue à prendre de la cocaïne malgré le choix, même lorsqu'ils sont en privation alimentaire et qu'ils ont la possibilité de choisir un sucre naturel qui pourrait combler leur besoin en calories.

L'ensemble de ces résultats pourrait alors signifier que, comme chez l'être humain, l'addiction à la cocaïne ne touche qu'une fraction minoritaire d'individus, la large majorité restante étant résiliente à l'addiction (c'est-à-dire résistante quel que soit le degré d'exposition à la cocaïne). Le modèle de choix pourrait donc servir à révéler et à sélectionner objectivement et efficacement les individus vulnérables face à l'addiction. Les nombreuses applications de cette méthode de sélection par le choix sont discutées à la fin de ma thèse.

Table des matières

Résumé	3
Liste des publications	7
Liste des communications	8
Liste des figures et tableaux	9
Liste des abréviations	10
Introduction	11
Partie 1 : La notion d'addiction en tant que maladie psychiatrique	12
I. L'addiction en chiffres	12
II. Le concept de maladie psychiatrique	15
1. Historique rapide de la psychiatrie	15
2. La notion moderne de maladie mentale	16
3. La mise en place d'un outil diagnostique	19
III. L'addiction : un désordre psychiatrique ?	22
Partie 2 : Point sur notre compréhension de la neurobiologie de la cocaïne	25
I. Effet initial : accumulation de dopamine	25
II. Effet sur le système limbique	27
III. Effet sur le circuit glutamatergique	28
IV. Effet sur l'expression génique	29
Partie 3 : Les modèles animaux de l'addiction : progrès et limitations	31
I. Qu'est-ce qu'un modèle animal des maladies psychiatriques ?	31
II. Les critères permettant d'évaluer un modèle animal	32
1. Critère 1 : la fiabilité	33
2. Critère 2 : la validité	33
III. Les modèles animaux de l'addiction : de la prise de drogue...	37
1. Préférence de place conditionnée	38
2. Auto-administration de drogue	41
IV. Les modèles animaux de l'addiction : ... à la compulsion	48
1. Le modèle de l'accès différentiel à la drogue	49
2. Le modèle des trois critères	63

Partie 4 : La question du choix dans les modèles animaux d'addiction	67
I. L'enrichissement de l'environnement	68
II. L'influence d'une alternative à la drogue	71
III. Le modèle de choix	72
Objectifs du travail de thèse	77
Résultats expérimentaux	79
Article 1 : Une méthode d'identification par le choix des utilisateurs compulsifs de drogue chez le rat	80
Article 2 : La cocaïne est faible sur l'échelle de valeur du rat : premiers indices de l'existence d'un phénomène de résilience à l'addiction	110
Article 3 : Le diazépam favorise le choix de l'abstinence à la cocaïne chez le rat	126
Article 4 : La préférence pour le goût sucré face à la cocaïne persiste malgré une pré-exposition et un accès illimité au goût sucré.	142
Article 5 : Contrôle inhibiteur de la prise de drogue chez le rat et son absence chez les individus dépendants	162
Discussion	191
I. Synthèse et interprétation des principaux résultats obtenus	192
II. Discussion contradictoire	195
III. Perspective et comparaison avec d'autres approches	201
Références bibliographiques	204

Liste des publications

Augier E., Cantin L., Lenoir M., Vanhille N., Dubreucq S., Serre F., Vouillac C.,
Ahmed S.H. (2010)

Cocaine is low on the value ladder of rats: possible evidence for resilience to addiction
PLoS ONE 5(7):e11592.

Augier E., Vouillac C., Ahmed S.H. (2011)

Diazepam promotes choice of abstinence in cocaine self-administering rats
Addict Biol. [Epub ahead of print]

Lenoir M., Augier E., Vouillac C., Ahmed S.H. (2011)

A choice-based screening method for compulsive drug users in rats
Soumis

Augier E., Minhindou C., Vouillac C., Ahmed S.H. (2011)

*Preference for sweetness over cocaine persists despite pre-exposure and *ad libitum* access to sweet
taste*

En préparation

Augier E., Vouillac C., Ahmed S.H. (2011)

Proactive inhibitory control of cocaine use in rats and lack thereof in addicted individuals
Soumis



Augier E., Yoboue E.D., Galinier A., Casteilla L., Rigoulet M., Devin A. (2011)

*Redox control of the mitochondrial compartment biogenesis –mitogenesis- in the yeast
Saccharomyces cerevisiae : role of glutathione redox state*

Soumis

Liste des communications

Augier E , Vouillac C, Ahmed SH

Voluntary inhibition of cocaine intake in rats

11^{ème} Journée Scientifique de l'Ecole Doctorale Sciences de la Vie et de la Santé

Palais des Congrès d'Arcachon, Arcachon, France, 7 avril 2011

Augier E, Vouillac C, Ahmed SH

Diazepam promotes choice of abstinence in cocaine self-administering rats

Neuroscience 2011, the 41st annual meeting of the Society for Neuroscience,

Washington, DC, Etats-Unis, 12-16 Novembre 2011

Liste des figures et tableaux

Figure 1	Consommation de cocaïne recensée dans le monde en 2008.....	13
Figure 2	Le psychiatre Philippe Pinel fait enlever les fers aux aliénés de Bicêtre en 1793. ...	16
Figure 3	Fonctionnement d'un neurone dopaminergique	26
Figure 4	Le système limbique et les circuits clés de l'addiction	27
Figure 5	Système x_c^- au niveau d'une synapse glutamatergique	29
Figure 6	Cascade d'activation du récepteur dopaminergique D1	29
Figure 7	Appareil de mesure du CPP	38
Figure 8	Protocole d'auto-administration intraveineuse	42
Figure 9	Effet du temps d'accès à la cocaïne sur le pattern d'auto-administration.....	52
Figure 10	Méta-analyse des études publiées sur le modèle de l'accès différentiel chez le rat	53
Figure 11	Modification de la fonction effet-dose mesurée par PR induite par une escalade de la prise de cocaïne.	56
Figure 12	Effet de l'accès prolongé à la cocaïne sur la recherche de drogue	59
Figure 13	Extinction du comportement de recherche d'héroïne chez les rats ShA et LgA après escalade.	60
Figure 14	Effet d'un accès prolongé à la cocaïne sur la réinstallation de la cocaïne	61
Figure 15	Escalade croisée entre cocaïne et héroïne	63
Figure 16	Cage d'enrichissement de l'environnement	69
Figure 17	Protocole de choix.....	75
Tableau 1	Estimation du nombre de consommateurs de substances psychoactives en France métropolitaine parmi les 11-75 ans en 2009	13
Tableau 2	Prévalence annuelle de l'usage de cocaïne dans les pays de l'union européenne et de l'association de libre échange de l'union européenne, de 1998 à 2008	14
Tableau 3	Définition d'un désordre psychiatrique selon le DSM-IV-TR (2000) et proposition de révisions pour le futur DSM-V (prévu pour 2013).....	21
Tableau 4	Critères diagnostiques de la dépendance selon le DSM-IV-TR (2000) et proposition de révisions pour le futur DSM-V (prévu pour 2013).....	22
Tableau 5	Les différents types de validité permettant l'évaluation d'un modèle	34
Tableau 6	Drogues ayant servies de renforçateur par voie d'administration orale	44

Liste des abréviations

Certaines abréviations sont basées sur le nom en anglais du fait de leur usage courant au sein de la communauté scientifique française.

AMPC :	Adénosine MonoPhosphate cycline
APA :	Association Américaine de Psychiatrie
C :	Cocaïne
CPF :	Cortex PréFrontal
CPP :	Préférence de Place Conditionnée
CREB :	Elément de réponse à la liaison d'AMPC
DA :	Dopamine
DAT :	Transporteur Dopaminergique
DSM :	Manuel Diagnostique et Statistique des troubles mentaux
EC :	Condition Enrichie
EE :	Enrichissement de l'Environnement
FI :	Intervalle Fixe
FR :	Ratio Fixe
Glu :	Glutamate
GLT :	Transporteur Glutamatergique
HD :	Forte dose
HRein :	Faible réinstallation
IC :	Condition d'isolement
LD :	Faible dose
LRein :	Forte réinstallation
LgA :	Accès long
mGluR :	Récepteur Glutamatergique métabotropique
NAc :	Noyau Accumbens
NAC :	N-AcétylCystéine
NC :	Condition Normale
NET :	Transporteur Noradrénergique
OEDT :	Observatoire Européen des Drogues et des Toxicomanies
OFDT :	Observatoire Français des Drogues et des Toxicomanies
ONU DC :	Office des Nations unies contre la drogue et le crime
Pmax :	Prix maximal
PR :	Ratio Progressif
S :	Saccharine
SC :	Condition Sociale
ShA :	Accès court
VMAT 2 :	Transporteur Vésiculaire de Monoamine 2
VTA :	Aire Tegmentale Ventrale

INTRODUCTION



Partie 1 : LA NOTION D'ADDICTION EN TANT QUE MALADIE PSYCHIATRIQUE

La dépendance à la cocaïne, aussi appelée addiction, est un désordre psychiatrique chronique associé à un risque élevé de rechute (APA 1994). Ce trouble touche une fraction significative des consommateurs de cocaïne (environ 15%) et est caractérisé par (1) une compulsion de la recherche et de la prise de cocaïne, (2) une perte de la capacité de contrôler sa consommation et (3) l'émergence d'un état émotionnel négatif (par exemple anxiété, irritabilité) lorsque le sujet dépendant est sevré. Afin de bien comprendre cette notion de l'addiction en tant que désordre psychiatrique, qui est au centre des préoccupations pour l'établissement d'un modèle animal de l'addiction, j'ai choisi dans une première partie introductive de définir le concept de maladie psychiatrique, en le replaçant tout d'abord dans un contexte historique (Alexander 1995; Millon 2004; Shorter 1997). D'autre part, bien que conscient qu'il existe encore un débat concernant l'emploi approprié des termes addiction ou dépendance (Ahmed 2010 ; O'Brien 2006 ; Maddux and Desmond 2000), j'ai pris le parti, tout au long de cette thèse, d'utiliser les termes addiction et dépendance de manière interchangeable afin de désigner le même phénomène comme c'est le cas aujourd'hui dans la plupart des études dans le domaine de l'addiction. Mais avant d'aborder ces différentes questions, il est important de rappeler quelques chiffres clés permettant de mesurer le problème de santé que représente l'addiction à la cocaïne.

I. L'ADDICTION EN CHIFFRES

L'addiction aux drogues en général, et à la cocaïne en particulier, est devenu un problème de santé publique majeur ces dernières années. D'après les estimations de l'Observatoire français des drogues et des toxicomanies (OFDT), il y aurait eu près d'un million et demi de personnes consommant de la cocaïne en 2010 en France (soit une prévalence d'environ 4 %), en faisant la deuxième drogue illicite la plus consommée derrière le cannabis (voir [Tableau 1](#)).

Tableau 1 Estimation du nombre de consommateurs de substances psychoactives en France métropolitaine parmi les 11-75 ans en 2009

Les expérimentateurs ont eu au moins un usage au cours de leur vie. L'usage dans l'année est une consommation au moins une fois au cours de l'année. L'usage régulier fait référence pour l'alcool à une consommation d'au moins 3 fois dans la semaine, pour le tabac quotidiennement, et pour le cannabis d'au moins 10 fois au cours du mois ou 120 fois au cours de l'année. Le nombre d'individu de 11-75 ans est d'environ 49 millions. D'après OFDT 2010.

	Produits illicites				Produits licites	
	Cannabis	Cocaïne	Ecstasy	Héroïne	Alcool	Tabac
Expérimentateurs	13,4 M	1,5 M	1,1 M	500 000	44,4 M	35,5 M
dont usagers dans l'année	3,8 M	400 000	150 000	//	41,3 M	15,8 M
dont usagers réguliers	1,2 M	//	//	//	8,8 M	13,4 M
dont usagers quotidiens	550 000	//	//	//	5,0 M	13,4 M

Ce phénomène touche particulièrement les jeunes adultes, puisque cette prévalence est de 6 % pour les personnes âgées de 18 à 25 ans et atteint même les 7,6 % pour la population âgée entre 26 et 34 ans (OFDT 2010) .

Au niveau mondial, la cocaïne est particulièrement consommée dans les pays industrialisés comme le montre la **Figure 1**.

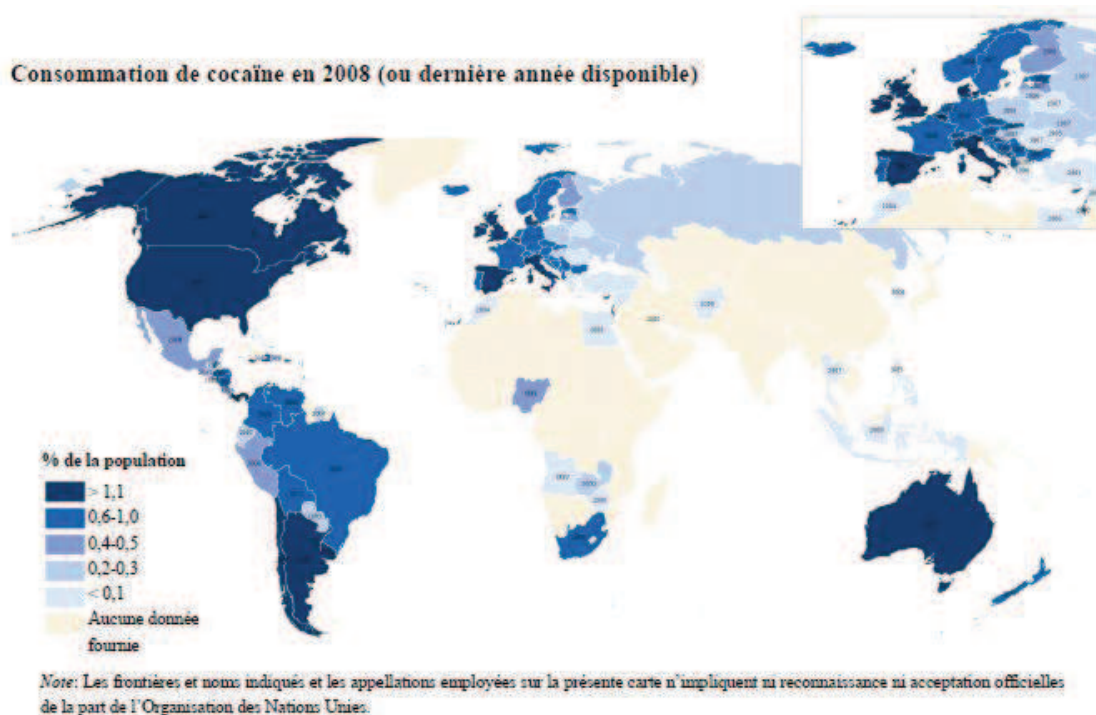
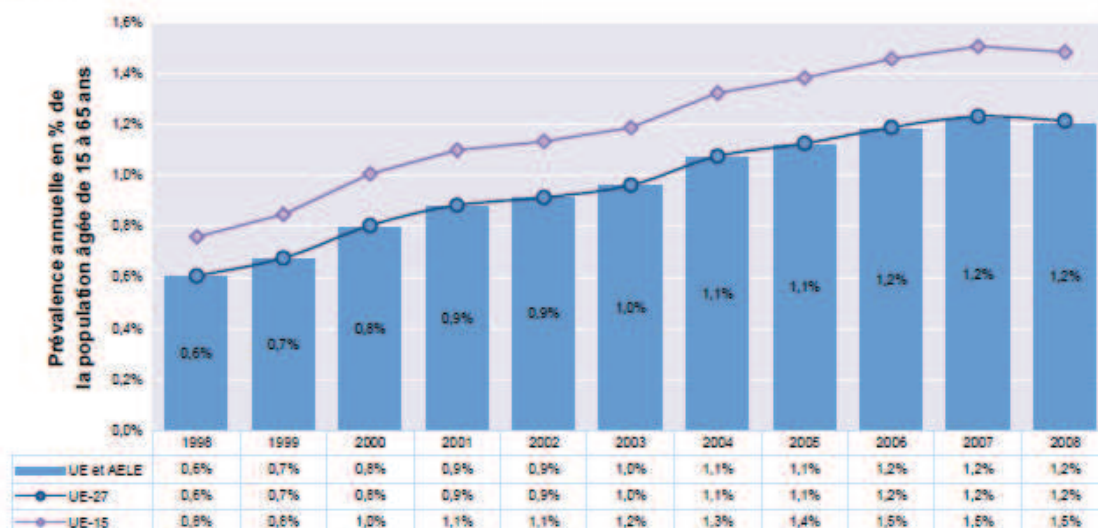


Figure 1 Consommation de cocaïne recensée dans le monde en 2008
D'après ONUDC 2010.

L'Amérique du Nord, où se trouve près des 40 % des consommateurs est le premier marché régional de la cocaïne, bien que cette tendance soit en passe de s'inverser. En effet, la consommation de cocaïne a sensiblement chuté aux Etats-Unis ces dernières années (ONUDC 2010) tandis qu'en Europe, le nombre de consommateurs a doublé en dix ans (voir [tableau 2](#)), passant de 2 millions en 1998 à 4,1 millions en 2008, faisant cette année-là pour la première fois du marché européen un marché presque aussi important que le marché nord-américain (34 milliards de dollars contre 37 milliards de dollars).

Tableau 2 Prévalence annuelle de l'usage de cocaïne dans les pays de l'union européenne et de l'association de libre échange de l'union européenne, de 1998 à 2008

Sources : questionnaire destiné aux rapports annuels et rapport mondial sur les drogues 2009 de l'UNODC ; rapports des gouvernements ; Bulletin statistique 2009 de l'OEDT.



Cependant, il est important de noter que ces enquêtes sur la prévalence de l'usage de la cocaïne dans le monde ne font pas la distinction entre les modes de consommation définis selon les classifications psychiatriques internationales : l'usage récréatif et occasionnel, l'usage nocif et la dépendance. Il est ainsi difficile de pouvoir estimer la proportion de consommateurs de cocaïne qui sont tombés dans la prise compulsive. Les quelques données dont nous disposons indiquent que la grande majorité des personnes qui consomment régulièrement de la cocaïne ne développeront pas une addiction à la substance (Anthony, et al. 1994; Anthony 2002; Degenhardt, et al. 2008).

II. LE CONCEPT DE MALADIE PSYCHIATRIQUE

1. Historique rapide de la psychiatrie

Dans le monde assyro-babylonien et chez les Hébreux, la maladie, qu'elle soit physique ou psychique, était considérée comme résultant d'un péché, et en représentait ainsi la punition : il y a assimilation de la folie et de la faute, de la maladie et de l'impureté, de la déraison et du péché, et de ce fait tendance à confondre le châtiment et le remède, avec l'idée d'une pénitence purificatrice forcée. Le traitement associe cependant des rites sacrés, des prières et des exorcismes.

Dans le monde grec et romain, la santé est fonction de l'équilibre des humeurs, et la pathologie, notamment psychique, est fonction des variations du milieu intérieur. La théorie humorale est établie par le Grec Hippocrate, environ 4 siècles avant notre ère. Dans ce système où il n'y a pas de différence de nature entre les maladies du corps et les maladies de l'esprit, la maladie est liée à un déséquilibre des humeurs ou dyscrasie : accumulation dans un organe, ascension au cerveau, etc. Il existe trois grands ordres de maladies mentales : Phrénitis (délire aigu fébrile), Manie (agitation sans fièvre) et Mélancolie (trouble chronique sans agitation et sans fièvre).

Durant la très longue période qui sépare la disparition de l'Empire romain d'Occident (476) et la chute de Constantinople (1453), qui constitue en quelque sorte l'ère antépsychiatrique, la science progresse peu dans le domaine étudié. L'idée prévalente dans la société reste que la folie est une manifestation du péché, une punition divine, quand elle n'est pas le signe d'une possession démoniaque. Le traitement de prédilection est donc le recours aux prêtres pour l'exorcisme, et aux saints, avec les pèlerinages, où l'on conduit des fous faire leurs neuvaines, comme à Saint-Mathurin de Larchant, ou à Saint-Hildevert de Gournay.

Le début de la Renaissance est marqué par une terrible tragédie, dont seront victimes d'authentiques malades mentaux, ainsi qu'un nombre élevé de personnes non malades avec l'application du bûcher pour sorcellerie. Certains médecins, parmi lesquels Jean Wier et Juan Luis Vives, s'insurgent contre la pratique du bûcher pour les fous, estimant que ces derniers doivent être traités avec bienveillance et qu'il existe un réel espoir de guérison. Un édit royal de 1682 met alors fin aux poursuites pour faits de sorcellerie. La folie passe enfin du

surnaturel au rang de maladie. Les XVII^{ème} et XVIII^{ème} siècles sont marqués par la création de grandes institutions, ne faisant enfin plus seulement office de prisons pour fou, mais se tournant progressivement vers la médicalisation des maladies mentales. Vers 1780, on ne compte guère plus de six établissements publics spécialisés ou possédant des salles réservées au traitement des fous.



Figure 2 Le psychiatre Philippe Pinel fait enlever les fers aux aliénés de Bicêtre en 1793. Tableau de Charles-Louis Mullet exposé dans le hall de réception de l'Académie Nationale de Médecine à Paris.

Après la révolution de 1789, sous l'égide des aliénistes de l'époque, les fous sortent enfin des prisons pour les asiles d'aliénés, dont ils souhaitent faire un lieu de guérison. Parmi ces aliénistes, le psychiatre Philippe Pinel exerça une forte influence sur la psychiatrie et le traitement des aliénés en Europe et aux Etats-Unis et bouleversa le regard sur les fous en affirmant qu'ils peuvent être soignés et compris. En 1793, nommé par décret médecin des aliénés de Bicêtre, il décide, avec son collaborateur Jean-Baptiste Pussin, de retirer leurs chaînes aux aliénés (Figure 2), puis applique la même réforme à la Salpêtrière en 1795. Il entreprend alors pour la première fois de classer les maladies mentales en catégories selon leurs signes cliniques et publie cette classification en 1798 sous le nom de « *Nosographie philosophique* ». En ce sens, il représente probablement le père de la psychiatrie.

2. La notion moderne de maladie mentale

Bien que l'établissement du concept de désordre mental soit essentiel dans l'espoir de pouvoir soigner un trouble psychiatrique, il n'existe à ce jour toujours aucun consensus sur la

définition de ce concept. Plusieurs approches majeures peuvent être dénombrées (Wakefield 1992; Wakefield 2007).

La première, **l'approche sceptique**, remet en question l'existence même de désordres psychiatriques et la cohérence de ce concept (Sarbin 1967; Szasz 1974). Pour les sceptiques, la notion de trouble mental est simplement une étiquette justifiant l'utilisation de l'appareil médical (au sens large, c'est-à-dire où toutes les professions concernées par la pathologie, y compris la psychiatrie et la psychologie clinique sont considérées comme médicales) pour intervenir sur un comportement socialement désapprouvé. Ils mettent en évidence par exemple le fait que les personnes « détectées » comme souffrant d'un désordre mental sont souvent stigmatisées et qu'un diagnostic de trouble mental ne sert qu'à instaurer un contrôle social. La force principale de cette approche est qu'elle explique la fréquence relativement élevée avec laquelle l'étiquette de maladie mentale a été incorrectement accolée à des phénomènes ne relevant nullement de la psychiatrie, comme par exemple la drapétomanie (une pseudo maladie mentale décrite par Samuel Cartwright en 1851 qui aurait été la raison expliquant que les esclaves Noirs fuient leur captivité et aurait été la conséquence d'une « trop grande familiarité des maîtres avec leur esclave, les traitant comme leurs égaux » (Cartwright 1851/1981)). Cependant, avec cette approche extrême, tout diagnostic de désordre mental n'est pas légitime, empêchant ainsi toute possibilité de distinguer les diagnostics justifiés de ceux incorrects et d'améliorer la définition de la notion de désordre psychiatrique. De plus, le principal argument des antipsychiatries selon lequel la catégorisation en trouble mental se fait essentiellement en termes de valeurs et de jugements et qu'un trouble mental est une déviance peut également s'appliquer à la médecine physique qui est également basée sur la définition de normes et de valeurs.

Bien que la réponse typique à l'approche sceptique consiste à arguer que la notion de désordre mental est une notion scientifique objective, de la même façon que celle de désordre physique, il existe un courant de pensée qui accepte la critique des sceptiques selon laquelle la notion de désordre mental n'est qu'une question de valeurs socialement réprouvées, et qui y répond en soulevant le fait que les désordres de type physique reposent également sur ce concept de valeur (Sedgwick 1982). Par exemple, le diagnostic d'une paralysie ou d'un diabète repose également sur l'établissement de normes et de valeurs. La deuxième approche définit ainsi le **désordre psychiatrique comme un simple concept de valeur**. Selon cette définition, un désordre n'est donc qu'une question de valeurs, de telle sorte que le jugement de la société envers un désordre n'est juste qu'un jugement de désirabilité en fonction de

normes et d'idéaux sociaux. Cette approche reflète une vérité importante : puisque les désordres sont des conditions négatives qui justifient l'implication de la société, les valeurs sociales sont impliquées. Cependant, cette approche exclusive présente le désavantage de ne faire des désordres (à la fois physiques et mentaux) que notion de valeur liée à la culture ne comportant aucun contenu scientifique, laissant la porte ouverte à l'utilisation du concept de maladie mentale à des fins de contrôle social.

La frustration engendrée devant la difficulté à analyser et définir la conception de troubles psychiatriques a conduit à l'approche plus pratique selon laquelle un **désordre serait tout simplement une condition qu'un professionnel de la santé pourrait traiter** (Kendell 1986; Taylor 1976). Kendell a par exemple suggéré d'arrêter de distinguer le diagnostic des désordres des « *problèmes pour lesquels les psychiatres sont actuellement consultés* ». Cependant, de nombreux problèmes traités par des professionnels de la santé ne sont clairement pas des désordres. Les professionnels sont régulièrement appelés à dispenser des « traitements » par exemple lors d'un accouchement, un avortement, de la chirurgie esthétique ou pour des troubles dus aux vicissitudes de la vie. Le Manuel Diagnostique et Statistique des troubles mentaux (DSM)-III-R (voir [partie 1 III](#)) proposait d'ailleurs une section spéciale regroupant les catégories diagnostiques pour des conditions qui ne sont pas des désordres, mais sont régulièrement traitées par des thérapeutes, telles que les problèmes conjugaux, les conflits entre parents et enfants ...

D'autres approches ont tenté de faire sauter la barrière instaurée entre troubles physiques et troubles mentaux et de trouver une définition de la maladie pouvant réconcilier les deux. C'est par exemple le cas de la définition d'un **désordre comme étant une déviance statistique**. En 1981, Henry Cohen définit la maladie comme étant une déviation quantitative de la norme statistique (Cohen 1981). Cette notion « d'anormalité » statistique fait d'ailleurs partie intégrante de nombreuses autres définitions d'un désordre, comme par exemple celles proposées par Taylor (Taylor 1971), Scadding (Scadding 1967), Kendell (Kendell 1975) et même le DSM-III-R. Un des premiers reproches que l'on pourrait faire à cette approche, est qu'une déviance statistique ne traduit pas obligatoirement un désordre. Par exemple, disposer d'une intelligence, d'une force physique, d'un talent ou d'une compétence au dessus de la moyenne représente une déviance statistique (de même que l'inverse), mais ne peut être considéré comme un désordre. Il a été ainsi proposé pour contourner ce problème d'ajouter à la définition le fait que la déviance doit être négative pour être considérée comme un

désordre. Cependant, il y a de nombreux comportements qui peuvent être considérés comme déviants et indésirables, mais ne sont pas pour autant des désordres. Ces comportements peuvent par exemple être criminels, incivils, ignorants, moralement réprouvés ou désavantageux. Par exemple, mesurer pour un homme à peine plus d'1m50 est statistiquement déviant et probablement gênant, mais ne constitue pas un désordre. Il en est de même pour la maladresse, avoir un temps de réaction lent ... A l'opposé, il existe également des conditions qui sont statistiquement « normales » mais sont pourtant des désordres, comme par exemple l'apparition de caries dentaires, un phénomène qui devient de plus en plus statistiquement « normal » dans la société occidentale.

Afin d'établir une définition du désordre en des termes purement scientifiques, il faut donc plus qu'une simple observation de déviation statistique. C'est ainsi qu'il a été proposé de définir un **désordre comme un désavantage biologique**. Cette approche biologique est basée sur la théorie de l'évolution et décrit les mécanismes mentaux et comportementaux comme une représentation biologiquement légitime des mécanismes avantageux qui ont été naturellement sélectionnés (Buss 1991).

3. La mise en place d'un outil diagnostique

Afin de répondre à la controverse sur la notion de désordre psychiatrique, l'Association Américaine de Psychiatrie (APA, www.psych.org) a entrepris de créer un manuel officiel de classification des troubles mentaux, le DSM qui fait aujourd'hui office de référence classifiant et catégorisant des critères diagnostiques permettant de déceler des troubles psychiatriques spécifiques.

❖ *Historique*

La première édition du manuel (DSM I) a été publiée en 1952 et regroupait le diagnostique de 60 pathologies différentes. La deuxième version (DSM-II), éditée en 1968 augmentait le diagnostique jusqu'à 145 pathologies différentes. Ces deux éditions étaient fortement influencées par l'approche psychanalytique. Il n'y avait pas de distinction claire entre normalité et anormalité, et tous les désordres recensés étaient considérés comme des réactions à des événements environnementaux. Ces versions préliminaires du DSM faisaient la distinction entre deux formes de troubles psychiques : les psychoses et les névroses. Les

psychoses se caractérisent typiquement par des hallucinations, un raisonnement illogique et une perte de contact avec la réalité tandis que les névroses sont des désordres mentaux plus modérés caractérisés par des distorsions de la réalité, mais pas une perte totale de contact avec la réalité. Elles furent déjà très controversées, l'exemple le plus frappant étant celui de l'homosexualité qui était classée comme un désordre mental dans le DSM-II, une classification qui fut retirée après un vote de l'APA en 1973.

En 1980, suite à une troisième révision (DSM-III) dirigée par Robert Spitzer, l'approche psychanalytique est abandonnée au profit du modèle médical, faisant pour la première fois une distinction claire entre normalité et anormalité. Le DSM nouveau marque ainsi une rupture radicale avec le DSM-II, se voulant purement empirique et détaché de toute théorie, et en particulier des théories psychanalytiques. Le système de classification vise à rompre pour la première fois la barrière entre maladies psychiatriques et maladies somatiques, par l'utilisation d'un modèle biomédical évacuant toute considération sur l'**étiologie** des troubles psychiatriques. Une forme révisée (DSM-III-R) sera publiée en 1987, affinant de nombreux critères et syndromes pour un total de 292 diagnostiques. En 1994 sort la quatrième édition, le DSM-IV qui recense 410 troubles psychiatriques et subira une révision textuelle en 2000 (DSM-IV-TR). La dernière version, DSM-V, est attendue pour mai 2013.

Le manuel fait aujourd'hui référence et est utilisé aux Etats-Unis, ainsi qu'à travers le monde par les cliniciens, chercheurs, psychiatres et même les compagnies d'assurance. Depuis la troisième révision, les diagnostiques de pathologie psychiatrique reposent sur l'identification clinique de syndromes et de leur articulation en cinq axes dans une approche statistique et quantitative. L'étiologie des pathologies n'y est plus du tout envisagée. La définition d'un désordre psychiatrique selon le DSM-IV (et les révisions proposées pour le DSM-V) est résumée dans **le Tableau 3**.

La valeur clinique du DSM, depuis la troisième édition, est l'objet de vives critiques de la part de certains psychiatres et psychologues cliniciens, entre autres ceux qui se réfèrent à la psychopathologie psychanalytique. Le choix et l'inclusion de certains troubles dans le manuel font également office de soupçons et d'accusations de conflit d'intérêt.

Tableau 3 Définition d'un désordre psychiatrique selon le DSM-IV-TR (2000) et proposition de révisions pour le futur DSM-V (prévu pour 2013)

Définition d'un désordre psychiatrique selon le DSM-IV	Proposition du DSM-V pour la définition d'un désordre psychiatrique
<i>Caractéristiques</i>	
• Un comportement cliniquement significatif ou un syndrome psychologique • Ce comportement est associé à une souffrance (par exemple un symptôme douloureux) ou à un handicap (une détérioration d'une ou plusieurs aires importantes de fonctionnement) ou à un risque sensiblement augmenté de mort, de souffrance, d'handicap ou d'une importante perte d'autonomie. • La manifestation d'un dysfonctionnement comportemental, psychologique ou biologique chez l'individu • Ce syndrome ne doit pas être simplement une réponse prévisible et culturellement réprouvée à un événement particulier (par exemple le décès d'un être cher) • Un comportement déviant (politique, religieux ou sexuel) ou un conflit opposant l'individu à la société ne peuvent être considérés comme des désordres mentaux, à moins qu'ils résultent d'un dysfonctionnement chez l'individu.	• Un syndrome comportemental ou psychologique qui a lieu chez un individu • Les conséquences de celui-ci étant une détresse cliniquement significative (par exemple un symptôme douloureux) ou à un handicap (une détérioration d'une ou plusieurs aires importantes de fonctionnement) • Reflète un dysfonctionnement psychobiologique sous-jacent • Ne doit pas simplement être une réponse prévisible à des stressors ou des pertes communs (par exemple le décès d'un être cher) ou une réponse sanctionnée culturellement à un événement particulier (par exemple les états de transe durant des rituels religieux) • N'est pas la conséquence primaire du résultat d'une déviance sociale ou de conflits avec la société
<i>Autres considérations</i>	
• • • Il n'existe pas de définition appropriée permettant de spécifier les limites précises pour le concept de désordre mental. • Le concept de désordre mental (comme de nombreux autres concepts en médecine et en science) manque d'une définition opérationnelle et consistante qui couvre toutes les situations.	• Doit avoir une validité diagnostique établie à l'aide de différents validateurs diagnostiques (réponse au traitement, perturbation psychobiologique) • A une utilité clinique (par exemple, contribue à une meilleure conceptualisation des diagnostics, ou à une meilleure évaluation et traitement) • Il n'existe pas de définition qui précise parfaitement les limites du concept de « désordre médical et/ou de « désordre mental/psychiatrique » • Lorsque l'on considère l'ajout ou le retrait d'une condition mentale/psychiatrique à la nomenclature, les bénéfices potentiels (c'est-à-dire apporter un meilleur soin au patient, stimuler de nouvelles recherches) devraient toujours prendre le dessus sur les limitations potentielles (blesser certains individus, être sujet à une mauvaise utilisation)

III. L'ADDICTION : UN DESORDRE PSYCHIATRIQUE ?

La définition moderne de l'addiction en tant que désordre psychiatrique a été introduite dans le DSM-III-R. Le côté clinique est marqué par une consommation compulsive de la drogue que l'individu ne peut contrôler. Des symptômes de tolérance et de manque peuvent être présents, mais ne signalent pas nécessairement une addiction. Les éléments caractéristiques d'une addiction sont plutôt un comportement persistant et récurrent de recherche de drogue au détriment de la poursuite d'autres activités et récompenses plus habituelles. Cette définition présupposait, sans disposer alors de preuves claires, que le syndrome d'addiction serait une neuropathologie commune à de nombreuses drogues pharmacologiquement différentes.

On peut considérer qu'il existe principalement deux conceptions de l'addiction aux drogues : d'un côté l'addiction comme une maladie et de l'autre l'addiction comme un désordre de choix. Concernant la première, l'addiction aux drogues est un désordre chronique (Hyman 2005; Hyman 2007b; Jellinek 1952; Lyvers 2000; McLellan, et al. 2000), une maladie du cerveau qui annihile la capacité de la personne à agir librement, de façon volontaire et rationnelle. Elle serait caractérisée par une diminution de la capacité à contrôler l'usage de drogues, et ce même en ayant connaissance de facteurs qui devraient motiver l'abandon de l'usage de drogues (Hyman 2007b). Cette conception de l'addiction s'accorde ainsi bien avec celle prônée par l'APA dans son manuel de classification des maladies mentales (voir **Tableau 4**).

Tableau 4 (page suivante) Critères diagnostiques de la dépendance selon le DSM-IV-TR (2000) et proposition de révisions pour le futur DSM-V (prévu pour 2013)

l'évolution principale se situe dans l'augmentation du nombre de critères diagnostiques permettant l'identification d'une dépendance (onze au lieu de sept)

Remarque: La tolérance n'est pas prise en compte pour ceux qui prennent des médicaments sous surveillance médicale comme les analgésiques, les antidépresseurs, les anxiolytiques ou les bêta-bloquants.

Critères diagnostiques de la dépendance d'après le DSM-IV-TR

Mode d'utilisation inadaptée d'une substance conduisant à une altération du fonctionnement ou une souffrance, cliniquement significative, caractérisée par la présence de trois (ou plus) des manifestations suivantes, survenant à un moment quelconque d'une période de 12 mois:

- La substance est souvent prise en quantité plus importante ou pendant une période plus longue que prévue
- Désir persistant ou des efforts infructueux pour diminuer ou contrôler l'usage de la substance
- Beaucoup de temps est consacré à des activités nécessaires pour obtenir la substance, l'utilisation du produit, ou à récupérer de ses effets
- Abandon ou réduction des activités sociales, professionnelles ou de loisirs à cause de l'utilisation de la substance
- Utilisation de la substance est maintenue bien que la personne soit consciente d'avoir un problème psychologique ou physique persistant ou récurrent susceptible d'avoir été causé ou exacerbé par la substance.

Tolérance, définie par l'un des éléments suivants:

- Besoin de quantités plus importantes de la substance pour obtenir une intoxication ou l'effet désiré
- Effet notablement diminué en cas d'utilisation continue d'une même quantité de la substance

Effet de manque, qui se manifeste par une des méthodes suivantes:

- Syndrome de sevrage caractéristique de la substance
- La même substance (ou une substance très proche) est prise pour soulager ou éviter les symptômes de sevrage

Proposition du DSM-V pour les critères diagnostiques de la dépendance

Mode de consommation inadapté de substances conduisant à une altération ou une détresse cliniquement significative, qui se manifeste par deux (ou plus) des éléments suivants, survenant dans un délai de 12 mois

- Utilisation répétée d'une substance conduisant à l'incapacité de remplir des obligations majeures au travail, à l'école, ou à la maison (absences répétées ou mauvaises performances au travail, exclusions temporaires ou définitives de l'école, négligence des enfants ou du ménage)
- Utilisation répétée d'une substance dans des situations où elle devient physiquement dangereuse (utilisation d'un véhicule ou d'une machine avec facultés affaiblies par l'usage de substances)
- Utilisation de la substance malgré des problèmes persistants ou récurrents sociaux ou interpersonnels causés ou exacerbés par les effets de la substance (disputes à propos des conséquences de l'intoxication, bagarres)
- La substance est souvent prise en quantité plus importante ou pendant une période plus longue que prévue
- Désir persistant ou des efforts infructueux pour diminuer ou contrôler l'usage de substances
- Beaucoup de temps est consacré à des activités nécessaires pour obtenir la substance, l'utilisation du produit, ou à récupérer de ses effets
- Les activités importantes, sociales, professionnelles ou de loisirs sont abandonnées ou réduites à cause de l'usage de substances
- Utilisation la substance est maintenue malgré la connaissance d'avoir un problème persistant ou récurrent (physique ou psychologique) qui est susceptible d'avoir été causé ou exacerbé par la substance
- Envie ou un désir puissant ou un besoin d'utiliser une substance spécifique

- Besoin de quantités notablement plus importantes de la substance pour obtenir une intoxication ou l'effet désiré
- Effet notablement diminué avec l'utilisation continue de la même quantité de la substance

Effet de manque, qui se manifeste par une des méthodes suivantes:

- Syndrome de sevrage caractéristique de la substance (voir les critères A et B des critères de Sevrage à une substance spécifique)
- La même substance (ou une substance très proche) est prise pour soulager ou éviter les symptômes de sevrage

Index de sévérité :

- Modéré : 2-3 critères positifs
- Sévère : 4 ou plus de critères positifs

D'autre part, il existe un autre point de vue défendu par d'autres chercheurs définissant l'addiction comme un choix volontaire (Ainslie 2000; Herrnstein 1991; Heyman 2009; Heyman 1996; Schelling 1980; Thaler 1981), mais pas dans le sens d'une décision rationnelle prise au cours de sa vie comme certaines théories de la dépendance rationnelle (Becker 1988; Dalrymple 2006; Schaler 2000). Le consommateur de drogue ne choisit pas de façon rationnelle et par avance de devenir dépendant. La transition d'une consommation récréative vers l'addiction arrive de façon inattendue et est plutôt la conséquence indésirable d'une somme de choix quotidien, pas forcément les plus judicieux, bien que « normaux ». Par exemple, bien que prendre des décisions de façon impulsive (c'est-à-dire faire le choix de la meilleure option immédiate sans prendre en compte les options à long terme qui pourraient s'avérer meilleures) soit devenu très courant chez l'être humain (que ce soit les jeunes ou les adultes), cela peut dans certaines circonstances amener vers la dépendance (par exemple, une augmentation de la disponibilité de la drogue combinée avec le manque d'opportunité et d'options alternatives intéressantes (Heyman 2009)). Selon cette théorie, il n'y aurait donc pas de perte de contrôle pathologique ni aucun dysfonctionnement du cerveau qui privent l'individu de sa capacité à faire un choix libre et volontaire. Même au plus fort de son addiction, le sujet dépendant continuerait à disposer de sa capacité à exercer un contrôle sur son usage de drogues et serait même capable d'abandonner la drogue, avec ou sans l'aide de professionnels, et si les circonstances sont favorables (Heyman 2009). La conception de l'addiction en tant que choix volontaire mais irrationnel est soutenue par les taux élevés de guérison spontanée observée avec l'addiction et présente une bonne compatibilité avec l'efficacité des thérapies comportementales utilisées contre l'addiction à la cocaïne, comme par exemple celles prônant l'utilisation de bons d'achats ou de prix (Heyman 2009).

Il peut sembler étonnant qu'après près d'un siècle de débat et de recherche sur l'addiction, la communauté scientifique n'ait pas encore trouvé de consensus sur la nature de ce trouble et que deux conceptions générales de la dépendance puissent coexister. Cependant, les arguments scientifiques sont solides et cohérents des deux côtés et, en l'absence de preuves claires de la nature de cette neuropathologie chez l'être humain, il apparaît difficile de privilégier l'une ou l'autre de ces conceptions.

Partie 2 : POINT SUR NOTRE COMPREHENSION DE LA NEUROBIOLOGIE DE LA COCAÏNE

La cocaïne possède des effets psychoactifs et addictifs principalement par son action sur le système limbique, qui est constitué d'un ensemble de régions neuronales interconnectées régulant la motivation et le plaisir (Nestler 2005, Noble 2008). L'effet initial et de courte durée de la cocaïne, une accumulation d'un neurotransmetteur (la dopamine) donne lieu à un sentiment de plaisir et d'euphorie. Cette accumulation est due à deux phénomènes conjugués : la libération de dopamine ainsi que la diminution de la réentrée de dopamine.

I. EFFET INITIAL : ACCUMULATION DE DOPAMINE

Après injection, la cocaïne pénètre rapidement dans le sang et dans le cerveau. L'effet initial de la drogue est atteint immédiatement, provoqué par une accumulation d'un neurotransmetteur, la dopamine. Elle trouve son origine dans des cellules particulières du cerveau, les neurones dopaminergiques, situés dans la substance noire et dans l'aire tegmentale ventrale (VTA) (Schultz 1997). Après avoir été produite dans le cytoplasme des terminaisons présynaptiques, la dopamine est chargée dans des vésicules synaptiques par un transporteur VMAT-2. À l'arrivée d'un potentiel d'action, les vésicules libèrent leur contenu dans la fente synaptique par exocytose. Les molécules de dopamine libres sont en partie captées par des récepteurs présents à la surface de cellules postsynaptiques voisines, ce qui permet une stimulation des récepteurs et une transmission du signal neuronal par transduction (voir **Figure 3.a**).

En temps normal, environ 80% de la dopamine libérée est recaptée par les neurones dopaminergiques présynaptiques grâce à l'action de transporteurs sélectifs DAT (dopamine active transporter), sauf au niveau du cortex préfrontal (CPF), où l'expression des DAT est très faible. Le recaptage se fait alors par les neurones noradrénergiques sous l'action du transporteur NET. (Nestler 2005)

Introduction

On connaît à l'heure actuelle cinq types de récepteurs de la dopamine, tous couplés aux protéines G, qui sont classés en deux grands groupes, selon la nature de la protéine G à laquelle ils sont couplés. Les récepteurs de type D₁, comprenant les sous-types D₁ et D₅, sont couplés à la protéine G_s et stimulent la production d'AMPc par l'adénylate cyclase. Les récepteurs de type D₂, comprenant les sous-types D₂, D₃ et D₄, sont quant à eux couplés à la protéine G_i et diminuent la production d'AMPc. (Missale, et al. 1998, Jaber, et al. 1996)

La cocaïne va agir en bloquant la recapture de dopamine (Hall, et al. 2002). En se fixant sur les transporteurs chargés d'éliminer l'excès de neurotransmetteur de la fente synaptique, la cocaïne empêche ceux-ci d'être recaptés par le neurone émetteur et fait ainsi augmenter leur concentration dans la synapse (voir [Figure 3.b](#)). L'augmentation de la dopamine extracellulaire va donc fortement amplifier la transmission sur le neurone post-synaptique. Il est à noter que la cocaïne inhibe également les transporteurs d'autres neurotransmetteurs (Hall, et al. 2002) (noradrénaline et sérotonine), mais cette action n'est pas considérée comme jouant un rôle majeur dans les mécanismes de la récompense. (Nestler 2005)

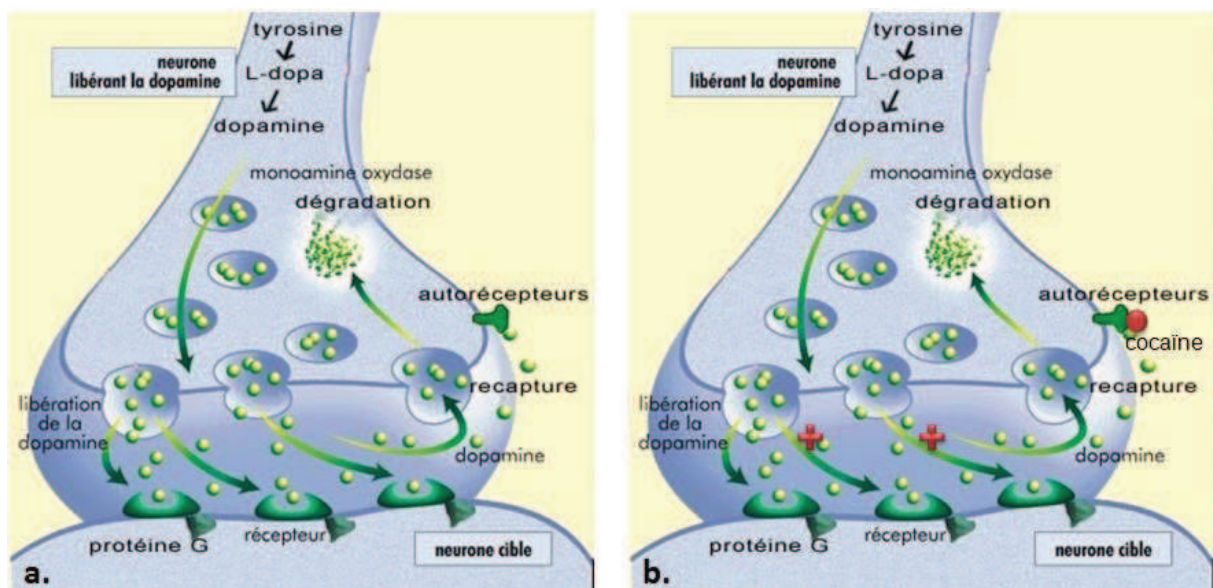


Figure 3 Fonctionnement d'un neurone dopaminergique

A l'état normal, (a) la dopamine est recaptée par les autorécepteurs. Sous l'effet de la cocaïne (b), les autorécepteurs vont être bloqués et empêcher ainsi la recapture de la dopamine, augmentant la concentration dans la synapse.

II. EFFET SUR LE SYSTEME LIMBIQUE

Comme nous venons de le voir, l'effet premier de la cocaïne est d'entraîner une accumulation de dopamine dans toutes les régions du cerveau disposant de DAT. Cependant, sa capacité à entraîner une sensation de plaisir et d'euphorie, et peut être de perte de contrôle chez le consommateur, est liée à son action sur un ensemble de régions interconnectées de la partie avant du cerveau qui forment le système limbique (Hyman and Malenka 2001; Kalivas and McFarland 2003; Nestler 2001) (voir **Figure 4**). Ce système joue un rôle très important dans le contrôle des émotions et la formation de la mémoire, et est fortement concentré en neurones dopaminergiques.

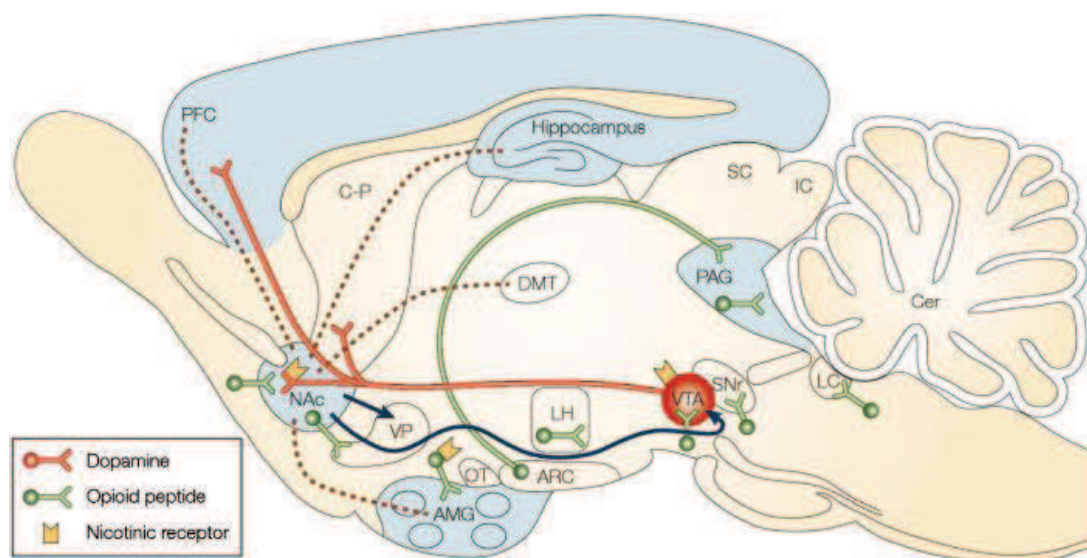


Figure 4 Le système limbique et les circuits clés de l'addiction

Les flèches représentent les innervations du Noyau Accumbens pouvant être lié à l'addiction à la drogue. Les projections rouges représentent les voies méso limbiques dopaminergiques, prenant origine dans l'aire tegmentale ventrale pour aller au noyau accumbens ainsi qu'à d'autres structures comme l'amygdale, ou le cortex préfrontal.

D'après Chao et Nestler 2004.

Parmi les différentes régions de ce système, c'est le noyau accumbens (NAc) qui semble être au centre des propriétés hédoniques des drogues. Lorsqu'elles sont stimulées par la dopamine, les cellules du NAc produisent une sensation de plaisir et de satisfaction. La fonction naturelle de cette réponse est de promouvoir l'apprentissage de comportements utiles biologiquement, c'est-à-dire favorisant la survie et la reproduction de l'espèce. Comme le font des stimuli essentiels tels que la nourriture et la sexualité (Schultz 1998; Schultz 2001), la cocaïne possède les propriétés dopaminergiques nécessaires pour permettre l'acquisition de comportements qui engendrent la répétition de leur consommation. De plus, l'ampleur de

l'accumulation de dopamine induite par la cocaïne (comme pour la plupart des drogues) est très supérieure à celle induite par les récompenses naturelles (Di Chiara and Imperato 1988), en particulier dû à son effet inhibiteur sur les DAT (voir partie précédente) et ne serait pas soumise au phénomène d'habituation (Kalivas and O'Brien 2008). En permettant artificiellement une forte libération de dopamine dans le NAc, la cocaïne produit des sensations de plaisir qui dépasseraient celles des récompenses naturelles, « court-circuitant » le système de récompense.

Le système limbique contient également des centres essentiels de la mémoire, localisés dans l'hippocampe et l'amygdale.

III. EFFET SUR LE CIRCUIT GLUTAMATERGIQUE

Des données récentes ont permis de jeter un nouvel éclairage sur la neurobiologie de l'addiction et de pointer la possible contribution des circuits glutamatergiques dans les phénomènes d'addiction (Kalivas 2009). Le glutamate constitue à lui-seul pratiquement 70 % de la transmission cérébrale et des projections glutamatergiques existent sur plusieurs composantes des circuits dopaminergiques impliquées dans l'addiction (NAc, CPF et amygdale). Cette localisation suggère que l'interaction entre glutamate et dopamine pourrait être impliquée dans les mécanismes neurobiologiques sous-jacents à la dépendance aux drogues (Gass and Olive 2008). Renforçant cette hypothèse, il a pu être montré que la cocaïne altérait la libération de glutamate dans le NAc et le CPF (Kalivas and O'Brien 2008) en agissant sur l'échange cystine-glutamate (voir [Figure 5](#)). Environ 60 % du niveau basal de glutamate extracellulaire provient de cet échange (Baker, et al. 2002a; Baker, et al. 2002b) qui constitue l'étape limitante de la synthèse de glutathion (McBean 2002).

L'échangeur xc^- est normalement exprimé sous forme d'hétérodimère, et des injections répétées de cocaïne réduisent l'activité de l'échangeur, en diminuant la quantité de sous-unité catalytique (Madayag, et al. 2007; Pendyam, et al. 2009). Par conséquent, le niveau basal de glutamate extracellulaire se trouve réduit d'environ 50 %, un effet qui peut être reversé en utilisant la N-acétylcystéine (NAC), une molécule possédant un effet antioxydant (Madayag, et al. 2007). Après administration, elle est déacétylée et dimérisée en cystine, qui pourra alors être transportée par l'antiport xc^- , en échange de la ressortie d'une molécule de glutamate.

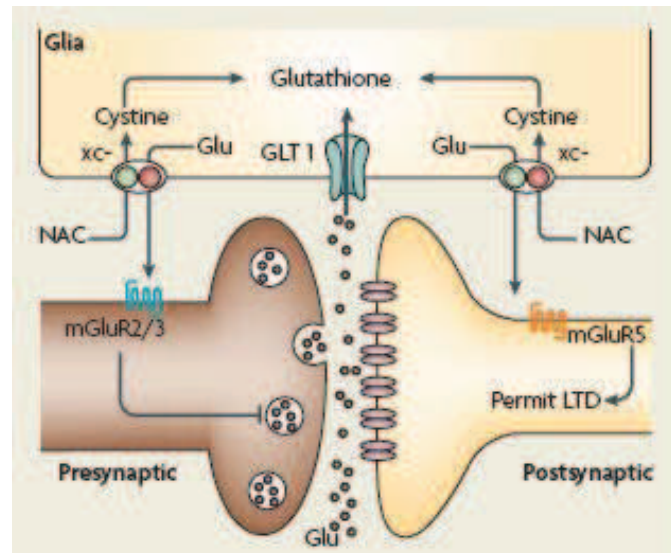


Figure 5 Système xc⁻ au niveau d'une synapse glutamatergique

Schéma d'une synapse tripartite glutamatergique où la cellule gliale joue un rôle dans l'augmentation de la concentration synaptique de glutamate grâce aux échangeurs cystine/glutamate (système xc⁻). D'après Kalivas 2009.

IV.EFFET SUR L'EXPRESSION GENIQUE

Récemment, il a été montré que la cocaïne affecte l'expression de nombreux gènes dans le NAc. Parmi ceux-ci, c'est le facteur de transcription DeltaFosB qui intéresse le plus les chercheurs. Il fait partie de la cascade de signalisation des récepteurs D1 (voir Figure 6).

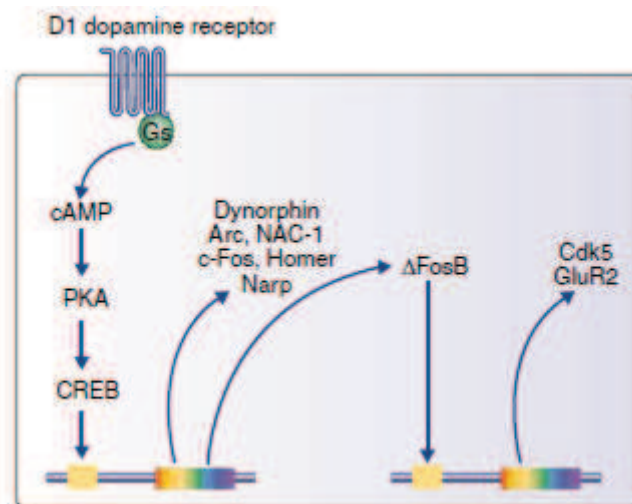


Figure 6 Cascade d'activation du récepteur dopaminergique D1

Schéma d'après Kalivas and O'Brien 2008.

L'activation des récepteurs D1 par la dopamine provoque une cascade de stimulations qui entraîne l'augmentation de la quantité d'AMPc, de la protéine kinase A ainsi que du facteur de régulation CREB (cAMP Response Element Binding), responsable de la régulation de gènes suspectés d'avoir un rôle important dans l'addiction, tels que les gènes préprodynorphin, Homer et deltaFosB (Kalivas and O'Brien 2008). Alors que deltaFosB, dont le rôle est de réguler la transcription de certains gènes, est présent naturellement en petites quantités dans les cellules du NAc, une exposition chronique à la cocaïne entraîne une accumulation de grande quantité de ce facteur de transcription (Nestler, et al. 2001). Plusieurs données laissent à penser qu'il pourrait jouer un rôle dans le passage d'une consommation récréative de drogue à une consommation compulsive : son expression est associée à une augmentation de l'effet renforçateur de différentes drogues dont la cocaïne (Kalivas and O'Brien 2008; Nestler 2008; Zachariou, et al. 2006).

Partie 3 : LES MODELES ANIMAUX DE L'ADDICTION : PROGRES ET LIMITATIONS

Comme nous l'avons vu précédemment, l'étude de l'addiction directement à travers le modèle humain est rendue très difficile par un certain nombre de considérations : problèmes éthiques, limitations des techniques, méthodes employées corrélationnelles ainsi que difficultés d'utiliser des méthodes interventionnistes pour étudier les mécanismes neuronaux en cause.

Il est donc apparu très tôt à la communauté scientifique qu'il était indispensable de tenter de modéliser l'addiction dans des modèles animaux. Dans un premier temps, nous discuterons de la signification d'un modèle animal en psychiatrie et de ce que l'on doit attendre d'un bon modèle. Nous nous attacherons ensuite à présenter l'historique des différents modèles animaux de prise de cocaïne, en soulignant les forces et faiblesses de chacun.

I. QU'EST-CE QU'UN MODELE ANIMAL DES MALADIES PSYCHIATRIQUES ?

La modélisation des désordres humains neuropsychiatriques chez l'animal représente un challenge important, en raison en particulier de la nature subjective de nombreux symptômes, du manque de marqueurs biologiques clairs et de tests diagnostiques totalement objectifs, ainsi que de l'état encore précoce de nos connaissances de la génétique et de la neurobiologie humaine de ces phénomènes. De ce fait, les progrès dans la compréhension de la physiopathologie profiteront grandement à l'amélioration des modèles animaux.

D'une manière générale, un modèle peut être défini comme un protocole expérimental développé dans le but d'étudier un phénomène existant dans la même ou dans différentes espèces. Habituellement, les modèles sont des protocoles chez l'animal qui tentent de mimer les conditions humaines, incluant la psychopathologie humaine. C'est pourquoi en développant un modèle animal, il est indispensable d'être capable d'énoncer le but explicite recherché pour ce modèle, ce qui déterminera les critères objectifs que ce modèle doit satisfaire pour être considéré comme valide.

Dans l'idéal, un modèle animal d'un désordre psychiatrique mimerait un syndrome psychiatrique dans sa globalité, c'est-à-dire qu'il faudrait pouvoir établir une **homologie** entre le comportement de l'animal affecté et le syndrome que l'on veut modéliser. Par exemple, les

signes et les symptômes caractéristiques de la pathologie d'intérêt doivent être identifiés et énumérés. La capacité de la manipulation expérimentale à induire des changements homologues chez l'animal testé doit être déterminée. Dans la réalité, cette approche s'avère compliquée par plusieurs facteurs : premièrement car elle repose sur des similarités apparentes (validité apparente) qui sont difficiles à défendre et caractériser (absence de biomarqueurs clairs) et deuxièmement car les symptômes définissant un désordre particulier sont souvent définis en des termes subjectifs. D'autre part, les critères définissant un désordre psychiatrique, ainsi que les catégories diagnostiques elles-mêmes, sont régulièrement révisées et redéfinies.

Enfin, la finalité d'un modèle animal est de permettre l'étude systématique des traitements thérapeutiques potentiels, l'identification de nouvelles cibles pour de nouveaux traitements, ainsi que la compréhension des mécanismes d'action des traitements déjà existants.

II. LES CRITERES PERMETTANT D'EVALUER UN MODELE ANIMAL

Afin d'évaluer la validité d'un modèle, il est bien sûr indispensable de ne pas perdre de vue le but initial qui a motivé le développement de ce modèle. Ainsi, en neurosciences, le but d'un modèle est le plus souvent de permettre la compréhension d'un comportement humain et d'en élucider les mécanismes neurobiologiques.

Après de nombreux débats et discussions (Markou, et al. 1993; Matthysse 1986; McKinney and Bunney 1969), la communauté scientifique s'est accordée sur des critères pouvant représenter des standards s'appliquant à n'importe quel modèle. Il est à noter que l'établissement de ces critères est basé sur la supposition selon laquelle il existe une homologie, ou au moins une analogie, plus ou moins élevée entre les caractéristiques physiologiques et comportementales de différentes espèces : de ce fait, il est possible de faire des extrapolations de l'animal vers le modèle humain. Deux critères principaux ont ainsi été définis : la fiabilité et la validité, cette dernière se divisant en différentes catégories : validité apparente ou phénoménologique, validité constructive, validité prédictive et validité étiologique. Nous définirons chacun de ces critères, bien que le nombre de critères nécessaires et suffisants à la validation d'un modèle fasse encore débat (Markou, et al. 1993) .

1. Critère 1 : La fiabilité

La fiabilité fait référence à la consistance et la stabilité avec lesquelles la variable d'intérêt est observée. Cette stabilité devrait être ainsi évidente (se retrouver) (i) dans l'habileté à mesurer la variable de façon objective ; (ii) dans sa faible variabilité inter-sujet ; (iii) dans sa faible variabilité intra-sujet ; (iv) dans la reproductibilité du phénomène dans des conditions similaires ; (v) dans la reproductibilité des effets observés après différentes manipulations de la variable (Markou, et al. 1993).

Avoir un système expérimental fiable et reproductible s'avère donc comme le premier critère indispensable à toute étude scientifique. Cependant, bien qu'une faible variabilité entre groupes et sujets soit préférable, il peut y avoir des cas où l'étude de la variabilité observée dans le modèle peut permettre une meilleure compréhension du phénomène. La variabilité n'est donc pas toujours synonyme d'erreur expérimentale.

Par exemple, comme nous le verrons par la suite, c'est le cas avec notre modèle de choix où l'étude séparée et comparative des rats qui se détournent de la drogue de ceux considérés comme dépendants pourrait nous fournir des informations importantes sur les mécanismes neurobiologiques impliqués dans le passage d'une consommation récréative de drogue à une consommation compulsive.

2. Critère 2 : La validité

De nombreuses catégories de validité ont été décrites et définies (Campbell and Fiske 1959; Cronbach and Meehl 1955; Mosier 1947), parmi lesquelles la validité apparente ou phénoménologique, la validité constructive, la validité prédictive et la validité étiologique (voir **Tableau 5**). Selon la nature et l'effet recherché du test, différents types de validité peuvent être pertinents.

La validité prédictive est généralement définie comme la capacité d'un modèle à prédire un critère d'intérêt pour l'expérimentateur (Cronbach and Meehl 1955). Dans le cas d'un modèle animal, ce critère d'intérêt est le phénomène humain. Ainsi, un modèle animal peut être considéré comme répondant au critère de validité prédictive s'il permet de faire des prédictions, vérifiées par la suite, sur le phénomène humain en se basant sur les résultats obtenus avec ce modèle. Par conséquent, ce critère est influencé par un facteur important : la

fiabilité de la mesure, qui doit être vérifiée non seulement pour le modèle, mais aussi pour le phénomène clinique. C'est pour cela que le développement d'un modèle animal requiert en parallèle le développement de mesures cliniques permettant des comparaisons appropriées. Dans le cas des modèles animaux des psychopathologies humaines, le terme de validité prédictive fait souvent référence, de façon simplifiée, à l'habileté à identifier des drogues pouvant avoir un potentiel thérapeutique chez l'être humain (**isomorphisme** pharmacologique) (Matthysse 1986; Willner 1984). Même si l'utilisation dans ce contexte de ce terme n'est pas incorrecte, elle se révèle limitée car elle ignore d'autres moyens au travers desquels le modèle peut amener des prédictions vérifiées. Par exemple, l'identification de variables pouvant influencer similairement à la fois le modèle animal ainsi que le phénomène modélisé peut s'avérer cruciale dans la compréhension du phénomène.

Tableau 5 Les différents types de validité permettant l'évaluation d'un modèle

Critères	Validité si	Exemple
Prédictive	Prédictions vérifiées sur le phénomène humain	<i>Nage forcée</i> (prédiction de l'efficacité d'un antidépresseur)
Constructive	Définit la précision de la mesure du modèle	<i>Modèle d'hyperactivité locomotrice induite par les psychostimulants</i>
Etiologique	Etiologie du modèle et phénomène humain identiques	<i>Animaux génétiquement modifiés</i>
Convergente	Bon degré de corrélation de 2 modèles mesurant le même phénomène	<i>CPP et auto-administration</i> (mesure des effets récompensants)
Apparente	Similitudes entre comportement animal et symptômes humains	<i>Auto-administration simple et addiction</i>

La validité constructive d'un test est communément définie comme la précision avec laquelle le test permet de mesurer le phénomène d'intérêt. Bien que ce critère soit considéré dans de nombreux domaines (Cronbach and Meehl 1955; Willner 1984) comme étant le critère le plus important d'un modèle, il ne peut que très rarement être établi. En effet, la conception que se fait le scientifique de ce qu'un test est censé mesurer évolue perpétuellement et parallèlement aux changements théoriques qui s'effectuent dans le

domaine d'étude, rendant cette validité particulièrement dépendante du contexte scientifique dans lequel le modèle animal est développé. En l'état actuel des connaissances, par exemple le modèle d'hyperactivité locomotrice induite par les psychostimulants telle que la cocaïne possède une bonne validité constructive car il permet l'étude des crises de manie présentes dans les troubles bipolaires (les psychostimulants pouvant déclencher ou aggraver les crises de manie).

Le concept de **validité étiologique** est étroitement lié à celui de validité constructive. Un modèle possède une validité étiologique si l'étiologie du phénomène d'intérêt est identique dans le modèle animal et dans le phénomène humain. L'établissement d'une telle validité peut représenter un avantage dans l'établissement de traitements thérapeutiques. Malheureusement, l'état des connaissances de l'étiologie des désordres psychiatriques reste encore restreint, limitant ainsi l'établissement d'une validité étiologique à des spéculations ou des hypothèses. Le but premier d'un modèle animal étant souvent d'établir l'étiologie d'un phénomène ou de tester une hypothèse sur l'origine de l'étiologie d'une maladie, il apparaît difficile de considérer ce critère comme nécessaire à la validation d'un modèle animal.

L'établissement de la **validité convergente** (aussi appelée concurrente) et discriminante se fait en comparaison avec d'autres tests, mesures ou modèles. La validité convergente peut être définie comme le degré de corrélation d'un modèle avec d'autres tests ayant pour but de mesurer le même phénomène (Campbell and Fiske 1959). La validité discriminante, quant à elle, désigne le degré de divergence du modèle d'intérêt avec ces mêmes modèles censés mesurer le même phénomène. La validité discriminante est donc établie s'il y a une faible corrélation entre les mesures venant de différents tests. Ainsi, ce critère indique qu'un modèle peut être considéré comme invalide s'il possède un bon degré de corrélation avec des modèles pour lesquels l'expérimentateur attendait une divergence.

Enfin, la **validité apparente** fait référence aux similitudes phénoménologiques entre un comportement observé dans le modèle animal et les symptômes spécifiques de la condition humaine. Bien que ce critère puisse intuitivement sembler important, il n'est en réalité pas indispensable, difficile à défendre et peut même se révéler sources d'erreurs. En effet, la plupart des modèles étant basés sur une espèce différente de celle du phénomène d'étude, il est assez difficile, voire irréaliste, d'espérer que deux espèces différentes partagent la même phénoménologie.

Encart n° 1 : La découverte du pouvoir récompensant de la drogue chez l'animal.

Jusqu'à la moitié des années 1935, l'idée selon laquelle la prise de drogue était un phénomène exclusivement humain faisait consensus. L'idée que l'animal puisse reproduire ce comportement humain provoquait même une certaine hilarité, comme le montrent les déclarations du sociologue A. R. Lindersmith : « Seuls ceux à qui les effets de la drogue peuvent être expliqués peuvent devenir dépendants », « Assurément, basé sur la science sociale, il serait ridicule d'inclure humains et animaux ensemble dans le concept d'addiction ».

Le travail princeps de Spragg publié en 1940 fit vaciller certaines certitudes. Au cours d'un travail de recherche débuté à la fin de l'année 1935 et rapporté dans une monographie détaillée de 132 pages, Spragg démontra pour la première fois que l'animal était capable de produire un effort pour obtenir une dose de drogue.

Au début de l'expérience, trois chimpanzés ont reçu des injections passives et régulières (au moins deux injections par jour) de morphine jusqu'à ce que les animaux développent une dépendance physiologique à la drogue (caractérisée par l'apparition de symptômes de manque lorsque la drogue est retirée). Ce mode opératoire était utilisé car à cette époque, on ne pensait pas l'animal, contrairement à l'homme, capable de s'injecter spontanément de la drogue. Ces injections étaient donc censées augmenter le désir de drogue de l'animal.

Afin de tester si les animaux étaient capables de produire un effort pour obtenir de la drogue, Spragg mit au point un test de préférence dans lequel l'animal avait accès à deux boîtes différentes, une blanche contenant une seringue de morphine, et l'autre noire contenant une banane ou une moitié d'orange. Pour faire son choix entre les deux récompenses, l'animal disposait de deux clés ouvrant chacune des boîtes : un bâton blanc à l'extrémité triangulaire et pouvant ouvrir la boîte contenant la morphine et un bâton noir à l'extrémité arrondie et permettant l'obtention de la banane. Pendant la procédure de choix, une plate-forme coulissante présentait les deux clés à l'animal. Le fait de choisir une des clés entraînait le retrait de la plate-forme coulissante, et ainsi l'impossibilité d'accéder à l'autre clé (et à la récompense associée) avant le prochain essai. Seuls deux chimpanzés, Velt et Kambi furent testés dans ce protocole de choix, l'un d'entre eux (Lyn) mourant malheureusement d'une pneumonie peu de temps avant le début du test. Le test fut constitué de six essais pour quatre conditions différentes (soit un total de 24 essais), à raison d'un essai par jour réalisé de façon contrebalancée. Les quatre conditions étaient les suivantes : (i) affamé (l'animal n'a pas été nourri depuis au moins 16-18 h) et sevré de morphine (l'animal n'a pas reçu d'injection depuis au moins 16-18h) ; (ii) affamé et ayant reçu une injection de morphine récemment ; (iii) nourri récemment et sevré de morphine ; (iv) nourri récemment et ayant reçu une injection récente de morphine.



Procédure de choix

Pour les conditions 2 et 4 où les deux chimpanzés avaient reçu une injection récente de morphine,

Encart n° 1 (suite)

les animaux firent pratiquement exclusivement le choix de la clé noire afin d'obtenir la banane. Par contre, lorsqu'ils étaient sevrés de morphine, ils choisissaient la clé blanche, l'inséraient dans la boîte blanche et se saisissaient de la seringue de morphine, qu'ils tendaient même parfois à Spragg pour qu'il leur fasse l'injection de drogue. Il est à noter, qu'occasionnellement, l'animal pouvait se saisir d'une clé mais tenter avec insistance d'ouvrir la boîte de couleur opposée. Ces essais sont considérés par Spragg comme « équivoque ».

L'animal avait donc été capable de produire une chaîne comportementale pour aboutir à l'obtention d'une dose de drogue, confirmant ainsi que la morphine pouvait agir comme un renforçateur chez l'animal.



Boîte de choix et leur clé pour la dose de morphine ou la banane

Spragg conclua que le chimpanzé pourrait servir de modèle animal pour l'addiction à la morphine et commenta la possibilité d'envisager d'autres animaux tels que le rat comme modèle d'addiction : « Puisque l'addiction à la morphine semble dépendre essentiellement de la formation d'une association entre l'administration de la drogue et l'atténuation des symptômes de sevrage, et que cette association nécessite un horizon temporel de dix à quinze minutes, voire plus, l'importance d'utiliser des sujets suffisamment hauts placés sur l'échelle phylogénétique pour être capable de réaliser une association de cette nature relève de l'évidence. A ce titre, les animaux comme par exemple le rat, ne pourront probablement jamais devenir dépendants à la morphine, tout simplement car ils ne sont pas capables de former des associations de cet ordre ».

III. LES MODELES ANIMAUX DE L'ADDICTION : DE LA PRISE DE DROGUE...

Pendant longtemps, la communauté scientifique a pensé que l'addiction aux drogues était exclusivement un phénomène humain qui ne pouvait être reproduit et modélisé chez l'animal (Spragg 1940) (voir **encart n°1**). Cependant, les limitations inhérentes aux recherches sur l'humain ont conduit les scientifiques à essayer de modéliser l'addiction chez l'animal.

Comme nous allons le voir plus en détail, les premiers modèles animaux, probablement appelés à tort modèle d'addiction, se sont essentiellement concentrés à mesurer les effets récompensants des drogues.

1. Préférence de place conditionnée

En 1954, Olds et Milner (Olds and Milner 1954) furent parmi les premiers à démontrer l'existence du phénomène de préférence de place chez l'animal, lorsqu'ils ont observé que les rats stimulés par une électrode intra-craniale retournaient dans le lieu où ils avaient reçu cette stimulation. La préférence de place conditionnée (PPC ou CPP en anglais) a été par la suite extensiblement utilisée pour démontrer l'existence des effets récompensants (ainsi que des effets négatifs) des drogues d'abus.

La CPP est une procédure de conditionnement de type Pavlovien essentiellement (mais également avec une composante Skinnerienne) permettant d'évaluer l'intensité du souvenir de la valeur hédonique que les effets d'une substance laissent à l'animal (voir **encart n°2**).

Classiquement, dans ce type d'expérience que l'on peut diviser en trois phases, les animaux sont placés dans une cage (voir **Figure 7**) qui comporte deux compartiments qu'ils peuvent distinguer par la texture du sol et les couleurs et motifs des parois. L'expérience se déroule en trois phases : tout d'abord, une séance de pré-conditionnement durant laquelle l'animal peut entrer dans chacun des environnements, et les explorer à son gré. Cette phase sert de contrôle afin de vérifier s'il existe un biais de préférence spontanée de l'animal pour un des deux compartiments.

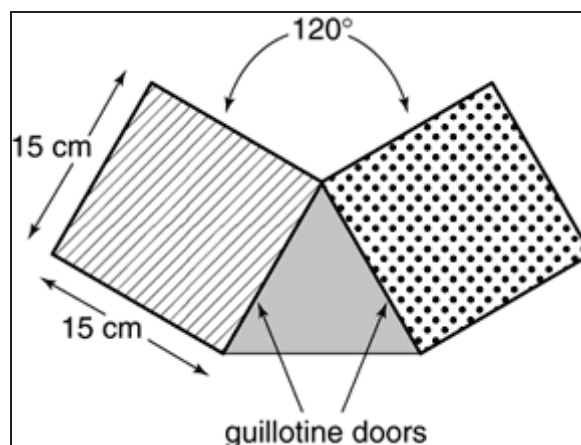


Figure 7 Appareil de mesure du CPP

Le dispositif est composé de deux compartiments bien délimités et visuellement différents séparés d'un espace neutre.

Lors de la phase de conditionnement, l'animal est confiné dans un seul compartiment, de manière alternée, dans lequel il reçoit une injection passive de drogue pour l'un, et d'une solution saline pour l'autre. Cette phase permet ainsi d'associer les effets de la drogue à un environnement particulier.

Enfin, lors de la dernière phase, qui constitue le test à proprement dit, l'animal est réintroduit dans la cage avec un accès libre aux deux compartiments (et ne reçoit aucune injection). Si l'animal passe alors plus de temps dans le compartiment associé à l'injection passive de drogue (et exprime donc ainsi une préférence de place conditionnée), la drogue est considérée comme récompensante pour l'animal (renforcement positif). A l'inverse, la substance sera aversive (et l'animal exprimera une aversion de place conditionnée) s'il évite le comportement associé à la drogue.

Ce protocole expérimental est très utilisé, en particulier à cause de ses nombreux avantages pratiques. En premier lieu, il ne nécessite pas d'équipement complexe et coûteux, contrairement à l'auto-administration. De plus, l'absence de chirurgie permet de garder ses animaux en bonne santé plus longtemps et ainsi de les tester longtemps après la phase de conditionnement. C'est ainsi que l'on peut observer des animaux continuer à préférer le compartiment associé à la drogue plusieurs mois après son administration, révélant ainsi l'intensité des effets et du souvenir laissés par la drogue.

Encart n° 2 : Les conditionnements Pavlovien et Skinnerien

Dans le domaine de la science comportementale, il existe deux types de conditionnements. Le premier est le conditionnement classique, rendu célèbre dans les cours d'école par l'anecdote du chien de Pavlov. Ce conditionnement est également appelé conditionnement répondant, conditionnement de type I ou conditionnement pavlovien, du nom de son auteur, Ivan Pavlov. Au début des années 1900, Pavlov proposa cette théorie qui s'intéresse aux résultats d'un apprentissage dû à l'association entre des stimuli de l'environnement et les réactions automatiques de l'organisme. C'est cette notion de réaction non contrôlée et volontaire qui différencie principalement cette théorie du conditionnement Skinnerien.

Comme souvent dans l'histoire des sciences, c'est par une coïncidence que Pavlov découvrit cette théorie alors qu'il effectuait une étude sur la salivation des chiens pour un programme de recherche sur la digestion. Pour ce faire, il pratiquait une incision dans la joue d'un chien et y insérait un tuyau qui récoltait la salive produite par la glande salivaire de l'animal. Ensuite, il mettait de la viande en poudre dans la gueule du chien et observait l'effet.

Encart n° 2 (suite)

Il remarqua alors qu'un chien qui revenait dans le laboratoire de recherches après avoir subi plusieurs fois l'expérience, se mettait à saliver avant même que Pavlov ne le nourrisse. Le chien salivait simplement en voyant la pièce d'expérimentation, l'expérimentateur qui lui donnait la nourriture ou en sentant l'odeur de la viande. Pavlov vit dans ce phénomène la base de l'apprentissage et désigna ce phénomène par le nom de réflexe conditionné ou réflexe de Pavlov. Par la suite, il approfondit cette observation par une deuxième expérience au cours de laquelle il présenta de la nourriture à un autre chien, ce qui provoquait toujours la salivation du chien. Par la suite, Pavlov commença à faire sonner une cloche chaque fois qu'il se préparait à lui servir son repas. Très rapidement, il observa que le chien salivait (RI $\Rightarrow$ RC) dès qu'il entendait la cloche (SN $\Rightarrow$ SC) et ce, même s'il n'était pas nourri après.

Le conditionnement pavlovien contient cinq variables : le stimulus neutre (SN), le stimulus inconditionné (SI), la réponse inconditionnée (RI), le stimulus conditionné (SC) et la réponse conditionnée.

Avant l'étape de conditionnement, il existe deux types de stimuli : le SN (le son de la cloche dans l'expérience de Pavlov) qui ne déclenche, de prime abord, aucun réflexe, aucune réponse ou qui ne déclenche pas la réponse souhaitée et le SI (la nourriture) qui déclenche une réponse de manière réflexe, sans apprentissage nécessaire. Cette réponse représente la réponse inconditionnée (RI). L'étape de conditionnement classique s'effectue lorsque le SN est associé au SI, qui déclenche automatiquement la réponse réflexe, la RI. Puis, en présentant de façon régulière et fréquente le SN en présence du SI, une association habituellement inconsciente se crée entre les deux stimuli. Ainsi, le son de la cloche, initialement neutre devient conditionné (SC) et entraîne une réponse dite conditionnée (RC), la salivation de l'animal.

Quelques années plus tard, en 1943, Burrhus Frederic Skinner révolutionna le comportementalisme en proposant une nouvelle théorie, la théorie du conditionnement opérant, mise au point à la suite d'observations faites sur des pigeons pendant ses temps de détente au laboratoire (Peterson 2004). A cette époque, Skinner travaillait sur un projet secret de conceptions d'armes pour la General Mills durant la seconde guerre mondiale. C'est lors de ses moments de détente qu'il fit la découverte du conditionnement, comme il le raconte lui-même :

« En 1943, Keller Breland, Norman Guttman et moi travaillions sur un projet en temps de guerre sponsorisé par la General Mills, Inc. Notre laboratoire se trouvait au dernier étage d'un moulin à Minneapolis, et nous y passions une bonne partie de notre temps à attendre que des décisions soient prises à Washington. Toute la journée, des hordes de pigeons volaient autour du moulin. Ils se posaient sur les rebords des fenêtres et se sont révélés être une source irrésistible de sujets expérimentaux. Le projet était sérieux, mais nous avions quand même des moments de détente. Un

Encart n° 2 (suite)

jour, nous avons décidé d'apprendre à un pigeon à jouer au bowling. L'animal devait envoyer une petite balle en bois dans un couloir contenant des quilles miniatures avec un mouvement précis du bec. Afin de conditionner sa réponse, nous avons posé la balle dans la boîte d'expérimentation et nous nous étions préparés à donner à l'animal de la nourriture dès qu'il donnerait la première poussette vers les quilles. Rien ne se passa. Nous avons alors décidé de renforcer chaque réponse qui pouvait ressembler à une poussette – comme par exemple, pour commencer, le simple fait de regarder la balle - et ensuite de sélectionner les réponses de l'animal qui nous semblaient le plus proche du comportement voulu. Le résultat nous émerveilla. En quelques minutes, la balle rebondissait contre les murs de la boîte comme si le pigeon avait été un champion de squash ».

Suite à cette découverte, Skinner définit le concept de conditionnement opérant.

Le conditionnement opérant s'intéresse aux mécanismes d'apprentissage dont résulte une action, selon les conséquences de celle-ci rendant plus ou moins probable la reproduction du comportement. Il existe quatre types de conditionnement opérant : (i) le renforcement positif lorsque l'ajout d'un stimulus appétitif contingent à la réponse permet l'augmentation de la probabilité de fréquence d'apparition du comportement (ii) le renforcement négatif lorsque le retrait d'un stimulus aversif contingent à la réponse permet l'augmentation de la probabilité de fréquence d'apparition du comportement (iii) la punition positive lorsque l'ajout d'un stimulus aversif ou d'une conséquence aversive contingent à la réponse entraîne une diminution de la probabilité de fréquence d'apparition du comportement (iv) la punition négative lorsque le retrait d'un stimulus appétitif contingent à la réponse entraîne une diminution de la probabilité de fréquence d'apparition du comportement.

Ce modèle se montre malheureusement très limité dans sa faculté à modéliser le phénomène d'addiction. Le mode d'administration passif de la drogue fait que l'animal n'est pas libre de son comportement et ne mime ainsi difficilement la phénoménologie de l'addiction humaine. De plus, ce test constitue en quelque sorte un test du « tout ou rien » dans la mesure où il est peu sensible à la dose et ne permet pas de réaliser un effet dose. Dans ces conditions, il apparaît difficile d'envisager d'utiliser une procédure de CPP pour comparer le pouvoir récompensant de deux récompenses, telles que deux drogues d'abus différentes par exemple.

2. Auto-administration de drogue.

Afin de pallier à ce problème, la mise en place d'un modèle animal d'auto-administration de drogue a été réalisée (voir **Figure 8**). Le principe de cette procédure consiste à apprendre à

l'animal à réaliser une réponse opérante (le plus souvent un appui sur un levier ou l'insertion du museau de l'animal dans un trou) pour obtenir une récompense, le plus souvent des pastilles de nourriture ou dans le cas qui nous intéresse une solution de drogue dans un abreuvoir ou directement en intraveineux selon le mode d'administration choisi par l'expérimentateur. Dans la grande majorité des expériences de conditionnement, deux leviers (ou deux trous) sont présents. L'appui sur le levier dit « actif » permet à l'animal d'obtenir la solution de drogue, alors que l'appui sur le deuxième levier dit « inactif » n'a pas de conséquence. Cet apprentissage repose sur un conditionnement opérant ou Skinnerien (voir **encart n° 2**). Si l'animal arrive à apprendre l'association appui/récompense et à la répéter, on dit que son comportement est renforcé et dans ce cas, la drogue est un renforçateur.

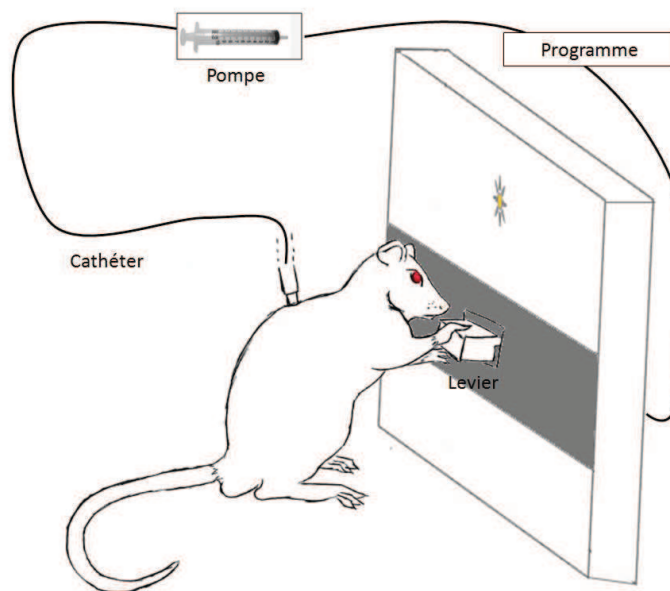


Figure 8 Protocole d'auto-administration intraveineuse

Après avoir subi une opération de cathétérisation, le rat est relié dans la cage opérante à un système de pompe par son cathéter. Il a accès à un levier surmonté d'un indice visuel indiquant la disponibilité de la drogue – un signal lumineux – et relié à un système informatique qui va permettre l'activation du pousse-seringue, induisant ainsi la délivrance de la drogue directement dans la veine jugulaire de l'animal lorsqu'il effectue une réponse sur le levier (procédure FR1).

❖ *Par voie orale*

Dans un premier temps, l'auto-administration de drogue chez l'animal s'est faite essentiellement par voie orale, ce qui posait problème car la majorité des drogues ont un goût

déplaisant et aversif nécessitant un entraînement de l'animal pour surmonter ce premier contact aversif. Développée en premier lieu pour l'étude de l'addiction à l'alcool, cette voie d'administration a pu être étendue à de nombreuses substances d'abus, telles que les benzodiazépines, les opioïdes, les psychostimulants, les barbituriques et les anesthésiques dissociatifs (voir **Tableau 6**). C'est ainsi qu'il a été montré que la cocaïne pouvait être administrée par la voie orale chez le singe rhésus (Meisch, et al. 1990) et la souris (George, et al. 1991). Cependant, il est intéressant de noter que chez les rats, les tentatives se sont soldées par des résultats contrastés (Bell, et al. 1993; Bell, et al. 1995; Miles, et al. 2003), indiquant que la voie d'auto-administration orale, trop éloignée des modes d'administrations rencontrés chez l'être humain, n'est probablement pas la plus appropriée pour modéliser l'addiction à la cocaïne.

❖ Par voie intraveineuse

Comme nous venons de le voir, l'auto-administration orale de drogue possède l'avantage d'offrir à l'animal un degré de contrôle supplémentaire puisqu'il initie le comportement d'administration de drogue. Cependant, la voie orale n'apparaît pas la plus appropriée pour la majorité des drogues et en particulier la cocaïne.

C'est dans cette optique d'une meilleure modélisation de l'addiction humaine que l'auto-administration intraveineuse de drogue a été envisagée et développée. Au début des années 1960, des chercheurs ont ainsi montré pour la première fois que le rat de laboratoire (Weeks 1962) ainsi que le singe (Thompson and Schuster 1964) étaient capables de s'auto-administrer par voie intraveineuse de la morphine, une substance hautement addictive chez l'homme.

Par la suite, de nombreuses études ont pu démontrer que l'animal de laboratoire pouvait s'auto-administrer la plupart des drogues d'abus chez l'homme, et qu'en général, les drogues qui sont auto-administrées correspondent à celles ayant un fort potentiel d'abus (Collins, et al. 1984; Schuster and Thompson 1969). Cette relation est si forte que l'auto-administration de drogue a été considérée comme un modèle prédictif du pouvoir addictif d'une substance d'abus (Collins, et al. 1984) et qu'il a été suggéré qu'elle pourrait constituer un des tests précliniques pour la mise en évidence du potentiel addictif de nouvelles substances (Johanson and Balster 1978).

Tableau 6 Drogues ayant servies de renforçateur par voie d'administration orale

Drogues	Espèces	Référence
Alprazolam	Singes rhésus	Meisch et al., 1996
Cocaine	Singes rhésus	Meisch et al., 1990
	Souris	George et al., 1991
	Babouins	Foltins, 1999
d-amphétamine	Singes rhésus	Carroll & Stoltz, 1983
	Babouins	Foltins, 1997
Diazepam	Singes rhésus	Stewart et al., 1994
	Babouins	Ator & Griffiths, 1992
Ethanol	Singes rhésus	Meisch et al., 1975
	Babouins	Ator & Griffiths, 1992
		Foltins, 1998
		Henningfield et al., 1981
	Souris	Elmer et al., 1986
	Rats	Meisch, 1969
		Meisch et al., 1970
Etonitazene	Meisch & Thompson, 1971, 1973	
	Singes rhésus	Carroll & Meisch, 1978
	Rats	Meisch & Stark, 1977
Ketamine	Singes rhésus	Carroll & Stoltz, 1983
Methadone	Singes rhésus	Stewart et al., 1996
Methohexital	Singes rhésus	Carroll et al., 1984
	Babouins	Ator & Griffiths, 1983
Midazolam	Singes rhésus	Stewart et al., 1994
+ N-Allylnormetazocine	Singes rhésus	Carroll, 1988
Pentobarbital	Singes rhésus	Meisch et al.,
Phencyclidine	Singes rhésus	Carroll & Meisch,
Analogues de la phencyclidine	Singes rhésus	Carroll, 1982, 1982
Triazolam	Singes rhésus	Meisch et al., 1996
	Babouins	Ator & Griffiths, 1992
		Kautz & Ator, 1995
Fentanyl	Rats	Carroll & Meisch, 1984
		Shaham et al., 1993

Comme nous le verrons par la suite, depuis l'étude pionnière de James Weeks (Weeks 1962; Weeks and Davis 1964), la technique et l'utilisation qui en a été faite ont finalement peu évolué.

La procédure d'auto-administration peut être modifiée selon différents régimes de renforcements (Spealman and Goldberg 1978).

Dans la **procédure du ratio fixe (FR)**, qui constitue une procédure de renforcement continu, la drogue est délivrée après que l'animal a complété un nombre fixe de réponses imposé par l'expérimentateur. Par exemple, si l'animal doit réaliser deux appuis ou mettre son museau deux fois dans le trou pour obtenir une infusion de drogue, on parlera de FR2. De ce fait, le nombre d'infusions de drogue obtenues par l'animal est directement proportionnel au nombre de réponses de l'animal. Les résultats obtenus avec ce régime de renforcement ont montré que lors d'un accès restreint à la drogue, les animaux développent une fréquence d'injections très stable et régulière d'une séance sur l'autre (Johanson and Schuster 1975; Lynch and Carroll 2001; Pickens and Thompson 1968; Yokel and Pickens 1973). De plus, le taux d'injection (nombre d'infusions obtenues par heure) est fortement influencé par la dose de drogue, avec des injections de moins en moins fréquentes plus la dose de drogue est forte (Gerber and Wise 1989; Weeks 1962). Des résultats similaires ont d'ailleurs été récemment observés chez des sujets dépendants à la cocaïne (Lynch, et al. 2006; Sugrondhabirrom, et al. 2005), indiquant ainsi que l'animal tout comme l'homme régule sa prise de drogue afin de maintenir ses effets récompensants à un niveau optimal. Cependant, dans l'environnement naturel, il est très rare que chaque réponse soit directement renforcée. En effet, le sujet dépendant doit effectuer un travail actif de recherche et fournir des efforts pour pouvoir accéder à sa drogue. Ces situations ont été reproduites en laboratoire pour établir leur possible impact sur l'acquisition du comportement d'auto-administration en augmentant le nombre de réponses requises pour obtenir la récompense.

A l'opposé, dans la **procédure de l'intervalle fixe (FI)**, un intervalle de temps déterminé par l'expérimentateur doit s'écouler avant que la réponse de l'animal permette d'obtenir une récompense. Par exemple, si l'expérimentateur a fixé le FI à 40 secondes, toute réponse pendant cet intervalle de temps ne sera pas récompensée et considérée comme non renforçante.

Enfin, il est à noter qu'il est possible dans ces deux procédures de fixer un nombre de réponses (ou l'intervalle de temps) constant pendant toute la durée du test ou bien variable au sein de la même session expérimentale.

Afin de mesurer la motivation à consommer une drogue, une autre procédure, dite de **renforcement progressif (ratio progressif ou PR)** a été proposée (Arnold and Roberts 1997; Hodos 1961; Richardson and Roberts 1996; Roberts and Bennett 1993; Stafford, et al. 1998). Dans cette procédure, le coût comportemental (nombre de réponses requises) nécessaire à l'obtention de la récompense est augmenté après la délivrance de chaque récompense jusqu'à ce que l'animal juge l'effort à fournir trop élevé et ne cesse alors de répondre (Hodos 1961). L'effort maximum que l'animal peut fournir pour obtenir sa récompense, appelé point de rupture, rend ainsi compte du degré de motivation de l'animal à consommer la drogue (plus le point de rupture est élevé, plus la motivation est importante) et est dépendant de la dose de drogue utilisée (plus la dose est élevée, plus l'effort sera élevé). De ce fait, cette procédure est un index valide de la valeur récompensante d'une substance, utilisée dans de nombreuses études scientifiques.

Elle possède cependant quelques contraintes. La première est d'ordre technique : en effet, une séance de tests peut durer de nombreuses heures (en particulier avec la cocaïne), et se doit d'être répétée jusqu'à stabilisation du point de rupture. D'autre part, bien que cette procédure permette de comparer la motivation des animaux pour deux récompenses différentes, cette comparaison est indirecte car la mesure du point de rupture de chacune des récompenses se fait au sein de séances indépendantes. Enfin, la mesure du point de rupture peut être considérablement biaisée par les effets psychostimulants ou psycho-dépresseurs de l'accumulation des drogues. Par exemple, dans le cas d'un déprimeur tel que l'héroïne, le point de rupture fournit une sous-estimation de la valeur renforçante réelle de la drogue, la mesure étant biaisée par les effets déprimeurs psychomoteurs de l'héroïne (Duvauchelle, et al. 1998; Poncelet, et al. 1983). Ceci pourrait expliquer par exemple pourquoi le point de rupture de la cocaïne (connue pour ses effets psychostimulants) est très supérieur à l'héroïne, alors que les données humaines suggèrent fortement que l'héroïne aurait un potentiel addictif supérieur à la cocaïne (Anthony 2002; Nutt, et al. 2007).

D'autre part, l'approche opérante permet d'étudier la motivation à consommer une drogue selon une **analyse d'économie comportementale** (Bickel, et al. 1993; Bickel, et al. 1990; Greenwald and Hursh 2006; Hursh 1980; Hursh 1984; Hursh 1991; Hursh 1993; Hursh, et al. 2005; Hursh and Silberberg 2008). Dans ce type d'analyse, la drogue est considérée comme un produit de consommation classique, dont la consommation peut être influencée par son prix (le coût économique ou le nombre de réponses nécessaires pour obtenir la récompense, tel que le FR dans une procédure de ratio fixe) et la disponibilité de récompenses alternatives.

Il a ainsi été montré que la consommation de drogue, de la même façon que la consommation de récompenses naturelles, diminuait avec l'augmentation du coût économique (en augmentant le FR) (Bickel, et al. 1995; Comer, et al. 1996; Heyman, et al. 1999; Solinas, et al. 2004). Concrètement, les animaux sont testés selon une procédure de ratio fixe durant laquelle le FR est graduellement augmenté soit à l'intérieur d'un même test, soit au cours de sessions séparées, ce qui permet de générer une courbe de demande, à partir de laquelle on pourra calculer le prix maximum ou Pmax.

Le Pmax est défini comme le prix du point de transition entre la demande inélastique (partie de la courbe où une modification du coût économique aura peu d'impact sur la consommation) et la demande élastique (partie de la courbe où, au contraire, une modification du coût économique aura un fort impact sur la consommation). De ce fait, une transition entre les deux types de demande à un Pmax élevé (donc, un coût économique élevé) signifie que l'animal est prêt à travailler malgré un coût économique important, et donc que le produit de consommation a un fort pouvoir récompensant. Dans cette optique, le Pmax peut être considéré comme une mesure analogue du point de rupture.

Enfin, le comportement opérant permet également de mesurer les effets incitatifs de la drogue par le **modèle de l'extinction puis de la réinstallation du comportement d'auto-administration après extinction** (Ahmed and Cador 2006; See, et al. 2003; Shaham, et al. 2003; Weiss, et al. 2001). Durant le test d'extinction, le levier autrefois actif n'est plus récompensé par une injection de drogue intraveineuse. Après une courte période (de l'ordre de cinq à dix minutes) pendant laquelle les animaux continuent à appuyer frénétiquement sur le levier associé à la drogue, leur comportement s'éteint rapidement. Après cette phase, les animaux reçoivent des injections passives intraveineuses de drogue (le signal lumineux associé à la drogue ou un stress peuvent également être utilisés pour réinstaller le comportement), séparées par des intervalles pendant lesquels les appuis sur le levier ne sont toujours pas récompensés. C'est cette reprise des appuis non récompensés après extinction qui constitue une mesure des effets incitatifs de la drogue.

IV. LES MODELES ANIMAUX DE L'ADDICTION : ... A LA COMPULSION

Jusqu'à la fin des années 1990, peu d'études ont essayé d'intégrer les critères cliniques permettant de distinguer prise de drogue contrôlée et addiction tels qu'ils sont définis par le DSM-IV. En effet, comme nous l'avons vu dans la **partie 1**, l'addiction se distingue très clairement du simple usage de drogue. De ce fait, entraîner un animal à s'auto-administrer de la cocaïne ne peut suffire à démontrer un comportement de prise compulsive de drogue.

L'auto-administration intraveineuse de drogue est souvent présentée comme un des meilleurs modèles animaux en psychiatrie. Bien que ce modèle possède une bonne validité apparente et prédictive dans le cas d'une modélisation de la prise de drogue récréative chez l'être humain, la question de sa validité dans le cas d'un sujet dépendant, passé d'une consommation contrôlée de cocaïne à une consommation excessive et pathologique demeure très incertaine.

En effet, très récemment encore, il était plutôt de consensus de croire qu'exposer les animaux à la cocaïne suffisait à les rendre dépendants, ou au moins vulnérables à l'addiction. En comparant ces animaux dépendants à des contrôles (des animaux n'ayant jamais expérimenté la drogue), il serait alors possible de mettre en évidence les changements neurobiologiques supposés être responsables de l'addiction à la cocaïne (Ahmed 2010). Cette approche a permis durant les 25 dernières années l'identification des nombreux changements neuronaux induits par la cocaïne, du niveau moléculaire jusqu'au niveau anatomique. Cependant, l'incertitude majeure de toutes ces études réside dans le fait qu'aucune preuve claire de l'état de dépendance de ces animaux exposés à la cocaïne n'a pu être mise en évidence. De ce fait, ces changements ne seraient-ils donc pas des phénomènes normaux, simplement communs à toute personne qui consommerait de la cocaïne, même si celle-ci ne tombe pas dans la compulsion ?

Partant de ce constat, de plus en plus de chercheurs ont remis en cause cette approche en s'accordant sur le fait que la simple auto-administration de cocaïne est nécessaire, mais pas suffisante pour pouvoir conclure à l'établissement d'un comportement ressemblant à l'addiction humaine chez l'animal (Ahmed and Koob 1998; Belin, et al. 2008; Deroche-Gamonet, et al. 2004; Negus 2006; Vanderschuren and Everitt 2004; Wolffgramm 1991; Wolffgramm and Heyne 1995). Pour être considéré comme un modèle valide de l'addiction, il est maintenant nécessaire que les animaux, en plus d'acquiescer le comportement d'auto-

administration de cocaïne puissent présenter ou développer des changements comportementaux ressemblant à ceux observés dans l'addiction humaine et qui sont récapitulés par le DSM (par exemple, une escalade de la prise de cocaïne, des prises de drogue répétées malgré les conséquences négatives associées ...).

Nous présenterons donc dans cette partie les modèles animaux récents qui ont tenté de répondre à ce besoin de mieux modéliser l'addiction humaine.

1. Le modèle de l'accès différentiel à la drogue.

Comme nous l'avons vu dans l'introduction, il existe encore aujourd'hui une grande controverse en ce qui concerne l'établissement de critères diagnostiques permettant de distinguer la consommation compulsive de drogue, de type addictive, d'une consommation considérée comme non pathologique, c'est-à-dire une consommation récréative et maîtrisée de drogues. Bien que crucial dans le concept d'addiction, cette distinction n'est finalement étudiée que depuis récemment dans les modèles animaux.

Il est actuellement de consensus chez de nombreux chercheurs que le simple établissement d'un comportement d'auto-administration n'est plus suffisant afin d'affirmer l'apparition d'un comportement de type addictif chez les animaux. Les animaux qui s'auto-administrent doivent développer des signes comportementaux pouvant être interprétés comme une approximation acceptable des critères nécessaires à l'établissement d'un diagnostic d'addiction chez l'être humain. Parmi ces critères, on peut par exemple trouver « le sujet continue de prendre de la drogue, malgré la compréhension et la représentation des conséquences négatives qui en découlent ». La représentation la plus convaincante de ce critère dans le modèle animal a été obtenue en punissant les animaux après qu'ils se sont injectés de la drogue (Panlilio, et al. 2003; Pelloux, et al. 2007). Ainsi, des animaux au comportement opérant stabilisé reçoivent une punition, le plus souvent un choc électrique, s'ils s'auto-administrent de la drogue. Le but étant ainsi d'apprendre aux animaux que leur comportement aura des conséquences négatives évidentes (une douleur physique). Même si ce protocole mime de façon simplifiée les conséquences négatives qui peuvent être associées à une prise de drogue chez l'être humain (risque d'être rejeté par sa famille, risque de perdre son travail, isolation sociale), il constitue une approche intéressante.

Cependant, parmi les différents critères comportementaux définissant l'addiction, **l'escalade de la consommation** est celui qui a retenu le plus l'attention des chercheurs pour une

transposition au modèle animal. En effet, il possède la particularité d'être un des critères s'attirant le plus de consensus, et qui résiste ainsi aux différentes révisions du DSM, s'affirmant comme un des critères incontournables pour permettre le diagnostic d'une addiction. Il est de plus commun à la plupart des drogues d'abus.

L'escalade de la prise de drogue peut être définie comme une augmentation progressive chez un individu de sa consommation de drogue qui s'accroît avec le temps, devenant excessive, handicapante dans la vie quotidienne et difficile à contrôler.

❖ Principe du modèle

Plusieurs facteurs peuvent théoriquement induire une escalade de la consommation de drogues. Cependant, les chercheurs se sont concentrés jusqu'à présent sur l'étude du rôle potentiel de l'augmentation du temps d'accès aux drogues dans l'induction d'une consommation excessive de la drogue. Il a été ainsi montré très clairement que l'escalade de la consommation de drogue est induite de façon reproductible et rapide en augmentant la durée d'exposition des animaux à la drogue au sein des sessions quotidiennes d'auto-administration.

Avant de rentrer plus en détail dans ces recherches, il est nécessaire de rappeler les deux approches couramment utilisées pour observer le phénomène d'escalade.

Lors de la première (utilisant un design intra-sujet), les animaux peuvent être pré-entraînés avant d'être soumis à un accès prolongé à l'auto-administration de drogue. Par exemple, dans certaines études, les animaux ont d'abord été entraînés jusqu'à l'acquisition du comportement d'auto-administration, avant augmentation de la disponibilité de la drogue. Avec cette approche, l'escalade de l'auto-administration de drogue se caractérise par une augmentation graduelle de la consommation de drogue au cours du temps, comparée au niveau de consommation pré-escalade (c'est-à-dire durant la phase d'entraînement).

Avec une approche inter-sujet, les animaux sont divisés en deux groupes minimum ayant respectivement un accès quotidien pendant 1 heure (accès court, ShA) à l'auto-administration de drogue et 6 heures (accès prolongé, LgA). Le groupe à l'accès prolongé montre progressivement une augmentation de sa consommation qui n'est pas retrouvée chez le groupe à l'accès limité. Avec ce paradigme, l'escalade apparaît exclusivement dans le groupe ayant l'accès prolongé et se caractérise par une augmentation graduelle du taux de consommation de drogue comparé au taux contrôle du groupe à l'accès limité. Cette approche

présente en outre l'avantage d'être plus rapide à mettre en place, ne nécessitant pas de période d'entraînement.

Il est également possible de combiner ces deux approches afin de mieux caractériser la mise en place et la stabilisation du phénomène d'escalade de la consommation de drogue consécutive à l'augmentation du temps d'accès à la drogue.

Steven Dworkin et collègues (Dworkin, et al. 1987) ont probablement été les premiers à suggérer que des temps d'accès différents à l'auto-administration intraveineuse de cocaïne étaient associés à des niveaux différents de prise de drogue. Dans leur expérience, les animaux avaient un accès quotidien à la cocaïne (dose de 0,5mg/kg) pendant 12 (n=4) ou 24 heures (n=7), et ce pendant plusieurs jours. Les rats qui avaient l'accès le plus long s'auto-administraient plus de cocaïne que les animaux à l'accès le plus court (3,5 contre 1,7 infusions par heure). Malgré un résultat intéressant, cette étude préliminaire comprenait trop peu de rats et donnait peu d'informations sur les niveaux initiaux de prise de drogue et comment ils auraient éventuellement évolué au cours du temps. Cette étude ne permet ainsi pas de déterminer si cette différence de consommation résulte directement d'une escalade différentielle de la consommation de drogue, ou d'un facteur non contrôlé, tel que des différences individuelles initiales (Piazza, et al. 1989).

Ces incertitudes ont pu être levées par une série d'expériences (Ahmed and Koob 1998; 1999; 2004). Alors que jusqu'à présent, la vaste majorité des études limitaient le temps d'accès quotidien des animaux à l'auto-administration de drogue (probablement pour limiter les risques de toxicité et d'overdose), il a été ainsi clairement montré que la durée de l'accès quotidien à la cocaïne peut profondément altérer le taux et l'évolution de l'auto-administration de drogue.

Les animaux ont tout d'abord été entraînés à s'auto-administrer de la nourriture avant d'être entraînés à l'auto-administration selon une procédure de renforcement continu pendant plusieurs séances quotidiennes d'une heure. Après stabilisation de leur taux d'administration de cocaïne, les animaux ont été soumis de façon contrebalancée à deux conditions d'accès différentes : des séances quotidiennes d'une heure d'auto-administration pour les rats ShA contre des séances d'une durée de 6 heures pour le groupe LgA. Sans surprise, les rats ShA ont maintenu le même taux d'injection de cocaïne pendant toute la durée de l'expérience, malgré la possibilité d'en prendre plus (voir [Figure 9.a](#)). Les auteurs ont pu montrer dans une de ces études que cette consommation stable pouvait être maintenue pendant au moins 5 mois (Ahmed and Koob 1999). Par contre, le groupe LgA, qui a un accès prolongé à la drogue, a

montré une escalade continue de sa consommation durant la première heure d'auto-administration ainsi que sur la totalité de la séance (voir Figure 9.a et c). De plus, la prise de cocaïne durant la première heure des rats LgA s'est avérée très supérieure à celle, stable, du groupe à accès limité (voir Figure 9.a). Ces résultats ont été par la suite reproduits dans des séries indépendantes d'expériences, avec des animaux ayant une histoire comportementale différente, indiquant leur robustesse (Ahmed and Cador 2006; Ahmed, et al. 2002; Ahmed, et al. 2003; Ahmed, et al. 2005).

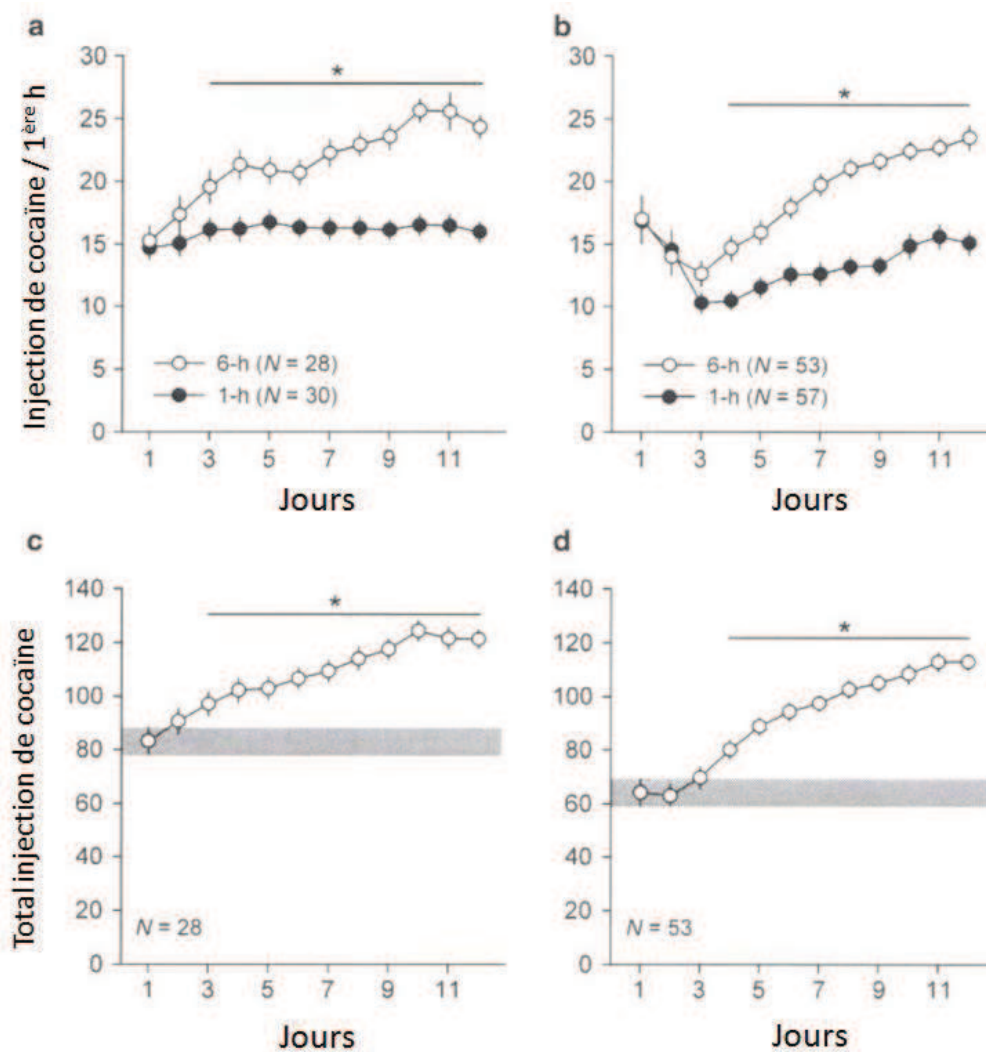


Figure 9 Effet du temps d'accès à la cocaïne sur le pattern d'auto-administration.

Les rats ont accès à la cocaïne (dose de 0.25mg en i.v) pendant 1h (rats ShA) ou 6h/jour (rats LgA). Dans les premières expériences (a et c) les rats peuvent s'auto-administrer de la cocaïne pendant 1 ou 2h/jours pendant 10 jours avant l'accès différentiel à la drogue. Dans la seconde expérience (b et d), les rats sont d'abord entraînés à appuyer sur le levier pour de la nourriture à un ratio fixe de 1 avant l'accès différentiel à la drogue (d'après Ahmed and Koob 1999)

L'ensemble de ces résultats indique donc que, peu importe l'expérience initiale des animaux avec la cocaïne et leur histoire pharmacologique, un accès limité et un accès prolongé à l'auto-administration de drogues induisent deux évolutions sensiblement différentes de consommation de cocaïne : une consommation stable et modérée opposée à une escalade de la consommation devenue excessive de cocaïne.

Durant les 10 dernières années, cette observation a été reproduite de nombreuses fois par différentes équipes de chercheurs ou laboratoires (Ahmed and Cador 2006; Ahmed, et al. 2002; Ahmed and Koob 1998; 1999; 2004; Ahmed, et al. 2003; Ahmed, et al. 2005; Allen, et al. 2007a; Allen, et al. 2007b; Aujla, et al. 2008; Ben-Shahar, et al. 2004; Ben-Shahar, et al. 2007; Ben-Shahar, et al. 2006; Ben-Shahar, et al. 2005; Ben-Shahar, et al. 2008; Briand, et al. 2008a; Briand, et al. 2008b; Dworkin, et al. 1987; Ferrario, et al. 2005; Ferrario and Robinson 2007; Hansen and Mark 2007; Kenny, et al. 2005; Kippin, et al. 2006; Knackstedt and Kalivas 2007; Larson, et al. 2007; Liu, et al. 2005; Madayag, et al. 2007; Mantsch, et al. 2008a; Mantsch, et al. 2008b; Mantsch, et al. 2007; Mantsch, et al. 2004; Oleson and Roberts 2009; Paterson and Markou 2004; Perry, et al. 2006; Roth and Carroll 2004; Specio, et al. 2008; Wee, et al. 2008; Wee, et al. 2007a).

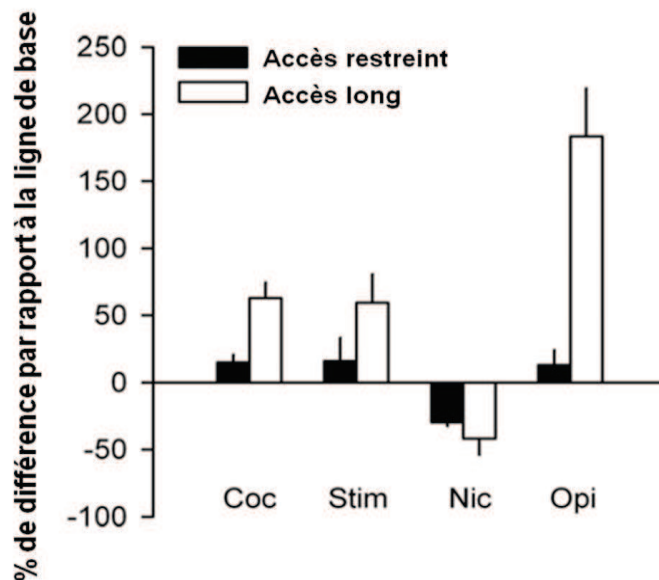


Figure 10 Méta-analyse des études publiées sur le modèle de l'accès différentiel chez le rat

Diverses études indépendantes révèlent qu'un accès prolongé à la drogue entraîne une escalade de la consommation pour les stimulants (tels que la cocaïne) et les opioïdes (tels que l'héroïne) mais pas pour la nicotine. D'après Ahmed et al. 2011

Une méta-analyse de ces différentes études démontre clairement l'existence d'une relation entre temps d'accès à la drogue et escalade de la consommation de cocaïne, chez de nombreux sujets soumis à différentes conditions expérimentales. Il est à noter que cette relation est retrouvée avec d'autres drogues, à l'exception de la nicotine (voir **Figure 10**). En effet, à l'opposé des autres drogues, l'augmentation du temps d'accès à la nicotine entraîne au contraire une diminution de la consommation (Shelley Watkins, Serge Ahmed, George Koob et Athina Markou, 1999, données non publiées). Cette étonnante exception pourrait être due à la présence de cofacteurs à la nicotine dans la cigarette, qui par un mécanisme d'inhibition des monoamines oxydases joueraient un rôle important dans le potentiel récompensant du tabac chez l'homme (Guillem, et al. 2005). Or, la plupart des études animales se sont focalisées sur les effets renforçants de la nicotine seule. De plus, des données récentes montrent que la nicotine aurait un effet aversif aux fortes doses (Fowler, et al. 2011).

❖ Dynamique et stabilité de l'escalade

Comme nous venons de le voir, l'escalade de la consommation de drogue est de façon claire un phénomène transitoire qui s'accélère avec le temps pour éventuellement se stabiliser à un nouveau niveau de consommation, supérieur à celui d'origine. De ce fait, ce processus peut être caractérisé par différents paramètres dynamiques, tels que sa forme, sa vitesse ainsi que son état d'équilibre final. A ce jour, relativement peu d'études se sont intéressées à la variation de ces paramètres selon les conditions d'accès à la drogue. Wee et collaborateurs (Wee, et al. 2008) ont montré que le niveau final de consommation atteint après escalade pour la cocaïne augmentait en fonction de la durée des séances d'auto-administration : plus l'accès à la drogue est long, plus l'état final d'équilibre atteint sera élevé. Il est par contre pour l'instant beaucoup moins clair si d'autres facteurs peuvent influencer sur cet état d'équilibre. En effet, dans deux autres études venant du même laboratoire (Mandyam, et al. 2007; Wee, et al. 2008), le niveau final de consommation de cocaïne ou de méthamphétamine diminue avec la dose utilisée pendant l'entraînement alors qu'une équipe a observé que le niveau final de consommation de cocaïne n'était pas modifié par la dose (Mantsch, et al. 2004). Il est donc indispensable de procéder à des recherches additionnelles afin de mieux caractériser la dynamique du phénomène d'escalade.

L'étendue des connaissances concernant la durée du maintien du phénomène d'escalade est encore plus limitée. Une étude a montré que ce maintien pouvait dépendre de la durée des sessions (Ahmed and Koob 1999). Dans cette étude, après avoir induit l'escalade de la

consommation de cocaïne, la durée de l'accès a été réduite de 6 heures à 1 heure. En conséquence, les niveaux d'escalade ont progressivement diminué de façon significative au cours du temps, atteignant (bien que très lentement) leur niveau basal d'avant escalade. Ainsi, après 2 mois d'accès réduit à la drogue, l'abolition de l'escalade restait toujours partielle. À l'opposé, dans une autre expérience, l'escalade de la consommation est totalement abolie par un mois d'abstinence forcée (Ahmed and Koob 1998). Ces résultats semblent indiquer, que comparée à une abstinence totale, une exposition brève et intermittente à la cocaïne peut considérablement retarder, mais pas empêcher, la désintoxication de l'individu. Cette découverte pourrait avoir d'importantes implications cliniques.

❖ L'accès prolongé s'accompagne d'autres modifications de type addictif

Il y a à l'heure actuelle de nombreuses données montrant que l'augmentation du temps d'accès d'une variété de drogues peut induire une escalade rapide de la consommation de drogue, une des caractéristiques majeures de l'addiction. Des études plus récentes indiquent que des animaux ayant une escalade de leur consommation de drogue montrent également d'autres signes comportementaux de l'addiction, comparés à des animaux avec un taux de consommation plus stable et modéré. Parmi ces signes comportementaux de l'addiction, on trouve : (1) une augmentation de la motivation à s'auto-administrer la drogue, (2) une plus grande difficulté à l'abstinence, et (3) une relative indifférence aux conséquences négatives de la consommation de drogue. De plus, des données convergentes de plusieurs laboratoires indiquent que les animaux qui ont un accès prolongé à la drogue deviennent plus sensibles à la rechute (à la fois induite par un stress ou par la drogue) après une période d'abstinence forcée (extinction). Le rétablissement d'un comportement éteint de recherche de drogue est un modèle animal de rechute et/ou craving bien établi (Epstein, et al. 2006). Bien que l'augmentation du désir de drogue ne soit pas actuellement un critère diagnostique de l'addiction, il représente cependant un marqueur sélectif d'addiction car ce comportement n'est pas observé chez des individus non dépendants (Jaffe, et al. 1989; Volkow, et al. 2005). De ce fait, les différences observées entre une consommation stable et modérée d'un côté et escaladée et excessive de drogue de l'autre (induites par des temps d'accès différents à la drogue) résument assez bien les différences comportementales majeures entre une consommation contrôlée et compulsive de drogue chez l'être humain, indiquant que le modèle d'escalade pourrait être le premier modèle animal de prise compulsive de drogues.

➤ Augmentation de la motivation pour la cocaïne.

Le déplacement consécutif à l'escalade de la fonction effet-dose de l'auto-administration de cocaïne suggère en premier lieu une augmentation de la valeur récompensante et/ou de la motivation des animaux pour la drogue à la suite d'un accès étendu de la consommation (Ahmed and Koob 1998; Allen, et al. 2007a; Mantsch, et al. 2004; Roth and Carroll 2004; Wee, et al. 2008). L'interprétation de cette fonction effet-dose a été réalisée par une approche comportementale économique (Ahmed and Koob 2005; Bickel, et al. 1990; Christensen, et al. 2008; Zittel-Lazarini, et al. 2007). Dans ce modèle, la dose de drogue est inversement équivalente à la réponse nécessaire (appelé coût) pour maintenir les effets de la drogue : plus la dose est faible, plus le coût est élevé. Ainsi, un déplacement vers le haut du pic du taux d'auto-administration, comme on l'observe dans le cas de l'escalade, indique une volonté plus forte de l'animal de payer un coût supérieur maximal pour obtenir de la drogue (c'est-à-dire une demande inélastique de drogue plus élevée), ce qui traduit une augmentation de la valeur de la drogue et/ou de la motivation. Christensen et collaborateurs (Christensen, et al. 2008) sont arrivés à la même conclusion en utilisant une approche mathématique plus générale pour confirmer l'inélasticité de la demande de drogue à partir de courbes d'effet dose. Ces études suggèrent donc que l'escalade de la consommation de drogue est associée à une augmentation de la valeur récompensante de la drogue et/ou de la motivation des animaux à y accéder.

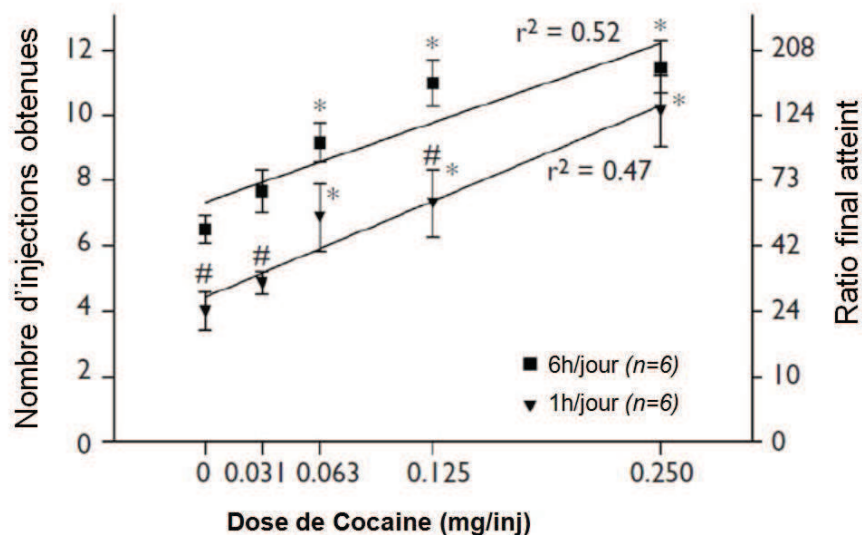


Figure 11 Modification de la fonction effet-dose mesurée par PR induite par une escalade de la prise de cocaïne.

D'après Paterson et Markou 2003.

D'autres preuves, utilisant des méthodes plus conventionnelles, de cette augmentation ont également été obtenues en utilisant une procédure de ratio progressif (PR) (Arnold and Roberts 1997; Hodos 1961). Paterson et Markou (Paterson and Markou 2003) ont par exemple montré qu'à la suite d'une escalade de leur prise de cocaïne, les rats LgA présentent un point de rupture plus élevé que le groupe ShA (voir **Figure 11**). Cette observation a par la suite été confirmée dans d'autres laboratoires (Allen, et al. 2007b; Larson, et al. 2007; Wee, et al. 2008) et même récemment étendue à d'autres drogues, telles que la méthamphétamine (Wee, et al. 2007b) et l'héroïne (Lenoir and Ahmed 2008). Cependant, il est à noter que deux autres études indépendantes n'ont pas reproduit ce résultat (Allen, et al. 2007b; Li, et al. 1994). En particulier, dans une de ces études, l'escalade de la consommation de cocaïne – qui fut induite par une administration passive de cocaïne – était associée au contraire à un point de rupture plus faible (Li, et al. 1994). L'origine de cette divergence reste à l'heure actuelle indéterminée.

Encart n° 3 : Le modèle de l'allée droite.

Au début des années 1990, Geist et Ettenberg ont mis au point un modèle alternatif permettant de mesurer les effets récompensants de la cocaïne. Dans ce modèle, les animaux sont placés dans une cage comportant trois compartiments : une boîte de départ, une allée droite et enfin une boîte d'arrivée que les animaux doivent rejoindre afin de recevoir cinq injections successives de 0,75mg/kg de cocaïne, espacées de trente secondes. Les animaux reçoivent donc au final une très forte dose de cocaïne de 3,75 mg/kg en un laps de temps très court. Ce test permet de quantifier différentes variables telles que la latence de départ, le temps pour atteindre la boîte d'arrivée, le nombre de retour en arrière de l'animal, ainsi que le lieu exact de l'allée droite où ces retours sont réalisés. Initialement développé comme un modèle alternatif permettant de mesurer les effets récompensants de la cocaïne, ce modèle a permis la mise en évidence d'un « comportement conflictuel d'approche-évitement » qui se traduit par des animaux qui progressivement au cours des séances de tests atteignent la boîte d'arrivée en faisant de plus en plus de retours en arrière au sein de l'allée droite, et mettent ainsi plus de temps à atteindre l'arrivée. Cette approche conflictuelle a permis de mettre en évidence l'existence d'effets anxiogènes de la cocaïne, en tout cas pour des fortes doses et chez des animaux peu exposés à la drogue. Ces effets peuvent être abolis par des drogues anxiolytiques. En effet, le diazépam (une benzodiazépine couramment utilisée) ainsi que l'éthanol (qui possède également des propriétés anxiolytiques chez le rat) réduisent le nombre de retours en arrière et la latence pour atteindre la boîte d'arrivée et recevoir les injections de cocaïne (Ettenberg and Geist 1991; Knackstedt and Ettenberg 2005).

Enfin, en utilisant le modèle de l'allée droite (Ettenberg and Geist 1991; Geist and Ettenberg 1990) (voir **encart n° 3**) originellement conçu par Ettenberg pour montrer l'existence d'effets anxiogènes de la cocaïne, Ben-Shahar et collaborateurs (Ben-Shahar, et al. 2008) ont montré que, à la suite d'une escalade de leur consommation de cocaïne, les rats LgA courent plus rapidement que les rats ShA vers la boîte d'arrivée où ils reçoivent des doses de cocaïne intraveineuse, suggérant ainsi que la valeur de la drogue et/ou la motivation des animaux à l'obtenir ont augmenté.

➤ Résistance à la punition et augmentation de la prise de risque.

Wolffgramm (Wolffgramm 1991; Wolffgramm and Heyne 1995) fut probablement le premier à suggérer qu'une résistance relative de l'auto-administration de drogue à la punition (le processus par lequel un stimulus aversif, réponse-contingent supprime la réponse pour la drogue) pourrait représenter une mesure opérationnelle de l'utilisation compulsive de drogue chez l'animal de laboratoire (voir aussi (Ahmed and Koob 1999)). D'après cette hypothèse, si la consommation de drogue devient compulsive pour l'animal, alors il devrait continuer à en consommer, et ce malgré des conséquences négatives immédiates et/ou différées. Autrement dit, si les animaux tombent dans la compulsion, ils devraient prendre plus de risques pour rechercher et/ou prendre de la drogue. Confortant cette hypothèse, Wolffgramm (Wolffgramm 1991; Wolffgramm and Heyne 1995) a ainsi montré dans le cas de l'alcool que des rats présentant une escalade de leur consommation d'éthanol (à la suite d'un accès continu à l'éthanol) continuaient à consommer plus d'éthanol que des rats n'escaladant pas leur consommation, bien que les expérimentateurs aient rendu la solution d'éthanol plus amère en ajoutant de la quinine (le goût amer étant un dissuasif naturel qui est écologiquement corrélé avec des nourritures ou des plantes empoisonnées). Cependant, bien que cette observation suggère effectivement que l'escalade de la consommation d'éthanol puisse être compulsive, elle pourrait être également expliquée par d'autres facteurs, telles que par exemple une différence interindividuelle dans la sensibilité des animaux au goût amer, facteur qui n'a pas été mesuré.

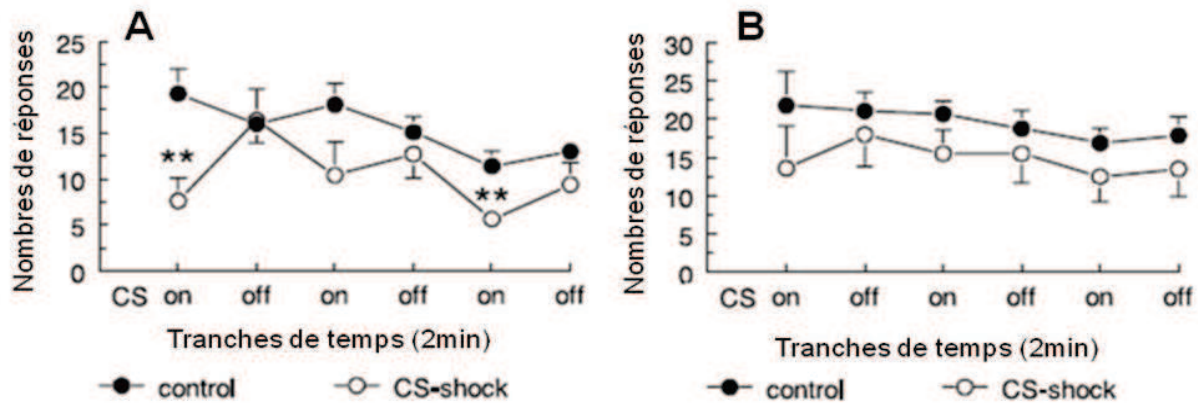


Figure 12 Effet de l'accès prolongé à la cocaïne sur la recherche de drogue

La présentation d'un stimulus conditionné (CS) aversif diminue la recherche de drogue après un accès limité (A) mais pas prolongé (B). D'après Vanderschuren and Everitt 2004.

Par la suite, Vanderschuren et Everitt (Vanderschuren and Everitt 2004) ont montré qu'après un accès prolongé à l'auto-administration de cocaïne, les rats sont devenus plus résistants à la suppression conditionnée de la recherche de cocaïne (voir [Figure 12](#)). De façon intéressante, cette observation ne peut pas être imputée à une diminution de la sensibilité des animaux à la douleur ou à un conditionnement aversif, car les rats ayant eu l'accès prolongé montrent un niveau identique à celui des animaux ayant un accès modéré de freezing conditionné à la suite d'un stress induit par un choc électrique.

➤ Difficulté à l'abstinence

La difficulté du sujet atteint d'une addiction à maintenir son abstinence, une autre caractéristique essentielle de l'addiction, peut être modélisée chez l'animal par le phénomène de résistance à l'extinction (l'animal continue à rechercher la drogue, même quand celle-ci n'est plus disponible). Les premières évidences de cette difficulté à l'abstinence (voir [Figure 13](#)) ont été obtenues chez des rats ayant un accès prolongé à l'héroïne (Ahmed, et al. 2000; Chen, et al. 2006; Doherty, et al. 2009; Lenoir and Ahmed 2007; Lenoir and Ahmed 2008). Dans deux de ces études, cette résistance a même été observée pendant plusieurs jours (Chen, et al. 2006; Doherty, et al. 2009) (voir [Figure 13](#)). De plus, la sévérité de cette résistance à l'extinction augmente selon la durée de la période de sevrage, suggérant un phénomène d'incubation (Zhou, et al. 2009).

Dans le cas de la cocaïne par contre, aucune résistance à l'extinction n'a été jusqu'à observée (Allen, et al. 2007a; Jin, et al. 2010; Kippin, et al. 2006; Knackstedt and Kalivas 2007; Madayag, et al. 2010; Mantsch, et al. 2008b; Mantsch, et al. 2004; Sorge and Stewart 2005). Cette surprenante observation pourrait s'expliquer par le fait que dans la plupart de ces études, la durée de la période de sevrage précédant le test des animaux en extinction était relativement courte (1 à 3 jours), ce qui pourrait probablement prévenir l'incubation d'un phénomène de résistance à l'extinction de la recherche de cocaïne (Grimm, et al. 2001). Appuyant cette hypothèse, Ferrario et collaborateurs ont montré que lorsque la période de sevrage était beaucoup plus longue (3 semaines), les rats qui avaient eu un accès prolongé à la cocaïne répondaient plus durant le test d'extinction que les animaux contrôles (Ferrario, et al. 2005). Cependant, cette augmentation du comportement de recherche de drogue des animaux pourrait également être due à la dissipation de certains effets observés dans les premiers jours du sevrage (suppression générale du comportement et/ou diminution de l'état hédonique de l'animal), effets qui interfèrent avec le comportement de recherche de drogue. D'autres études sont donc nécessaires pour mieux caractériser le phénomène pour la cocaïne.

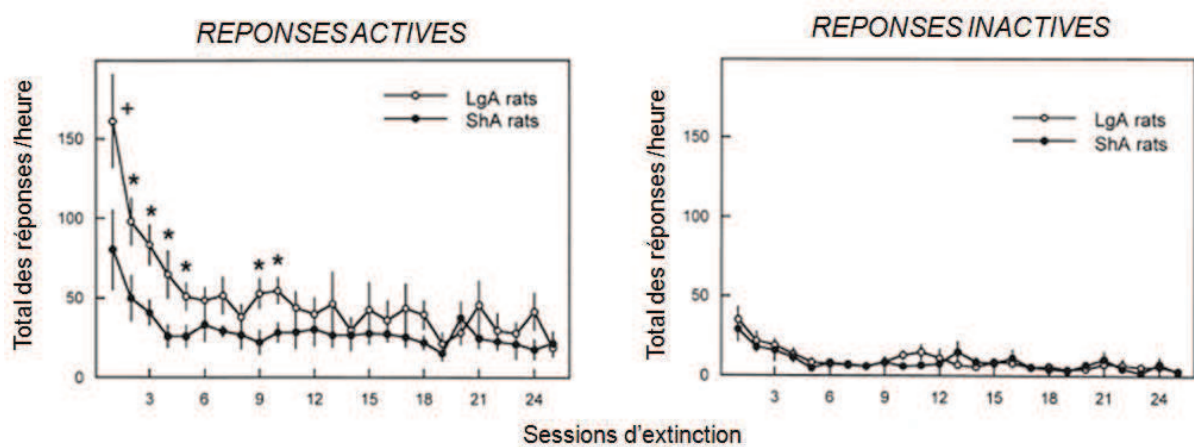


Figure 13 Extinction du comportement de recherche d'héroïne chez les rats ShA et LgA après escalade.

Mesure du nombre de réponses sur les leviers actif et non actif dans des sessions d'extinction d'une heure (25 sessions au total). Durant l'extinction, l'action sur les leviers n'a aucune conséquence. D'après Ahmed et al 2000

- Sensibilité augmentée du désir de drogue induit par le stress ou la drogue

Bien que le désir de drogue induit par un stress ou une dose de drogue elle-même ne soit pas actuellement un critère diagnostique de l'addiction, il représente pourtant une caractéristique

claire d'un comportement addictif car il n'est pas observé chez des consommateurs de drogue non dépendants (Jaffe, et al. 1989; Volkow, et al. 2005). Ce critère pourrait d'ailleurs être inclut dans la prochaine révision du DSM (Miller and Holden 2010).

Le désir de drogue est modélisé chez l'animal de laboratoire par un test de réinstallation du comportement à la suite d'une extinction (voir [partie III.3](#)) (Epstein and Preston 2003). En utilisant ce modèle, Mantsch et collaborateurs (Mantsch, et al. 2004) ont montré qu'un accès étendu, mais pas limité, à l'auto-administration de cocaïne était associé à une augmentation du comportement de réinstallation induit par une injection de cocaïne (voir [Figure 14](#)). Cette découverte a depuis été plusieurs fois reproduite (Ahmed and Cador 2006; Kippin, et al. 2006; Knackstedt and Kalivas 2007; Mantsch, et al. 2008b) et étendue à d'autres drogues telles que l'héroïne (Lenoir and Ahmed 2007) et la méthamphétamine (Rogers, et al. 2008a; Schwendt, et al. 2009). Une étude a par ailleurs montré que 80 % des rats ayant eu un accès prolongé étaient sensibles à la réinstallation induite par une injection de cocaïne, contre seulement 20 % des rats ayant eu un accès limité à la drogue (Ahmed and Cador 2006). De plus, la sensibilité à la réinstallation induite par un stress est également augmentée chez les animaux ayant eu un accès prolongé à l'auto-administration de cocaïne (Mantsch, et al. 2008a). Par contre, l'effet d'un accès prolongé sur la réinstallation induite par un signal lumineux est moins clair. Certaines études ont rapporté une augmentation significative de cette réinstallation (Jin, et al. 2010; Kippin, et al. 2006) alors que d'autres n'ont rapporté aucune modification de cette réinstallation (Doherty, et al. 2009; Rogers, et al. 2008a; Schwendt, et al. 2009; Zhou, et al. 2009).

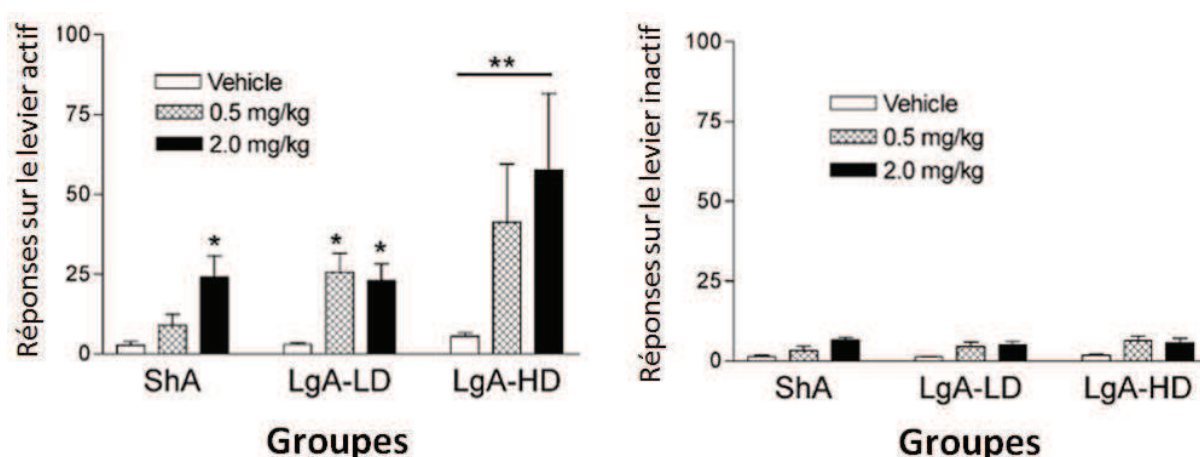


Figure 14 Effet d'un accès prolongé à la cocaïne sur la réinstallation de la cocaïne

Le phénomène de réinstallation a été induit par une injection de cocaïne passive (0,5 mg/kg ou 2 mg/kg) chez des rats ayant un accès limité (ShA), étendu à une dose de 0,5 mg/kg (LgA-LD) et à une dose de 2 mg/kg (LgA-HD) de cocaïne. D'après Mantsch, et al. 2004.

❖ *L'escalade croisée de la consommation de drogues*

Comme nous venons de le voir, le phénomène d'escalade est observé dans un grand nombre de drogues d'abus, telles que les stimulants, les opioïdes et l'éthanol. Bien que l'étude systématique de l'existence ou non d'une escalade croisée de la consommation entre différentes drogues d'abus (qu'elles soient ou non de la même classe) n'ait pas été encore réalisée, il existe des faisceaux de preuve de l'existence du phénomène.

L'escalade croisée est définie comme une augmentation de la consommation d'une drogue nouvellement rencontrée consécutive à l'escalade de la consommation d'une autre drogue. L'étude systématique du phénomène pourrait fournir, non seulement des informations sur la neurobiologie commune du phénomène d'escalade, mais aussi permettre une meilleure compréhension de l'étiologie humaine de l'addiction (où le sujet dépendant abuse régulièrement de plusieurs drogues en même temps). Afin de commencer à résoudre ce problème, nous nous sommes intéressés dans notre laboratoire à la possible existence d'une escalade croisée entre cocaïne et héroïne (Magalie Lenoir, Karyn Guillem, George Koob et Serge Ahmed, sous presse), deux drogues à fort potentiel addictif, qui ont des effets pharmacologiques communs mais également différents. Pour cela, deux groupes de rats ont d'abord eu la possibilité de s'auto-administrer soit de la cocaïne soit de l'héroïne à raison d'une heure par jour. Après stabilisation de leur consommation, l'escalade de la prise de drogue a été induite en augmentant le temps d'accès à la drogue à 6 heures par jour. Un effet dose a alors été réalisé pour chaque groupe (voir **Figure 15 a et b**) et révèle l'absence d'escalade croisée entre cocaïne et héroïne.

En détail, on observe qu'après augmentation de leur temps d'accès à la drogue, chaque groupe de rats montre une escalade de la consommation de leur première drogue d'accès. Cependant, ces mêmes animaux n'ont montré aucune augmentation de leur consommation pour la drogue alternative, quelle que soit la dose utilisée. Cette absence d'escalade croisée entre cocaïne et héroïne a été confirmée dans une deuxième expérience (voir **Figure 15 c et d**). Lors de cette expérience, 8 rats ont été entraînés à s'auto-administrer à la fois de la cocaïne et de l'héroïne, lors de sessions quotidiennes alternées d'une durée d'1 heure, jusqu'à stabilisation de leur consommation d'héroïne et de cocaïne. Après cette phase d'entraînement, l'accès à la cocaïne des animaux a été augmenté à 8 heures par jour durant plusieurs jours. De façon attendue, les animaux ont montré une escalade de leur consommation de cocaïne, mais cette fois encore, quelle que soit la dose utilisée, aucune escalade croisée entre cocaïne et héroïne n'a pu être

mise en évidence. Cependant, de nombreuses recherches restent à effectuer pour mieux caractériser la généralité de ce phénomène avec une variété de drogues d'abus.

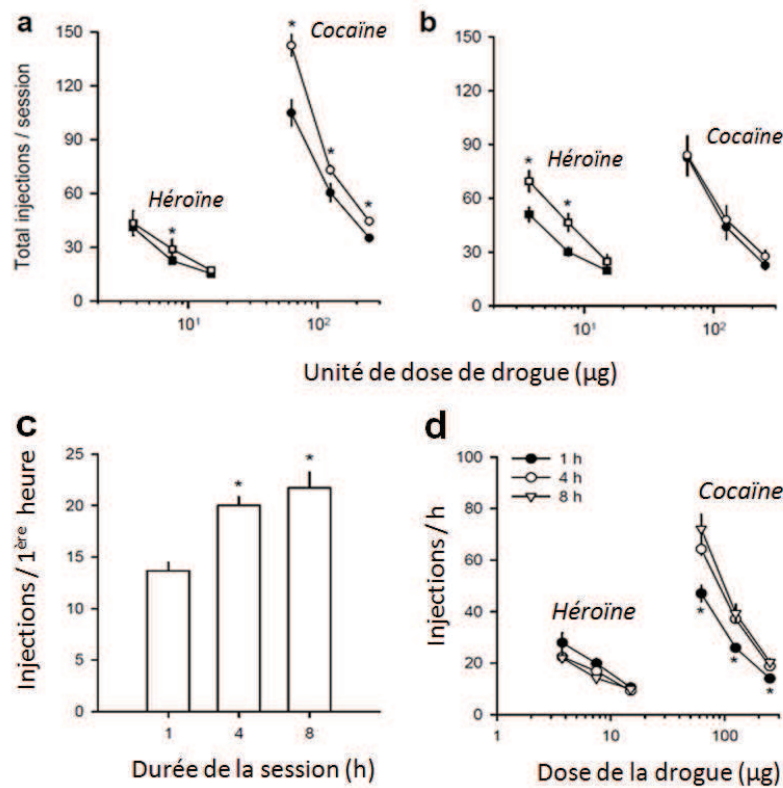


Figure 15 Escalade croisée entre cocaïne et héroïne

Substitution de la drogue après un accès prolongé à la cocaïne (a) ou à l'héroïne (b). D'après Magalie Lenoir, Karyn Guillem, George Koob et Serge Ahmed, sous presse.

2. Le modèle des trois critères

Conscients du fait que des preuves indiscutables et convaincantes de l'existence du phénomène d'addiction dans un modèle animal manquent encore, Deroche-Gamonet et collaborateurs ont proposé en 2004 un autre modèle, le modèle des trois critères, basé sur un principe similaire au modèle de l'accès prolongé (Deroche-Gamonet, et al. 2004). En effet, comme nous venons de le voir précédemment, alors que pour ce dernier, l'accès prolongé à la drogue s'accompagne de l'apparition de symptômes ressemblant aux critères diagnostiques du DSM-IV, l'étude de l'apparition simultanée de plusieurs critères sur le même animal suite à un accès prolongé à la drogue n'a pas été systématiquement réalisée. Ainsi, le modèle des trois critères consiste à voir s'il est possible, chez le rat de laboratoire s'auto-administrant de la cocaïne, de voir émerger simultanément chez un même individu des caractéristiques comportementales correspondant aux critères diagnostiques de l'addiction définis par le

DSM-IV (voir [partie 1.II](#)). Les auteurs ont choisi trois critères parmi les sept critères permettant de diagnostiquer une dépendance à une substance d'abus : (i) le sujet a des difficultés à contrôler sa prise de drogue ou à stopper sa consommation ; (ii) le sujet montre une forte augmentation de sa motivation à prendre de la drogue, avec l'augmentation de ses activités consacrées à la recherche et à la consommation de la drogue ; (iii) le sujet continue à prendre de la drogue malgré les conséquences négatives connues.

Les rats qui répondent aux trois critères sont considérés comme des rats dépendants. A l'inverse, les rats qui ne montrent aucun signe comportemental de l'addiction dans aucun des trois critères sont considérés comme résistants à l'addiction à la cocaïne. En revanche, le statut des individus répondant à 1 ou 2 critères est incertain (ni dépendant, ni résistant).

❖ *Description méthodologique du modèle*

Le premier critère (difficulté à l'abstinence) a été opérationnalisé en mesurant la persistance de l'animal à rechercher de la cocaïne pendant une période où l'indisponibilité de la drogue est signalée (extinction). Cette mesure a été réalisée à travers des séances d'auto-administration quotidiennes divisées en 3 périodes d'accès à la cocaïne (d'une durée de 40 ou 60 minutes chacune selon l'étude réalisée), séparées par deux périodes « sans drogue » de 15 minutes. Les deux types de période sont signalés par une illumination différente au sein de la cage d'auto-administration. Pendant les périodes d'accès à la cocaïne, un régime de renforcement classique (FR5) est mis en place et l'animal reçoit ainsi une infusion de 0,8 mg de cocaïne par kg s'il met cinq fois son museau dans le trou. A l'opposé, durant les périodes « sans drogue », les réponses de l'animal ne sont pas récompensées. La mesure de ces réponses non récompensées représente pour les auteurs un indicateur de la difficulté des animaux à stopper leur prise de drogue. Plus ils répondent, plus ils ont du mal à maîtriser leur comportement de prise de drogue. Cependant, on peut également considérer le modèle d'extinction comme un indicateur du désir de drogue de l'animal.

Afin de tester la possible apparition du deuxième critère (l'augmentation de la motivation à prendre de la drogue), les auteurs ont utilisé un régime de ratio progressif (voir [partie 3.III.2](#)) au sein d'une séance de test unique. Brièvement, la disponibilité de la drogue est signalée par un signal lumineux et le nombre de réponses nécessaires à l'obtention d'une infusion de cocaïne est augmentée après chaque récompense selon l'incrémentation suivante (10, 20, 30, 45, 65, 85, 115, 145, 185, 225, 275, 325, 385, 445, 515, 585, 665, 745, 835, 925, 1025, 1125,

1235, 1345, 1465, 1585). Le dernier ratio complété, c'est-à-dire le nombre maximal de réponses que l'animal fournit pour obtenir une injection de cocaïne constitue le point de rupture.

Enfin, l'apparition du dernier critère (l'usage continu de drogue malgré les conséquences négatives qui en résultent) a été testée en mesurant la persistance des animaux à travailler pour obtenir leur infusion de cocaïne lorsque celle-ci est suivie d'une punition sous la forme d'un choc électrique d'une intensité de 0,4 mA pendant deux secondes. Ces sessions sont conçues de la même façon que les périodes d'accès à la cocaïne, à la différence que la première réponse de l'animal dans le trou entraîne l'illumination d'un nouveau signal lumineux (de couleur verte) indiquant la présence d'un choc électrique si l'animal complète son FR5.

Une fois les tests réalisés, les animaux obtiennent un score individuel pour chaque critère. Un animal est considéré comme positif pour un critère si sa performance se situe au-dessus du 66^{ème} percentile et reçoit ainsi le score de +1. Un animal négatif pour un critère reçoit un score de 0. Cette limite a été choisie arbitrairement et impose donc à priori une proportion forcément inférieure à 33 % pour les rats considérés comme dépendants, limitant l'interprétation des résultats.

❖ Principaux résultats obtenus

Dans une première expérience, un groupe de 17 rats a été testé selon le protocole du modèle des trois critères (pour un total de 76 sessions quotidiennes d'auto-administration de cocaïne). Après une période de sevrage de 5 jours, les animaux ont été testés dans un protocole de réinstallation de la prise de drogue. Les rats ont été divisés en deux groupes selon leur nombre de réponses durant la session de réinstallation induite par la plus forte dose de drogue. Les 40% des rats qui ont effectué le plus de réponses constituent le groupe HRein (très sensible à la réinstallation) alors que les 40 % ayant effectué le moins de réponses font partie du groupe LRein (peu sensible à la réinstallation). Cette limite de 40 % a également été choisie de façon arbitraire.

Les auteurs ont ainsi découvert que l'apparition de symptômes de type addictif diffère sensiblement entre les deux groupes. Les rats HRein montrent une augmentation progressive de leur comportement de recherche de drogue pendant les périodes « sans drogue » ainsi

qu'après une punition et ont un point de rupture plus élevé lors des séances de ratios progressifs. A l'opposé, aucun de ces critères comportementaux n'est modifié au cours des séances pour le groupe LRein.

D'un point de vue général, 17% des rats ont été diagnostiqués comme dépendants car satisfaisant aux critères alors que 41% ne satisfont aucun des trois critères et sont donc considérés comme résistants à l'addiction. Cette répartition ne peut s'expliquer par des différences individuelles initiales de prise de drogue ou par une différence de sensibilité aux effets psychomoteurs de la cocaïne puisque la locomotion, ainsi que la quantité totale de cocaïne consommée pendant une séance d'auto-administration est identique pour les deux groupes.

Ce modèle a donc été un des premiers à suggérer que, comme chez l'homme, seule une minorité d'individus était sensible à l'addiction chez le rat. Cependant, la méthode statistique utilisée qui fixe à l'avance le pourcentage de rats « cocaïnomanes » en dessous de 33% devrait entraîner à la prudence dans l'interprétation de ces résultats. De plus, la validité constructive de chaque critère pris individuellement reste incertaine car elle n'a pas encore été l'objet d'études systématiques. Par exemple, en ce qui concerne le critère de la résistance à une punition (c'est-à-dire une utilisation continue de drogue malgré une punition sous forme de choc électrique), il y a à l'heure actuelle trop peu d'études empiriques ayant pu démontrer qu'il reflète bien une prise de drogue compulsive. En effet, la résistance d'un animal à une punition pourrait être un indicateur d'une motivation plus importante de l'animal pour la drogue (les rats résistants pourraient choisir la cocaïne malgré la punition car le bénéfice de la cocaïne en vaut le prix) et/ou d'une sensibilité réduite à la douleur induite par un choc électrique (les rats résistants pourraient être moins sensibles à la douleur d'un choc électrique). De même, des différences individuelles dans les réponses des animaux en ratio progressif (PR) pourraient refléter non seulement une variation individuelle dans la motivation pour consommer la drogue mais aussi une variation de la sensibilité aux effets stimulants directs de la cocaïne pendant le test.

Partie 4 : LA QUESTION DU CHOIX DANS LES MODELES ANIMAUX D'ADDICTION

La transition vers l'addiction est caractérisée par une consommation compulsive de drogue au détriment d'autres options sociales valorisées et malgré des conséquences négatives associées (Heyman 2009; Hyman 2007b). L'aspect le plus troublant dans le phénomène d'addiction est que les personnes dépendantes semblent agir contre leur propre intérêt (Bechara 2005; Heyman 2009; Paulus 2007; Redish, et al. 2008). Elles recherchent et prennent plus de drogues au détriment d'autres activités qui sont en général plus récompensantes sur le long terme et potentiellement accessibles. Cette clarification est importante, car il est nécessaire de distinguer consommation compulsive de drogues et consommation par manque d'alternatives valables (Alexander 2008). Dans le cas de l'addiction à la cocaïne, l'abandon progressif de comportements alternatifs en faveur de la recherche et de la consommation de la drogue a des conséquences importantes pour le sujet dépendant (échec scolaire, perte de l'emploi, isolement social et/ou familial, sanctions légales) qui devraient normalement le dissuader de poursuivre dans cette voie et le motiver à s'abstenir totalement de drogue. Cependant, malgré la connaissance de ces risques majeurs, la grande majorité des personnes atteintes d'addiction continuent à rechercher activement et à prendre de la cocaïne. Tout se passe comme si elles avaient perdu leur capacité d'effectuer un choix rationnel librement et sous leur volonté. De ce fait, un des plus grands challenges de la neurobiologie de l'addiction à la cocaïne est ainsi d'identifier les dysfonctionnements neurobiologiques pouvant expliquer cette apparente incapacité du sujet dépendant à faire des choix volontaires et rationnels (Koob 2006).

Comme nous venons de le voir dans la partie précédente, de plus en plus de tentatives de modéliser le passage à une consommation compulsive de drogue ont été réalisées durant les dix dernières années, essentiellement chez le rat. A la vue des résultats obtenus, il est maintenant clair qu'à la suite d'un accès prolongé, mais pas un accès limité, à l'auto-administration de cocaïne, les rats peuvent développer des signes comportementaux qui ressemblent aux critères de l'addiction, tels que les définit le DSM-IV. En effet, les animaux montrent une escalade de leur consommation de drogue, ils travaillent plus dur et prennent plus de risques pour obtenir la drogue, et sont plus sensibles au comportement de rechute induit par un stress ou par la drogue. Cependant, une question importante reste en suspens :

ces changements reflètent-ils bien une perte de contrôle de l'animal (qui est une notion essentielle dans le concept de l'addiction en tant que désordre psychiatrique) ?

En effet, comme nous l'avons vu en détails dans la **partie III**, depuis l'étude princeps de James Weeks, dans la majorité des expériences d'auto-administration, les animaux ont un accès libre à la cocaïne, avec pas ou peu (présence d'un levier inactif, pour lequel les appuis n'ont pas de conséquence) d'autres options et activités alternatives (Ahmed 2005). Ce modèle peine donc à mimer une composante majeure de l'environnement humain, dans lequel nous sommes tous les jours confrontés à diverses distractions et activités sociales qui représentent une option plus valorisée socialement que la prise de drogue. Dans ces conditions, de sérieux doutes subsistent concernant l'interprétation à donner aux résultats obtenus chez des animaux « cocaïnomanes ». Sont-ils révélateurs d'un état sous-jacent d'addiction, ou faut-il plutôt les considérer comme une réponse normale, acceptable à une situation non représentative (l'absence de choix et d'options alternatives) et de ce fait ne devant pas être considérés comme des preuves de l'existence d'une prise de drogue compulsive chez l'animal (Martin, et al. 2008; Wakefield 2007) ? Comme le soulignaient déjà Hyman et Malenka en 2001, bien que *« l'auto-administration de drogue chez le rongeur ait fourni à la communauté scientifique d'importantes informations, il apparaît difficile de soutenir l'argument selon lequel elle modélise la compulsion, quand la seule alternative à la prise de drogue est la solitude dans une cage de la taille d'une boîte à chaussures »* (Hyman and Malenka 2001).

Dans cette quatrième partie, nous nous attacherons donc à décrire les approches expérimentales qui ont tenté de lever cette incertitude.

I. L'ENRICHISSEMENT DE L'ENVIRONNEMENT

Dans l'optique de mieux modéliser l'addiction chez l'animal, une des premières questions qui se pose est de savoir si les conditions de vie utilisées en laboratoire ne sont pas trop différentes de celles de la vie réelle. En d'autres termes, le rat de laboratoire est-il vraiment représentatif du rat en général, celui qui vadrouille dans les champs et celui qui nous agace parfois dans nos villes, où les conditions particulières de vie que les chercheurs lui ont imposé en ont-ils fait un autre animal ?

En effet, l'environnement utilisé en laboratoire s'avère la plupart du temps très limité. Le rat de laboratoire est confiné dans une cage de taille relativement modeste, sans aucune distraction disponible, et de plus très souvent isolé socialement de ses congénères, alors qu'il s'agit d'un animal très sociable et joueur. Dans ces conditions, le chercheur ne s'éloigne t'il pas déjà avant même de commencer son expérience de son but initial, à savoir modéliser au mieux le phénomène humain ?

Dans ce contexte, certains chercheurs ont proposé d'appliquer l'enrichissement de l'environnement (EE) dans le domaine de l'addiction.

Les premiers travaux s'intéressant à l'effet d'un environnement normalisé sur les fonctions cognitives du rat datent du début des années 1950 (Bingham and Griffiths 1952; Forgays and Forgays 1952). Parmi ces études pionnières, David Krech, Mark R. Rosenzweig et Edward L. Bennet furent probablement les premiers à mettre en place un protocole expérimental d'EE semblable à celui utilisé aujourd'hui (Krech, et al. 1960; Krech, et al. 1962; Rosenzweig 1966; Rosenzweig, et al. 1962). Des environnements enrichis sont constitués en général par des cages plus grandes, contenant une roue ainsi que des jouets qui sont régulièrement changés pour stimuler la curiosité de l'animal (voir [Figure 16](#)). Dans ces études, les animaux étaient répartis en trois groupes, un groupe IC (condition d'isolement) élevé en condition appauvrie et d'isolation sociale, un groupe SC (condition sociale) pour lequel les animaux étaient à trois par cage, et un groupe EC élevé en condition plus enrichie. Les animaux du groupe enrichi étaient élevés en communauté de dix rats, dans des cages de taille beaucoup plus importante, contenant différentes plateformes et deux jouets renouvelés chaque jour afin de stimuler la curiosité des rats.

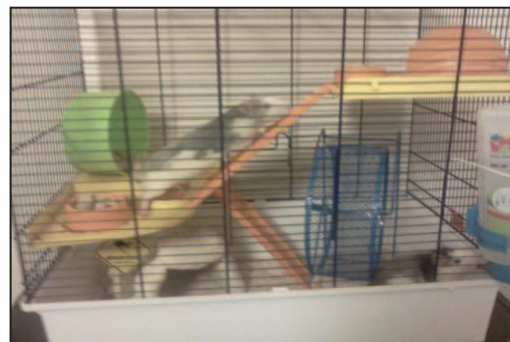
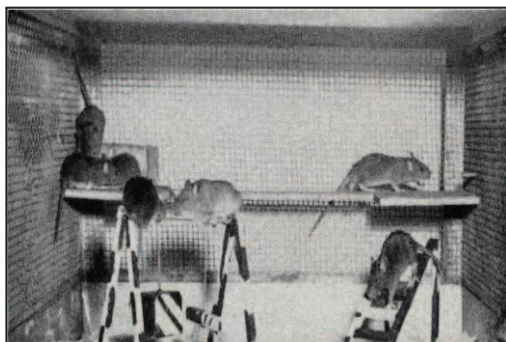


Figure 16 Cage d'enrichissement de l'environnement

a. Exemple d'après Krech et al 1960

b. Exemple actuel d'une cage d'EE

De plus en plus de données dans la littérature ont permis d'établir que des variables environnementales pouvaient significativement moduler certaines modifications induites par la drogue (Ahmed, et al. 1995; Lu, et al. 2003; Marinelli and Piazza 2002).

Chez le rat, l'enrichissement de l'environnement diminue les effets stimulants de l'amphétamine (Bardo, et al. 1995; Bowling, et al. 1993) ainsi que l'auto-administration d'amphétamine (Bardo, et al. 2001). Cependant, dans ces études, l'effet de l'enrichissement de l'environnement a été comparé à un environnement isolé (et non, un environnement standard), ce qui pourrait avoir augmenté les effets positifs de l'enrichissement. En accord avec ces observations, Bezard et collaborateurs ont montré, en utilisant cette fois un environnement standard comme contrôle, que des souris élevées dans un environnement enrichi étaient moins sensibles aux effets psychomoteurs de la cocaïne (c'est-à-dire que leur activité locomotrice suite à une injection de cocaïne est plus faible) que les souris élevées dans un environnement standard (Bezard, et al. 1993). L'ensemble de ces résultats indique que l'EE pourrait avoir un effet préventif sur le développement de l'addiction à une drogue.

Cependant, la question de son effet sur des animaux dont le comportement de prise de drogue est déjà établi et de son potentiel curatif reste posée.

Dans cette optique, Solinas et collaborateurs ont montré en utilisant une procédure de CPP que les effets récompensants de la cocaïne pouvaient être dissipés par une exposition de trente jours à un environnement enrichi et que cette exposition prévenait la réinstallation d'une préférence de place conditionnée par la cocaïne et réduisait l'activation de la circuiterie neuronale impliquée dans cette réinstallation (Solinas, et al. 2008). De plus, dans une autre étude utilisant le modèle de l'extinction/réinstallation (Chauvet et al, 2009), ils ont pu montrer que des rats, élevés dans un environnement enrichi pendant trente jours après avoir acquis le comportement d'auto-administration, appuyaient beaucoup moins sur le levier associé à la cocaïne pendant la phase d'extinction que le groupe contrôle élevé en environnement isolé et étaient beaucoup moins sensibles à la réinstallation du comportement de prise de drogue induite par un signal associé à la drogue ou un stress. De façon intéressante, l'enrichissement d'environnement n'a aucun effet sur la réinstallation de la prise de drogue induite par une injection passive de cocaïne, et ce même si les animaux sont élevés en environnement enrichi pendant une période étendue de 90 jours. Ces observations ont d'ailleurs été reproduite dans un autre laboratoire (Thiel, et al. 2009), et suggèrent que l'EE pourrait réduire les risques de rechute à l'addiction à la cocaïne.

Enfin, Gipson et collaborateurs ont étudié l'effet de l'enrichissement d'environnement dans le modèle de l'accès différentiel à la drogue (Gipson, et al. 2011). Dans cette étude, 72 rats ont été répartis en quatre groupes correspondant à quatre conditions d'enrichissement différentes : (i) le groupe EC a été élevé pendant 21 jours en conditions enrichies, à la fois socialement et par la présence de jouets dans la cage (ii) le groupe SC a été élevé en conditions enrichies exclusivement socialement (iii) le groupe NC a été élevé en conditions enrichies exclusivement par la présence de jouets dans la cage (iv) enfin, le groupe IC a été élevé en conditions appauvries, à la fois isolé socialement et sans jouet dans leur cage.

A la fin de cette période de 21 jours, chaque groupe a été subdivisé en deux conditions expérimentales : ShA et LgA, selon le protocole classique dans le modèle de l'accès différentiel à la drogue (accès quotidien d'une heure à l'auto-administration de cocaïne contre accès quotidien de six heures). A la plus faible dose utilisée (0,1 mg/kg), seuls les groupes IC et NC montrent une escalade de leur consommation de drogue lorsqu'ils ont un accès prolongé à l'auto-administration de cocaïne. Par contre, à une dose plus élevée de 0,5 mg/kg, tous les groupes, y compris le groupe EC, escaladent leur consommation de drogue. Ces résultats indiquent donc que si l'enrichissement de l'environnement protège contre l'escalade de la consommation à la faible dose (et que cette protection serait plutôt due à l'enrichissement social qu'à la présence de jouets dans la cage), il n'a plus d'effet protecteur pour des plus fortes doses de cocaïne, réduisant peut être le possible impact d'une thérapie à l'addiction prônant un enrichissement de l'environnement. Ces résultats sont par ailleurs en accord avec une étude antérieure montrant que l'isolement social augmente la sensibilisation comportementale à l'amphétamine aux faibles doses mais n'a aucun effet aux fortes doses (Ahmed, et al. 1995).

II. L'INFLUENCE D'UNE ALTERNATIVE A LA DROGUE

Une approche récente pour remédier au manque d'options alternatives en auto-administration standard a consisté à étudier l'effet de renforçateurs alternatifs sur l'auto-administration de cocaïne chez le rat (Campbell and Carroll 2000). Marilyn Carroll et ses collaborateurs ont ainsi montré dans une série d'expériences que la présence de récompenses naturelles pouvait influencer la prise de drogue. Ils ont par exemple montré qu'un accès concurrent à une solution palatable d'eau sucrée (un mélange de saccharine et de glucose) réduisait la

proportion de rats qui faisaient l'acquisition du comportement d'auto-administration de cocaïne ainsi que le maintien du comportement d'auto-administration après son acquisition (Carroll and Lac 1993; Carroll, et al. 1989). D'autres études ont également montré que des alternatives non alimentaires avaient un effet sur la prise de psychostimulants (Cosgrove, et al. 2002; Kanarek, et al. 1995; Klebaur, et al. 2001; Mattson, et al. 2001). La présence d'une roue par exemple entraîne une diminution du nombre d'injections de cocaïne. Cette diminution semble par ailleurs sexe-dépendante car les rats femelles montrent une diminution très importante (supérieure à 50 %) de leur taux d'injection de drogue alors que l'on observe seulement une très légère tendance à la diminution chez les rats mâles (Cosgrove, et al. 2002).

L'ensemble de ces résultats indique donc qu'une récompense ou une activité alternative diminue l'acquisition de l'auto-administration de cocaïne et/ou le taux d'injection des animaux. Cependant, dans ces études, les animaux sont soumis à un choix concurrent mais non exclusif. Cela signifie concrètement que la drogue et la récompense ou l'activité alternative sont disponibles simultanément, et que l'animal est libre de consommer les deux à sa guise. Prendre de la drogue n'exclut donc pas la possibilité de prendre quelques instants plus tard la récompense alternative. De ce fait, ce type d'expériences ne permet pas de mimer un des critères essentiels de l'addiction, l'augmentation du temps passé à la recherche et à la prise de drogue au détriment d'autres activités généralement plus récompensante sur le long terme, et ne renseigne donc pas sur le caractère compulsif du comportement de prise de drogue des animaux.

III. LE MODELE DE CHOIX

Comme nous l'avons vu avec l'encart n°1, l'utilisation d'un modèle de choix pour étudier le phénomène d'addiction aux drogues se révèle finalement assez ancienne. Le travail princeps de Spragg (Spragg 1940) à la fin des années 1930 utilisait déjà un protocole de choix exclusif. Spragg observa ainsi que les deux chimpanzés qu'il avait rendus dépendant physiologiquement à la morphine par des injections passives régulières de drogue pendant plusieurs mois faisaient pratiquement exclusivement le choix, lorsqu'ils n'étaient pas sevrés de morphine, de la nourriture au détriment de la drogue.

Malgré ces résultats prometteurs, le protocole de choix fut peu utilisé dans le domaine de l'addiction, et ce n'est qu'une quarantaine d'années plus tard que de nouvelles études utilisant ce protocole furent réalisées chez le singe, essentiellement avec la cocaïne (Aigner and Balster 1978; Banks and Negus 2010; Gasior, et al. 2004; Johanson and Schuster 1975; Nader, et al. 1993; Nader and Woolverton 1990, 1991, 1992a, 1992b; Negus 2003; Negus 2004, 2005a, 2005b; Negus and Mello 2004; Paronis, et al. 2002; Woolverton 2003; Woolverton and Alling 1999; Woolverton and Anderson 2006; Woolverton and Balster 1979, 1981; Woolverton and English 1997) mais également avec l'héroïne (Griffiths, et al. 1975; Negus 2006; Negus and Rice 2009).

En 1975, Johanson et Schuster rapportent une nouvelle procédure de choix permettant de comparer le pouvoir récompensant de deux différentes drogues (Johanson and Schuster 1975). Treize singes adultes mâles, cathétérisés et n'ayant eu aucune expérience avec la drogue, étaient testés dans une cage contenant deux leviers, répartis à chaque extrémité de la cage. Après un entraînement initial à l'auto-administration de cocaïne, les animaux ont été testés en protocole de choix exclusif. Celui-ci comportait deux parties : une phase d'échantillonnage permettant de s'assurer que les animaux étaient conscients de la récompense associée à chacun des leviers, puis la phase de choix en elle-même. Au total, les animaux pouvaient échantillonner cinq fois chacune des deux récompenses avant de faire leur choix. Dans un premier temps, les expérimentateurs ont proposé aux animaux de choisir entre une injection de cocaïne (avec un effet dose allant de 0,05 à 1,5 mg/kg) et une injection de solution saline intraveineuse. Sans surprise, et même à la très faible dose, les animaux choisissent pratiquement exclusivement la cocaïne, confirmant qu'ils sont bien capables de discriminer la drogue de la solution saline. Dans un deuxième temps, les animaux ont pu choisir entre deux doses de cocaïne. Les résultats indiquent qu'ils sont capables de discriminer deux doses différentes de drogue et choisissent toujours la dose de concentration la plus élevée. Ces résultats indiquent donc qu'un protocole de choix discret peut constituer une méthode valide pour comparer la valeur renforçante relative de deux drogues.

Trois années plus tard, Aigner et Balster ont testé la valeur relative de la cocaïne comparée à une quantité relativement limitée de nourriture (Aigner and Balster 1978). Dans cette étude, trois animaux, en privation alimentaire 23 heures avant le début du test, furent testés consécutivement pendant huit jours dans un protocole de choix. Les essais avaient lieu toutes les quinze minutes et les animaux devaient compléter trente deux réponses sur l'un ou l'autre des deux leviers pour obtenir une dose intraveineuse de cocaïne ou une quantité limitée de

nourriture (cinq pastilles de nourriture d'un gramme). Les animaux ont montré une préférence quasi exclusive pour la cocaïne, qui persiste tout au long des huit jours de l'expérience. Les auteurs en concluent donc que ces résultats démontrent que chez le singe rhésus, en conditions non forcées, la cocaïne est beaucoup plus renforçante qu'une récompense alternative pourtant puissante.

De nombreuses autres études utilisant un protocole de choix ont par la suite été réalisées et mènent à la conclusion générale selon laquelle la présence d'une alternative peut réduire la prise de drogue. Cependant, aux fortes doses, les animaux choisissent pratiquement toujours la drogue. Ceci est sans doute dû à des conditions expérimentales favorisant la préférence pour la cocaïne (voir la **partie discussion** pour plus de détails), comme par exemple le fait que l'alternative choisie est peu palatable ou attractive.

En réalité, une seule étude chez le singe a rapporté un résultat contradictoire (Nader and Woolverton 1991) qui pourrait soutenir cette hypothèse. Quatre singes, mis en privation alimentaire, ont eu la possibilité de choisir entre différentes doses de cocaïne et différentes quantités de nourriture. La plupart des animaux (trois sur quatre) ont alors préféré la plus grande quantité de nourriture (quatre pastilles d'un gramme) à la plus forte dose. Bien que faisant figure d'exception, cette étude est finalement corroborée par les autres études chez le singe. En effet, si on analyse par exemple en détails l'étude récente de Banks et Negus (Banks and Negus 2010), on observe que malgré de nombreuses conditions expérimentales favorisant le choix cocaïne (coût économique de la nourriture dix fois supérieur, mise à disposition de cinquante pastilles d'un gramme pendant le test, utilisation d'une procédure de choix continue favorisant l'accumulation des effets de la drogue), ce n'est que pour la plus forte dose de cocaïne que l'on observe un shift significatif de la préférence des animaux en faveur de la drogue.

Les résultats sur le singe, lorsqu'ils sont réinterprétés, sembleraient donc indiquer que lorsque les animaux ont accès à une option alternative modérément récompensante et à coût égal, une partie des animaux pourrait être capable de se détourner de la drogue.

A la vue de ces résultats, nous avons proposé dans notre équipe en 2007 d'étendre le protocole de choix chez le rat en utilisant une récompense alternative plus puissante (une solution sucrée), et peut être plus à même de détourner les animaux de la drogue (Lenoir, et al. 2007). Un groupe de rats, naïfs au début de l'expérience à la fois pour la cocaïne et pour le goût sucré ont été entraînés de façon alternée à l'auto-administration de saccharine (une

solution au goût sucré très intense, mais non calorique, et donc inessentielle physiologiquement pour la survie de l'animal) et de cocaïne. Dans les deux cas, les animaux ont un accès limité à trente récompenses par séance d'entraînement afin de s'assurer qu'ils aient une exposition identique aux deux renforçateurs avant le début des tests de choix. A la fin de l'entraînement, les animaux ont eu la possibilité de choisir de façon mutuellement exclusive (c'est-à-dire que le choix d'une récompense exclut obligatoirement la possibilité d'obtenir l'autre récompense lors du même essai) entre une solution de saccharine 0,2 % (délivrée directement dans une cupule) associée au levier gauche et une dose de cocaïne intraveineuse de 0,25 mg (dose moyenne couramment utilisée dans la littérature) associée au levier droit. Le protocole de choix utilisé peut être divisé en deux parties (voir [Figure 17](#)). Tout d'abord, une phase d'échantillonnage au sein de laquelle un seul levier est présenté alternativement, permettant à l'animal d'échantillonner deux récompenses cocaïne et deux récompenses saccharine. Ce contrôle permet de s'assurer que les animaux ont bien conscience des récompenses associées au levier. Enfin, la phase de choix est composée de huit essais où les deux leviers sont présentés simultanément. Choisir une récompense entraîne la rétraction des deux leviers et exclut ainsi la possibilité d'obtenir l'autre récompense avant le prochain essai.

Enfin, il est important de préciser que tous les essais (choix et échantillonnage) sont espacés d'un intervalle de dix minutes. Cet intervalle a été choisi pour permettre la dissipation des effets pharmacologiques de la cocaïne et ainsi empêcher qu'au moment de l'essai, l'animal se trouve sous l'emprise de la drogue et ne soit ainsi pas totalement maître de son choix.

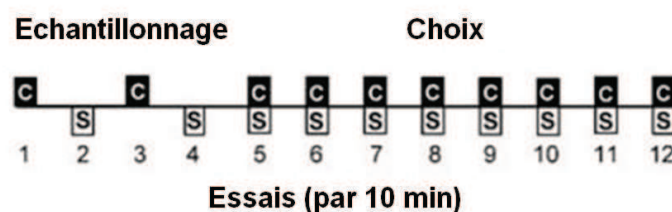


Figure 17 Protocole de choix

Il comporte deux phases : la phase d'échantillonnage avec 2 essais alternés pour les deux récompenses (Cocaïne (C) et Saccharine (S)), et la phase de choix contenant 8 essais où les deux leviers sont présentés en même temps. D'après Lenoir et al 2007.

De façon surprenante, les résultats indiquent que la grande majorité des animaux choisissent la saccharine au détriment de la drogue. Cette préférence, présente dès les premières séances de choix, ne peut d'ailleurs être expliquée par la dose de cocaïne utilisée. En effet, même avec une dose six fois plus élevée (1,5 mg), les animaux préfèrent en grande majorité la saccharine.

Introduction

Seul un peu moins de 10 % des animaux continuent à préférer la cocaïne, malgré la possibilité d'avoir une récompense alternative puissante, et ce même chez des rats fortement exposés à la drogue et ayant montré avant le test de choix une escalade de leur consommation de cocaïne. Ces résultats pourraient ainsi indiquer que chez le rat, de façon similaire à l'homme (Anthony 2002; Anthony, et al. 1994; Degenhardt, et al. 2008), seule une minorité de la population aurait perdu le contrôle de sa consommation de cocaïne, faisant le choix de la drogue malgré une option alternative valable.

OBJECTIFS DU TRAVAIL DE THESE

Le but général de mon travail de thèse s'inscrit dans la continuité de ces travaux antérieurs et vise à répondre à 5 objectifs spécifiques :

Objectif 1 : Les travaux antérieurs ont montré clairement que les rats préfèrent l'eau sucrée à la cocaïne. Cependant, ces travaux n'ont pas permis de quantifier la différence de valeur entre ces deux récompenses (faible, modérée, forte). Notre premier objectif était donc de mesurer précisément cette différence de valeur en utilisant plusieurs approches comportementales dont le principe commun est basé sur la relation entre effort, motivation et valeur ([publication 2](#)).

Objectif 2 : Les travaux antérieurs ont montré qu'il existe une minorité d'individus qui préfère la cocaïne malgré la possibilité de s'engager dans une autre activité plus récompensante pour la majorité des rats. Notre second objectif a consisté à déterminer si la proportion de ces individus variait en fonction du degré d'exposition passée à la drogue. De plus, nous avons cherché à mesurer le caractère maladaptatif et compulsif de cette préférence pour la cocaïne en augmentant ses conséquences négatives ([publication 2](#)).

Objectif 3 : Les travaux antérieurs ont clairement montré que la majorité des individus se détournent de la cocaïne au profit de la solution sucrée. Notre troisième objectif a consisté à tester l'hypothèse alternative selon laquelle l'abstinence des animaux envers la cocaïne dans notre protocole pourrait s'expliquer par les effets ambivalents et conflictuels de la cocaïne. En effet, des indices de plus en plus nombreux indiquent qu'en plus de ses effets récompensants très bien documentés, la cocaïne pourrait être anxiogène chez le rat, en particulier chez l'animal naïf et pour des fortes doses ([publication 3](#)).

Objectif 4 : Notre objectif suivant a consisté à tester l'effet de la surexposition au goût sucré sur le choix. En effet, dans nos expériences, les animaux sont initialement naïfs pour la drogue mais aussi pour le goût sucré. Alors que chez l'être humain, nous sommes confrontés et exposés dès notre plus jeune âge et tout au long de notre vie aux sensations récompensantes du goût sucré, cette faible exposition de nos animaux pourrait expliquer pourquoi la saccharine est si récompensante (par un effet de nouveauté par exemple) et ainsi à même de les faire abandonner la drogue ([publication 4](#)).

Objectif 5 : Enfin, nous présenterons un nouveau protocole de choix discret dans lequel l'animal, pour la première fois, ne se voit plus imposer artificiellement par l'expérimentateur le moment du choix mais est maître de décider à quel moment il désire avoir accès à ce choix. Par ce protocole, nous espérons ajouter à l'animal un degré de liberté supplémentaire, et ainsi lui permettre de contrôler son degré d'intoxication (**publication 5**).

Cependant, avant de rentrer plus en détail dans ces données, je vais vous présenter à travers la **publication 1** le protocole de choix que nous avons utilisé pour la majorité de nos expériences.

RESULTATS EXPERIMENTAUX



ARTICLE 1

Une méthode d'identification par le choix des utilisateurs compulsifs de drogue chez le rat

Contexte : Depuis son développement au début des années 1960, l'auto-administration intraveineuse de drogue a été la méthode préférentielle pour modéliser l'addiction humaine chez l'animal de laboratoire. En conditions expérimentales standards, l'animal (en général un rat) est placé dans une chambre opérante au sein de laquelle il n'a accès à aucune autre activité récompensante que l'auto-administration de drogues. Dans ces conditions, la grande majorité des animaux sont capables d'apprendre à s'auto-administrer la plupart des drogues d'abus.

But de l'étude : Dans cette étude, nous décrivons une nouvelle méthode basée sur le choix, permettant l'identification des utilisateurs compulsifs de drogue.

Méthodologie : Les animaux sont d'abord entraînés lors de sessions quotidiennes alternées à s'auto-administrer de la cocaïne par voie intraveineuse ou une solution sucrée de saccharine, une récompense naturelle puissante, bien qu'inessentielle physiologiquement. Ils ont ensuite la possibilité de choisir entre ces deux récompenses pendant plusieurs jours jusqu'à stabilisation de leur préférence.

Principaux résultats : Seule une minorité des rats (moins de 15 %) persiste à consommer de la drogue malgré le choix, quel que soit la sévérité de leur exposition à la cocaïne, et malgré la possibilité de combler leur besoin physiologique.

Conclusions : Notre protocole de choix s'avère être une méthode facile à mettre en place pour diagnostiquer les utilisateurs compulsifs de drogue, et permet plusieurs applications importantes dans l'étude de l'addiction qui sont détaillées dans cet article.

A choice-based screening method for compulsive drug users in rats

Magalie Lenoir², Eric Augier¹, Caroline Vouillac¹ & Serge H. Ahmed¹

¹Université Bordeaux 2, Université Bordeaux 1, CNRS, Institut des Maladies Neurogeneratives, UMR 5293, 146 rue Léo-Saignat, 33076 Bordeaux, France

²Behavioral Neuroscience Branch, National Institute on Drug Abuse-Intramural Research Program, NIH, 333 Cassell Drive, Baltimore, MD 21224, USA

Correspondence should be addressed to S.H.A (sahmed@u-bordeaux2.fr) or M.L. (magalie.lenoir@nih.gov)

Number of words in the Abstract: 150

Total number of words in the Text: 7678

Number of figures: 4

Number of tables: 0

Abstract

We describe a protocol for screening compulsive drug users among cocaine self-administering rats – the most frequently used animal model in addiction research. Rats are first trained on several alternating days to self-administer i.v. cocaine or water sweetened with saccharin – a potent, albeit inessential, nondrug reward. Then rats are allowed to choose between the two rewards during several days until stabilization of preference. Most rats choose to stop using cocaine for the alternative pursuit. Only a minority of rats (generally 15%) persists in taking the drug, no matter how heavy was past cocaine use and even when made hungry and offered the possibility to relieve their physiological need. Persistence of cocaine use in the face of a high-stakes choice is a core defining feature of compulsion. This choice-based screening method for compulsive drug users is easy to implement, has several important applications and compares well with other methods in the field.

INTRODUCTION

Since it was first developed in the early 60s, the intravenous drug self-administration paradigm has been a method of choice for modeling human drug use in laboratory animals¹⁻⁴. In the standard experimental setting, an animal (generally a rat) is placed alone in an operant chamber where it has access to a specific operandum (generally a lever) on which it is free to respond (generally by pressing the lever with its forepaws). If the animal responds on the operandum, it receives a fixed drug dose, through an indwelling intravenous catheter, according to a defined schedule of reinforcement (generally a fixed-ratio schedule⁵). To control for behavioral specificity and direction, a second but inactive (or dummy) operandum can also be made accessible to the animal. The animal has access to no other competing rewarding or outlet activities than drug self-administration⁶. In this standard setting, most rats from a variety of non-selected laboratory strains learn to self-administer most drugs of abuse. This finding is generally rightly interpreted as evidence that the drug self-administration paradigm has good predictive validity for abuse liability⁷. However, it is one thing to predict the abuse potential of drugs in humans; it is another to understand the biology of human drug addiction and to predict the therapeutic efficacy of potential medications. Arguably, one of the major obstacles to achieving these goals is our current inability to selectively, rapidly and reliably identify and pick up among drug self-administering animals those that self-administer the drug compulsively (i.e., out of volitional control)^{6, 8, 9}. Only the latter individuals can represent a valid animal model of the human disorder of addiction which only affects a minority of individuals¹⁰⁻¹². This limitation probably explains, at least partly, why animal research on drug self-administration has had so far only modest translational impact on the etiology and treatment of drug addiction¹³⁻¹⁵.

Development of the protocol

Paradoxically, our current inability to identify compulsive drug users among drug self-administering animals largely and directly results from the lack of choice that defines the standard drug self-administration setting^{6, 8}. As mentioned above, during a typical access to

drug self-administration, animals have no choice than drug use, a rather abnormal situation that departs and contrasts with the condition of human drug users in the real world. Without the possibility of alternative choice, it is difficult, not to say intractable, to decide whether animals self-administer the drug by compulsion or merely by default of other rewarding options^{6, 8}. Obviously, in the latter case, drug self-administration, however elevated, would merely represent a normal, “expectable response” to an abnormal situation and should thus not be considered disordered and compulsive¹⁶⁻¹⁸. In contrast, if animals continue to self-administer the drug despite the opportunity of making a different choice, then one would be founded to hypothesize a state of addiction that could then be subsequently confirmed by increasing the stakes of continued drug use (see below).

Inspired by previous research on animals and humans¹⁹⁻²², we recently developed a choice-based screening (CBS) protocol for compulsive cocaine users in rats^{23, 24}. Cocaine is one of the most addictive illegal drugs currently known²⁵ and rats are by far the most frequently used animal model in experimental research on cocaine addiction⁶. Basically, rats are first trained on several alternate days to lever-press for cocaine or a nondrug alternative (i.e., water sweetened with saccharin). Though one can envision a variety of possible nondrug rewards, we opted for water sweetened with saccharin because it is an innate reward in rats that is easy to control, manipulate and quantify. After alternating days of cocaine or saccharin self-administration, rats are then faced to the following choice during several days: pressing the cocaine-paired lever to receive cocaine or the saccharin-paired lever to have access to sweet water (**Fig. 1**). Each daily choice session is made up of a minimum of 12 discrete trials, spaced by a 10-min inter-trial interval (*ITI*) and divided into two successive phases: sampling and choice (**Fig. 1**). During sampling (4 trials), each lever is presented alone twice, alternatively with the other lever, and animals are free to respond on it to obtain the available reward (**Supplementary Videos 1 and 2**). The sampling period allows animals to separately learn the respective value of each option before making their choice. It also allows experimental checking of whether (and to which extent) each option is rewarding when

presented alone (see also below). During choice (8 or more trials), the two levers are presented simultaneously and rats are free to choose among them to obtain the corresponding reward (**Supplementary Video 3**). Each choice trial is mutually-exclusive or either/or, meaning that choosing one reward necessarily excludes the other option until the next trial, compelling animals to express their preference at the cost of renouncing to the alternative option. By increasing the opportunity cost associated with the preferred choice, one can assess its value and importance for the individual.

As it turns out, when cocaine self-administering rats face a choice between cocaine and sweet water, most of them (i.e., > 85%) readily abstain from drug use in favor of the other option, despite robust drug sensitization, maximal drug dose and even following extended and escalated cocaine self-administration^{23, 24}. By systematically varying the cost and magnitude of the alternative option, we found that cocaine is relatively low on the value ladder of rats making the abstinence choice (i.e., choose the nondrug option over continued drug use). No matter how severe was past cocaine consumption, only a minority of rats (i.e., fewer than 15% at the highest degree of severity) continues to take cocaine despite the opportunity to engage in an alternative behavior. Cocaine-preferring rats have no aversion or decreased sensitivity to sweetness as they drink sweet water as much as other rats during sampling²⁴. Importantly, cocaine-preferring rats continue to take cocaine even when hungry and offered a nondrug alternative that could relieve their need of calories. The persistence of drug use in the face of a high-stakes choice is a core defining feature of compulsive cocaine use in humans²⁴. This pattern of individual variation confirms previous research in monkeys²⁰ and generally fits the known epidemiology of cocaine addiction which only affects a minority of cocaine users¹⁰. In addition, the persistence of cocaine preference seen in the minority of drug-preferring rats is also consistent with human laboratory research on cocaine choice in dependent users^{26, 27}. Thus, the CBS protocol seems to have good face, constructive and predictive validities. Like in humans, only a minority of vulnerable rats would take cocaine by

compulsion. The remaining majority of cocaine-self-administering rats would be resilient to addiction and would take the drug merely out of a lack of choice⁶.

Applications of the method

The main goal of the CBS protocol is to discriminate among cocaine self-administering rats those that take cocaine compulsively from those that take the drug for other causes (e.g., by default of other options). Once this goal is achieved, one can envision a wide array of possible applications for the CBS protocol, only few of them are enumerated below. First, by characterizing animals before testing them in the CBS protocol, one should be able to discover behavioral and biological predispositions that predict both vulnerability and resilience to compulsive cocaine use. Second, by comparing and contrasting compulsive cocaine users and other drug self-administering animals, one should be able to define the neurobiological correlates of compulsive cocaine use at different levels of neural organization, from the circuit level down to the intracellular molecular level in specific neuronal populations. By combining this comparative neurobiological approach with the predictive approach outlined above, one should also be able to determine whether (and to which extent) the neurobiological correlates of compulsive cocaine use preexist to drug use and/or result from the interaction of a vulnerable substrate with cocaine use. After identification of the neurobiological correlates of compulsive cocaine use, one can then test causality by checking whether their reversal by specific neurobiological interventions can shift drug preference in favor of the nondrug alternative. Third, the CBS protocol for compulsive drug users in rats could also play a critical role in future pharmacological treatment development. Specifically, by screening medications for their unique ability to shift cocaine preference in compulsive drug users, one should increase the chance of stumbling across effective pharmacological treatments for cocaine addiction which are lacking at present. Fourth, the CBS protocol could also be applied to objectively assess and rank the addictive potential of different drugs of abuse. For instance, by measuring the frequency of compulsive drug users as a function of the type of drugs (e.g., cocaine *versus* heroin), one

should be able ultimately to generate an objective hierarchy of addictive drugs (i.e., the higher the frequency, the more addictive would be the corresponding drug). One could also adapt the CBS protocol to directly study choice between different drugs of abuse²⁸. Fifth, the CBS protocol could also be used to test the causal contribution of different possible factors (genetic, developmental and environmental) to the etiology of compulsive cocaine use. For instance, if one factor increases the proportion of cocaine-preferring animals, then it is likely that it is causally involved in the etiology of compulsive cocaine use. One can also envision using this protocol to generate through selective breeding a strain of rats (or mice) that take cocaine compulsively. Finally and more generally, the CBS protocol is sufficiently versatile at the parametric level (see below) for its broad application to a variety of other scientific questions or domains. For instance, the choice procedure can be profitably applied to study how the brain more generally represents, compares and chooses between different actions whose consequences are incommensurable (e.g., taste sweetness *versus* cocaine-induced high)²⁹⁻³¹.

Comparison with other relevant protocols: advantages and limitations

Strictly speaking, there are currently no other comparable protocols for screening compulsive drug users in cocaine self-administering rats. Perhaps the only possible exception is the multi-criteria method of identification of cocaine addiction-like behavior recently developed in rats⁹. This approach imitates the multi-criteria diagnosis of cocaine dependence in humans as defined by the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th revision. Briefly, animals that present extreme scores (i.e., above the 66th percentile) on 3 (but not 2 or 1) cocaine self-administration-related behaviors are considered compulsive drug users. Though interesting, this frequency-dependent identification of addiction-like behavior is limited by its circularity. It limits *a priori* and arbitrarily the maximum frequency of rats with an addiction-like behavior to 33% or lower. As a result, the application of this method should always return the same pre-defined narrow range of frequencies of compulsive drug users, precluding most of the applications outlined above for the CBS protocol. This method is also cumbersome and

time-consuming as it necessitates measuring several behavioral criteria, some of them over a long period of time (i.e., a minimum of 3 months). In addition, the validity of each behavioral criterion has not been established separately and can be challenged on empirical grounds. For instance, regarding the resistance-to-punishment criterion (i.e., continued drug use despite footshock punishment), little empirical research has determined whether this resistance reflects compulsive drug use or merely reduced sensitivity to footshock-induced pain. All these limitations do not apply to the CBS protocol. First, the CBS protocol does not define in advance the frequency of cocaine-preferring animals. In theory, this frequency could range between 0 and 100%. Second, continued cocaine use to the detriment of other rewarding behaviors and despite great opportunity costs unambiguously recapitulates one of the core behavioral features of human drug addiction⁶. Third, the choice procedure is relatively easy to apply and is not time-consuming. After cocaine self-administration training, rats develop stable preferences for either cocaine or saccharin in less than 10 choice sessions. These latter methodological features make the CBS protocol particularly well-suited for future high-throughput research on the neurobiology of cocaine addiction.

Importantly, as designed, the CBS protocol allows measurement of several dependent variables that are critical for better interpreting individual preferences during choice. First, one can measure the percentage of completed trials during both sampling and choice. This measure provides general information on sampling (e.g., rewarding effectiveness of all options) and choice performance (e.g., general interest or ability in choice-making). Second, one can also measure response latencies during both sampling and choice. Response latencies during sampling can provide independent confirmation for individual preferences (e.g., sampling latencies for the preferred option should be shorter than those for the non-preferred one). Response latencies during choice can provide useful information about the degree of choice confidence or difficulty (e.g., a long latency could indicate hesitation or conflict). Third, one can measure the effects of cocaine on forward locomotion (e.g., during the 1st cocaine sampling) and thus assess drug sensitivity and/or efficacy independently of

preference. Fourth, one can also measure the time spent by animals near each lever before the moment of choice (e.g., 30-60 seconds before trial onset). This measure could reflect reward anticipation and provide additional independent confirmation of individual preferences. Fifth, one can measure drinking behavior (i.e., number of tongue licks) during both sampling and choice. This behavioral measure allows checking of whether response on the saccharin-paired lever is effectively followed by consumption of the corresponding reward. Finally, the choice procedure also allows manipulation of several independent choice variables or parameters for assessing the robustness and generality of individual preferences. These parameters include: type of choice contingencies (e.g., discrete or concurrent choice); type of drugs or nondrug alternatives; reward magnitude (e.g., concentration of sweetened water); reward effort (e.g., response requirement); reward delay; reward probability; opportunity cost (e.g., sucrose option in hungry rats) and so on.

As with any experimental approach, the CBS protocol for compulsive cocaine users has several potential limitations, some of them are described below. First, it was only developed and validated in a specific strain of young adult male rats. It remains to be tested using other strains, ages, sexes and species³². Second, only one type of nondrug reward has been systematically tested in the CBS protocol (i.e., palatable drinks containing either saccharin, sucrose or polycose), limiting the generality of the pattern of findings reported above and thus their extrapolation to other types of nondrug rewards, in particular to social rewards (sexual or not) which are of critical importance in humans. One important obstacle, however, to the systematic use of social rewards in the choice protocol is that their availability and receptivity are more delicate and difficult to control in an operant setting. Third, in the CBS protocol, animals cannot control the rate of self-administration (which is limited by the experimenter-defined inter-trial interval) and thus the level of drug effects achieved. The inability to achieve the desired level of effects may contribute to explain why most rats prefer to stop drug use in favor of the nondrug alternative. However, we recently developed a variant of the CBS protocol which allowed rats to control the moment and rate of choice trials

(Eric Augier, Caroline Vouillac and Serge Ahmed, unpublished results). This increased degree of freedom did not change, however, the pattern of individual preferences seen with the CBS protocol. Finally and most importantly, since the frequency of compulsive cocaine users is expected to be low, systematic research on these individuals should be inherently difficult, risky and expensive. For instance, as shown below, if the initial size of the sample of cocaine-self-administering animals is too low ($n < 18$), there is a risk of obtaining no cocaine-preferring rats. Fortunately, this limitation can be surmounted by starting with a relatively large sample of animals ($n = 24-36$) which also requires a relatively large set of dedicated operant chambers ($n = 12-18$).

MATERIALS

REAGENTS

- Laboratory rats (e.g., Charles River) of any conventional unselected strain (e.g., Wistar-Han)

! CAUTION Housing, use and experimental research on animals should strictly adhere to national and institutional regulations

- Water sweetened with sodium saccharin (e.g., Sigma Aldrich) or any other palatable fluids
- Cocaine hydrochloride (e.g., Coopération Pharmaceutique Française) or any other drugs of abuse that are deliverable intravenously

! CAUTION Cocaine is a scheduled substance and must be stored and used according to national and institutional regulations

- Materials for catheter making (solvent; silicone glue; silicone aerosol lubricant; acrylic resin dental cement; 22-G guide cannula (Plastics One, cat. no. C313G-5UP/SPC); Silastic tubing of different inner and outer diameters (i.e., 0.30 mm i.d. x 0.64 mm o.d.; 0.64 mm i.d. x 1.19 mm o.d.; 1.02mm i.d. x 2.16mm o.d.) (e.g., Dow Corning Corporation); nylon mesh (e.g., Small Parts)
- Materials for making catheter flushers (1-ml syringes; Tygon tubing; 20-G needles)
- Surgical reagents for jugular catheter implantation (anesthetic; disinfectant for cleaning surgical instruments; antiseptic for cleaning surgical sites; local anesthetic; eye ointment; antibiotic cream; post-operative analgesic)
- Bags of sterile physiological saline for drug dissolution (NaCl 0.9% USP, PH 7.4)
- Heparin for minimizing catheter thrombosis (e.g., 280 IU/ml, Sanofi-Synthelabo)
- Antibiotic for prophylactic treatment (e.g., ampicilline, 100 mg/ml/kg, Panpharma)
- Short-acting non-barbiturate anesthetic for checking catheter patency (e.g., Etomidate, 1 mg/ml/kg, Braun Medical)
- Surface disinfectant for cleaning operant chambers (e.g., Phagozyme, Phagogène)
- Syringe filters (0.22 µm)

EQUIPMENT

- Catheter mold (e.g., Imetronic)
- Pliers for bending catheter cannula
- Surgical tools (clippers (e.g., Moser); instruments (scissors; hemostats; forceps; scalpel); gloves (e.g., Kimberly Clark); masks (e.g., Kimberly Clark); scalpel blades (LCH medical products); guide-cannula for catheter insertion (modified 18-G needle); needles (23-G and 25-G; silk sutures and surgical needles; syringes; compresses; cotton buds)
- Catheter cannula accessories (Tygon plug; protective aluminum bolt)
- Operant chambers (e.g., Imetronic, see EQUIPMENT SETUP)
- Computer for piloting the operant chambers; electronic interface and computer software for experiment programming (e.g., Imetronic)
- Uninterruptible power supply (e.g., APC)
- Statistical analysis software (e.g., Statistica, StatSoft Inc)

EQUIPMENT SETUP

Operant chambers

Operant chambers have been described in detail elsewhere^{23, 24} and are illustrated with their different accessories in **Figure 2**. Briefly, to run a choice experiment, each chamber should be equipped with the following set of controlling and measuring devices: two automatically-retractable levers; one light diode above each lever to signal reward delivery; one fluid dispenser (e.g., a cylindrical drinking spout) coupled to a lickometer circuit; two automatically-controlled syringe pumps (one for i.v. drug delivery, the other for alimentering the fluid dispenser); two infusion lines, one for i.v. drug self-administration (i.e., Tygon tubing), the other for oral saccharin self-administration (i.e., Silastic tubing); one single-channel liquid swivel (e.g., Lomir Biomedical Inc); one swivel tether connector (Lomir Biomedical Inc); one counterbalancing device (e.g., a weight-pulley device) to allow free movements during

behavioral testing; two pairs of infrared beams above the grid floor to measure forward locomotion.

▲ **CRITICAL STEP** Adjust the relative position of the operant levers to avoid or reduce initial lever preference. In our experiments, the two levers are facing each other along the midline length axis of the operant chamber as shown in **Figure 2**, at equal distance from entry/exit.

PROCEDURE

Catheter making

1| Make catheters for intravenous drug self-administration. A catheter is made of Silastic tubing, with one free extremity to be inserted in the vein and another connected to a stainless-steel injection cannula to be placed on the back of the animal (**Fig. 3a**). Some intravenous catheters are commercially available but home-made catheters are less expensive and more adapted for long-term intravenous drug self-administration experiments. Catheter making for rats and mice (with its associated troubleshootings) has already been described in detail elsewhere². To prolong catheter patency, we also added a system of two silicone bubbles to better anchor the catheter into the jugular vein (i.e., a small pear-shaped bubble to be inserted into the jugular and a big apple-shaped one that limits catheter insertion into the vein) (**Fig. 3b**). This step takes 4-5 days.

2| Make flushers for catheter flushing. This procedure for rats and mice has been described elsewhere in detail² (**Fig. 3c**). Briefly, cut and get rid of the sharp tip of a 20-G needle. Smooth the extremity of the remaining needle tube with sandpaper and insert it into the lumen of a 10-cm piece of Tygon tubing. Connect the needle hub to a 1-ml syringe.

Catheter insertion into the jugular vein

3| Perform aseptic surgery to insert the catheter into the jugular vein of anesthetized rats. This surgery has been described in detail elsewhere². This step takes 3-5 days depending on the total number and daily rate of individual surgeries.

▲ **CRITICAL STEP** Before and during surgery ensure that the rat is deeply anesthetized by regularly checking the absence of toe- or tail-pinch reflex.

▲ **CRITICAL STEP** Ensure that aseptic conditions (masks, sterile gloves, sterile instruments, aseptic techniques) should be maintained throughout the duration of the surgery. Surgical instruments must be cleaned and disinfected before each individual surgery.

Postsurgical recovery period

4| Inspect rats for good healing and recovery. Flush catheters daily with 0.15-0.2 ml of a sterile antibiotic solution containing heparinized saline for at least 5 days after surgery. For catheter flushing, connect the Tygon tubing of the flusher-syringe to the injection cannula of the catheter.

? TROUBLESHOOTING

In rats housed in groups (which is the case in our experiments), few rats sometimes happen to gnaw the cement basis of the injection cannula of their cagemates (**Fig. 3a**). This phenomenon is rare (on average 2-3 cases per 36 rats) and generally occurs within the first week post-surgery. When this happens, the rats with the damaged cement basis must be briefly re-anesthetized with isoflurane and their catheters repaired by adding cement. In addition, to prevent recidivism, a protective stainless-steel ring is worn on the cement basis.

Habituation to the experimental chamber and procedure

5| Transport each subject in its home cage from the colony room to the testing room. There, remove each rat individually from its home cage and flush the catheter with the heparinized antibiotic solution as described in step 4. Then, connect the catheter cannula to the drug infusion line of the operant chamber, place and confine the rat in the chamber during 2-3 h of habituation. During habituation, the drug infusion line is filled with ethanol (70%) but it is not connected to the automatic injection system. All levers are retracted.

6| Immediately following the end of the habituation period, remove the rat from the chamber, disconnect the catheter cannula from the infusion line and flush the catheter with 0.3-0.4 ml

of heparinized saline as described in step 4. While flushing, try to systematically suck up some blood into the catheter to help maintaining catheter patency.

7| Repeat steps 5-6 the next day.

▲ **CRITICAL STEP** All behavioral testing should be conducted during the active period of rats (i.e., the dark phase of the light-dark cycle). The testing room should be dimly illuminated (ideally with infrared light to allow for experimental manipulation) and the house light of the operant chambers should be turned off.

Fixed-ratio schedule of reinforcement

Before choice testing, rats should be trained under a fixed-ratio (FR) schedule of saccharin and cocaine self-administration on alternate daily sessions, six days a week, during 14-24 sessions (7-12 daily sessions per type of reward). If possible, we recommend 24 sessions to ensure stability of operant self-administration behavior and sufficient cocaine exposure. Note, however, that above a certain level of drug exposure, there is little variation in the frequency of cocaine-preferring rats²⁴. Initial operant training under a FR schedule of reinforcement (with its associated troubleshootings) has been described elsewhere^{5, 33}. Below we will only describe what is specific to our pre-choice training procedure.

8| Depending on the training day, fill the syringe with the cocaine solution or with the saccharin solution. Then install the syringe on the corresponding pump and connect it to the corresponding infusion line (i.e., the cocaine or saccharin infusion line). Ideally, saccharin solutions should be renewed before each session and kept at room temperature.

▲ **CRITICAL STEP** To sterilize the drug solution and reduce any contamination, filter it with a sterilizing syringe-filter (0.22 µm) before storing it a sterile bag. Store the drug solution according to its specific physicochemical properties.

▲ **CRITICAL STEP** Make sure that there is no air bubble or leak in the infusion lines. Check whether lever pressing activates the correct pump and delivers the right solution and volume into the correct infusion line. Dry the fluid dispenser with paper towel and make sure that it is empty before session onset.

▲ **CRITICAL STEP** Check the devices of each operant chamber (e.g., retractable levers; fluid dispenser; photocells) daily for good function (preferably before the start of each training session). Clean the grid floor of each chamber with a surface disinfectant before each training session.

9| Perform as described in step 5 above. In addition, weigh rats every 2-3 days before training sessions to have an objective index of general health

10| Start the programming software that controls the FR schedule of cocaine or saccharin reinforcement (depending on the daily training session) and train rats under this schedule. On saccharin sessions, the lever associated with saccharin is extended to mark the onset of the session and to signal saccharin availability; the other lever remains retracted. Lever pressing on the extended lever is rewarded by a 20-s access to water sweetened with 0.2% of sodium saccharin delivered in the adjacent drinking cup and initiates a concomitant 20-s time-out period signaled by the illumination of the cue-light above the lever. During the time-out period, responding has no scheduled consequences. During each 20-s access to sweet water, the fluid dispenser is filled automatically immediately and during 3s with sweet water. During the next 17 s, additional fluid can be obtained on demand by voluntary licking (approximately 0.02 ml per 10 licks). During each 20-s access, rats could drink a maximum volume of 0.32 ml of sweet water which is much too small to induce satiety in rats. On cocaine sessions, the lever associated with cocaine is extended to mark the onset of the session and to signal cocaine availability; the lever associated with saccharin remains retracted. Lever pressing on the extended lever is rewarded by one intravenous dose of 0.25 mg cocaine in a volume of 0.15 ml delivered over 4 s and initiated a concomitant 20-s time-out period signaled by the illumination of the cue-light above the lever. During the time-out period, responding has no scheduled consequences. Sessions end after rats have earned a maximum of 30 saccharin or cocaine rewards, or 3 h has elapsed. During training, the fixed-ratio requirement is progressively increased from 1 to 2 to minimize accidental reinforcement.

11| Immediately following the end of each training session, do as described in step 6

▲ **CRITICAL STEP** To speed up training, it is preferable to train rats to lever press on the saccharin lever during the first 2 sessions before starting alternate operant training between saccharin and cocaine self-administration.

? TROUBLESHOOTING

Few rats may fail to initiate cocaine self-administration within the first few days of training despite being healthy and having patent catheters (less than 10% on average). We recommend priming them with 2 free doses of cocaine at the beginning of the session (20 s apart) during 3-5 sessions. If they still fail to initiate cocaine self-administration, they should be excluded from the experiment. In addition, few rats may become sick during the experiment (i.e., hypothermia; reduced locomotion; reduced sensitivity to environmental stimulation; loss of weight) despite prophylactic antibiotic treatment. We recommend isolating them and stopping testing them during few days. During this period, we also recommend doubling the dose of the antibiotic. If they remain sick, they should be euthanized humanely according to prevailing institutional rules.

Training under the discrete-trials choice procedure

Rats that have learned to self-administer both cocaine and saccharin in a stable and reliable manner are then trained under the CBS protocol described in the Introduction.

12| Fill one syringe with the cocaine solution and the other with the saccharin solution. Then install each syringe on the corresponding pump and connect it to the corresponding infusion line. Ideally, saccharin solutions should be renewed daily and kept at room temperature.

13| Perform as described in step 5 above. In addition, weigh rats every 2-3 days before training sessions to have an objective index of general health

14| Start the programming software that controls the choice protocol (see Introduction and **Fig. 1**) and train rats under this protocol during at least 5 daily sessions until stabilization of individual preferences (i.e., between-session variation < 15% and no increasing or decreasing trend over at least 3 consecutive sessions). A typical training session consists of 12 consecutive trials, spaced by a fixed ITI, and is divided into two successive phases:

sampling (4 trials) and choice (8 trials) as described in the Introduction (see Protocol development and **Fig. 1**). To obtain the available (sampling) or chosen (choice) reward, the rat must press the corresponding lever according to a FR2 schedule. If the rat responds on the cocaine-associated lever, it immediately begins to receive an intravenous infusion of cocaine (0.25 mg dissolved in 0.15 ml and delivered over 4 s). If the rat responds on the saccharin-associated lever, it has access to water sweetened with saccharin during 20 s as described in step 10 above. In every case, reward delivery is signaled by turning on the cue light above the selected lever during 20-40 s and by automatic retraction of the available lever(s).

▲ **CRITICAL STEP** The order of reward sampling should not matter much but to avoid possible drug-induced conditioned taste aversion, it is preferable to begin by drug sampling (e.g., cocaine > saccharin > cocaine > saccharin).

▲ **CRITICAL STEP** To minimize drug direct effects on choice-making processes, adjust the ITI according to the tested dose. In our experiments, during training, the ITI is set at 10 min which corresponds to the time it takes for the locomotor-activating effects of the training dose of cocaine (i.e., 0.25 mg) to dissipate. For other doses, we recommend that you apply the following formula: $ITI = III + 5 \text{ min}$ (where III corresponds to the spontaneous inter-injection interval during FR training)

▲ **CRITICAL STEP** To avoid rapid satiation, the maximum available volume of sweet water per access should be made as small as possible. In our experiments, we limit this volume to 0.32 ml which corresponds approximately to less than 3% of the volume of sweet water that a typical rat will drink continuously before satiation (i.e., 15 ml).

▲ **CRITICAL STEP** To avoid accidental choice set the response requirement to at least 2 consecutive responses on the same lever and reset this requirement each time a response is made on the other lever before its completion

▲ **CRITICAL STEP** To reduce session length, limit the latency of choice but not excessively to allow sufficient time for decision-making. In our experiments, rats must respond within 5 min

after trial onset. If not, the trial ends without reward delivery. The end of unrewarded trials is signaled by retraction of the available lever(s).

▲ **CRITICAL STEP** To avoid context-dependent perturbation of performance, train and test each animal in the same operant box and at the same time of day (i.e., ± 30 min) throughout the duration of the experiment

15| Immediately following the end of the experimental session, do as described in step 6

? TROUBLESHOOTING

When there is suspicion of loss of catheter patency (e.g., leaks on the back of the animal; resistance during catheter flushing; no evidence for drug sampling-induced change in locomotion), check patency by administering a short-acting anesthetic (e.g., Etomidate) through the catheter. Rapid hypnosis and loss of muscular tonus (i.e., within 30 s) indicate that the catheter is patent. If the catheter is no longer patent, we recommend euthanizing the corresponding rat.

Data analysis

16| As indicated in the Introduction, the main dependent variables in the CBS protocol include: percentage of completed trials during both sampling and choice; response latencies during both sampling and choice; percentage of drug choices; number of crossovers. For convenience, preference scores could be normalized to ± 1 using the following rule: $\text{score} = (50\% - \% \text{ of cocaine choices}) / 50\%$. As a result, scores below 0 indicate a preference for the drug while scores above 0 indicate a preference for the alternative to cocaine. Rats should be excluded from analysis because of the following possible reasons: loss of catheter patency; failure to complete more than 50% of choice trials; failure to sample the two rewards; sickness. To run statistical analyses, use professional software (e.g., Statistica, Statsoft, Inc).

● TIMING

Step 1, Catheter making: 3-5 h per day, 4-5 days

Step 2, Making of catheter flushers: 15 min per day, 1 day

Step 3, Catheter insertion into the jugular vein: 30-45 min per individual surgery, 3-5 days

Step 4, Post-surgical recovery: at least 7 days

Steps 5-7, Habituation to the operant chambers: 2-3h per daily session, at least 2 days

Steps 8-11, Initial operant training: 3h per daily session, at least 14 days (6 days a week)

Steps 12-15, Training under the discrete-trials choice procedure: 3h per session, at least 5 days (6 days a week)

ANTICIPATED RESULTS

During initial operant training, most rats should progressively learn to respond maximally for cocaine and saccharin on alternate days (i.e., 30 rewards per daily session). Based on research on 103 rats, we estimated that 80.5% should respond maximally for cocaine (mean number: 28.5 ± 0.5 ; median: 30) and 97.1% for saccharin following 14-28 training sessions (mean number: 29.7 ± 0.2 ; median: 30). During choice testing, pre-trained rats should rapidly learn to complete about 100% of available choice trials (i.e., $98 \pm 0.8\%$, **Fig. 4a**) within about 10s per trial (11.2 ± 2.4 s) and develop as a group a strong and stable preference for saccharin within 5-8 daily sessions (i.e., mean % cocaine choice: $20.9 \pm 2.4\%$, **Fig. 4b**)^{23, 24}. An individual analysis should reveal that 85.4% of rats should present a stable preference for sweet water (i.e., % saccharin choice > 50%) (**see Supplementary Video 3**) while 13.6% should prefer cocaine (i.e., % cocaine choice > 50%)²⁴ (**Fig. 4c**). Only about 1% of animals were indifferent (not indicated in **Fig. 4c**). Importantly, the frequency of cocaine-preferring rats is expected to vary between separate cohorts of rats. For instance, we tested 6 independent cohorts ($n = 12-24$) of operant-trained rats. The frequency of cocaine preferring-rats ranged between 0 (1 occurrence at $n = 12$) and 27.7%. Thus, in a given experiment, there is some risk of obtaining no cocaine preferring-rats. However, this risk should be minimized by increasing as much as possible the initial size of the cohort. After stabilization of preference, sampling behavior should be consistent with individual preferences. In

general, nondrug-preferring rats should be much slower to respond for cocaine (the non-preferred reward) during sampling than for saccharin (73.4 ± 10.2 *versus* 7.1 ± 1.8 s)²³. This difference should not be present or should be reversed in cocaine-preferring rats (22.6 ± 10.0 *versus* 32.4 ± 18.4 s). It is well-established that response latencies generally reflect the relative expected value of different rewards: the higher the latency, the lower the expected value. Importantly, cocaine-preferring rats should not differ significantly from nondrug-preferring rats during operant training (mean number of cocaine rewards: 29.9 ± 0.1 *versus* 28.2 ± 0.5 ; mean number of saccharin rewards: 29.0 ± 1.0 *versus* 29.8 ± 0.1). Finally, according to previous research, the main outcome of the choice protocol (cocaine abstinence in most rats; cocaine preference in few rats) should be robust to changes in a number of task parameters (at least within a defined range of values), including the delay of reward, the response requirement, the unit dose of cocaine, the inter-trial interval and the number of trials per session^{23, 24}. It should also be robust to changes in the physiological state of rats (food sated *versus* restricted), in their sensitization state, and in the degree of pre-exposure to cocaine or saccharin self-administration^{23, 24}. This parametric robustness strongly suggests that the frequency of cocaine preferring-rats is mostly determined by individual rather situational factors⁶. However, much research clearly remains to be done to test robustness of individual drug preferences across a variety of other factors (e.g., drug class; strain of rats; species).

AUTHOR CONTRIBUTIONS STATEMENTS

S.H.A. conceived and designed the experiments with critical feedback from M.L. and E.A.; M.L., E.A. and C.V. conducted the experiments. S.H.A., M.L. and E.A. interpreted and analyzed the data; M.L. and S.H.A. wrote the paper; E.A. and C.V. provided critical comments on and materials for the paper.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by grants from the Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), the Université Victor-Segalen Bordeaux 2, the Conseil Régional d'Aquitaine, the National Research Agency (ANR), the Fondation pour la Recherche Médicale (FRM) and the Mission Interministérielle de Lutte contre la Drogue et la Toxicomanie (MILDT). The authors thank Dr. Ken Wakabayashi, Dr. Karyn Guillem, Carlos Mejias-Aponte and Jeremy Tang for helpful comments on an earlier version of this manuscript.

COMPETING INTERESTS STATEMENTS

The authors declare no competing financial interests.

REFERENCES

1. Thompson, T. & Schuster, C. R. Morphine Self-Administration, Food-Reinforced, and Avoidance Behaviors in Rhesus Monkeys. *Psychopharmacologia* **5**, 87-94 (1964).
2. Thomsen, M. & Caine, S. B. Chronic intravenous drug self-administration in rats and mice. *Curr Protoc Neurosci* **Chapter 9**, Unit 9 20 (2005).
3. Weeks, J. R. Experimental morphine addiction: method for automatic intravenous injections in unrestrained rats. *Science* **138**, 143-4 (1962).
4. Pickens, R. & Thompson, T. Cocaine-reinforced behavior in rats: effects of reinforcement magnitude and fixed-ratio size. *J Pharmacol Exp Ther* **161**, 122-9 (1968).
5. Solinas, M., Panlilio, L. V., Justinova, Z., Yasar, S. & Goldberg, S. R. Using drug-discrimination techniques to study the abuse-related effects of psychoactive drugs in rats. *Nat Protoc* **1**, 1194-206 (2006).
6. Ahmed, S. H. Validation crisis in animal models of drug addiction: beyond non-disordered drug use toward drug addiction. *Neurosci Biobehav Rev* **35**, 172-84 (2010).
7. O'Connor, E. C., Chapman, K., Butler, P. & Mead, A. N. The predictive validity of the rat self-administration model for abuse liability. *Neurosci Biobehav Rev* **35**, 912-38 (2010).
8. Hyman, S. E. & Malenka, R. C. Addiction and the brain: the neurobiology of compulsion and its persistence. *Nat Rev Neurosci* **2**, 695-703 (2001).
9. Deroche-Gamonet, V., Belin, D. & Piazza, P. V. Evidence for addiction-like behavior in the rat. *Science* **305**, 1014-7 (2004).
10. Anthony, J. C. in *Neuropsychopharmacology: the fifth generation of progress* (eds. Davis, K. L., Charney, D., Coyle, J. T. & Nemeroff, C.) 1557-1573 (Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2002).
11. Anthony, J. C., Warner, L. A. & Kessler, R. C. Comparative epidemiology of dependence on tobacco, alcohol, controlled substances, and inhalants: Basic findings from the National Comorbidity Survey. *Experimental and Clinical Psychopharmacology* **2**, 224-268 (1994).
12. Degenhardt, L., Bohnert, K. M. & Anthony, J. C. Assessment of cocaine and other drug dependence in the general population: "gated" versus "ungated" approaches. *Drug Alcohol Depend* **93**, 227-32 (2008).

13. Koob, G. F., Kenneth Lloyd, G. & Mason, B. J. Development of pharmacotherapies for drug addiction: a Rosetta stone approach. *Nat Rev Drug Discov* **8**, 500-15 (2009).
14. Hyman, S. E. Can neuroscience be integrated into the DSM-V? *Nat Rev Neurosci* **8**, 725-32 (2007).
15. Heilig, M. et al. Translating the neuroscience of alcoholism into clinical treatments: from blocking the buzz to curing the blues. *Neurosci Biobehav Rev* **35**, 334-44.
16. Martin, C. S., Chung, T. & Langenbucher, J. W. How should we revise diagnostic criteria for substance use disorders in the DSM-V? *J Abnorm Psychol* **117**, 561-75 (2008).
17. Wakefield, J. C. The concept of mental disorder: diagnostic implications of the harmful dysfunction analysis. *World Psychiatry* **6**, 149-56 (2007).
18. Stein, D. J. et al. What is a mental/psychiatric disorder? From DSM-IV to DSM-V. *Psychol Med* **40**, 1759-65.
19. Aigner, T. G. & Balster, R. L. Choice behavior in rhesus monkeys: cocaine versus food. *Science* **201**, 534-5 (1978).
20. Nader, M. A. & Woolverton, W. L. Effects of increasing the magnitude of an alternative reinforcer on drug choice in a discrete-trials choice procedure. *Psychopharmacology (Berl)* **105**, 169-74 (1991).
21. Spragg, S. D. S. Morphine addiction in chimpanzees. *Comparative Psychology Monographs* **15**, 1-132 (1940).
22. Haney, M. Self-administration of cocaine, cannabis and heroin in the human laboratory: benefits and pitfalls. *Addict Biol* **14**, 9-21 (2009).
23. Lenoir, M., Serre, F., Cantin, L. & Ahmed, S. H. Intense sweetness surpasses cocaine reward. *PLoS One* **2**, e698 (2007).
24. Cantin, L. et al. Cocaine is low on the value ladder of rats: possible evidence for resilience to addiction. *PLoS One* **5**, e11592 (2010).
25. Nutt, D., King, L. A., Saulsbury, W. & Blakemore, C. Development of a rational scale to assess the harm of drugs of potential misuse. *Lancet* **369**, 1047-53 (2007).
26. Vosburg, S. K., Haney, M., Rubin, E. & Foltin, R. W. Using a novel alternative to drug choice in a human laboratory model of a cocaine binge: a game of chance. *Drug Alcohol Depend* **110**, 144-50 (2010).
27. Walsh, S. L., Donny, E. C., Nuzzo, P. A., Umbricht, A. & Bigelow, G. E. Cocaine abuse versus cocaine dependence: cocaine self-administration and pharmacodynamic response in the human laboratory. *Drug Alcohol Depend* **106**, 28-37 (2010).
28. Caprioli, D. et al. Ambience and drug choice: cocaine- and heroin-taking as a function of environmental context in humans and rats. *Biol Psychiatry* **65**, 893-9 (2009).
29. Rangel, A., Camerer, C. & Montague, P. R. A framework for studying the neurobiology of value-based decision making. *Nat Rev Neurosci* **9**, 545-56 (2008).
30. Kable, J. W. & Glimcher, P. W. The neurobiology of decision: consensus and controversy. *Neuron* **63**, 733-45 (2009).
31. Redish, A. D., Jensen, S. & Johnson, A. A unified framework for addiction: vulnerabilities in the decision process. *Behav Brain Sci* **31**, 415-37; discussion 437-87 (2008).
32. Kerstetter, K. A., Wade, M. A., Gonzalez, S. G., Kneib, J. B. & Kippin, T. E. in 39th annual meeting of the Society for Neuroscience (Chicago, IL, USA, 2009).
33. Bari, A., Dalley, J. W. & Robbins, T. W. The application of the 5-choice serial reaction time task for the assessment of visual attentional processes and impulse control in rats. *Nat Protoc* **3**, 759-67 (2008).

FIGURE LEGENDS

Figure 1 | Diagram of the discrete-trials choice protocol. **(a)** Each testing session consists of two successive periods: sampling (4 alternating cocaine or saccharin trials) and choice (8 or more trials). All trials are separated by a fixed inter-trial interval (ITI, generally 600s). **(b)** Sampling trials (left panel) begin by the insertion of one single lever (alternatively cocaine- or saccharin-paired lever). If the animal completes the FR requirement before the time imparted (generally 300s), the following events occurs simultaneously: the lever is automatically retracted, the cue light above it is turned on and the corresponding reward is delivered. A new ITI is initiated when the reward-paired cue is turned off (generally after 20-40 s). If the rat does not respond within the imparted time, the trial ends unrewarded and a new ITI is initiated. In general, response latencies (RL) are much shorter than 300s. The sequence of events during choice trials (right panel) is identical to that during sampling trials, except that two levers are simultaneously presented before choice-making or simultaneously retracted after choice making (for other information, see main text).

Figure 2 | Apparatus with its different accessories (Imetronic, France). **(a)** Side view of the operant chamber showing a freely moving rat whose injection cannula is connected to the drug infusion line. **(b)** Top view of an empty operant chamber. Apparatus's accessories include: 1) one syringe pump for alimentation of the drinking cup; 2) one syringe pump for i.v. drug delivery; 3) one white light diode above each lever; 4) two retractable levers; 5) one drinking cup coupled to a lickometer circuit; 6) a protective gain (stainless-steel spring, Aquitaine Ressort, France) for the drug infusion line; and, finally, 7) two pairs of infrared beams 2 cm above the grid floor (also indicated by yellow dashed lines).

Figure 3 | Intravenous catheter and catheter flusher. **(a)** Intravenous catheter is made of Silastic tubing, with one free extremity to be inserted in the right jugular vein (right arrow) and another connected to a stainless-steel injection cannula to be exited below the scapular region (left arrow) of the animal as shown in Figure 2a. **(b)** System of two silicone bubbles for

anchoring the free end of the catheter into the jugular vein. The small pear-shaped bubble is inserted into the vein. Further insertion is blocked by the second bigger apple-shaped bubble. To maintain the catheter within the jugular, two sutures are made at the locations indicated on the figure by the 2 vertical arrowheads. **(c)** Catheter flusher.

Figure 4 | Anticipated results during choice testing. **(a)** Completed choice trials as a function of the first 5 days of testing (which were common to all pooled experiments). **(b)** Preference score as a function of the first 5 days of testing. The horizontal dashed line at 0 indicates the indifference level. Values above 0 indicate a preference for sweet water while values below 0 indicate a preference for intravenous cocaine. **(c)** Distribution of stable individual preferences regardless of past cocaine use (i.e., following 5-8 testing sessions). Only 14 individuals out of a total of 103 rats tested in the choice procedure preferred cocaine over water sweetened with saccharin (closed circles, drug-preferring or DP rats). The other rats preferred sweet water (open circles, non-drug-preferring or NDP rats). Only one rat was indifferent between the 2 options (not shown).

Fig.1.

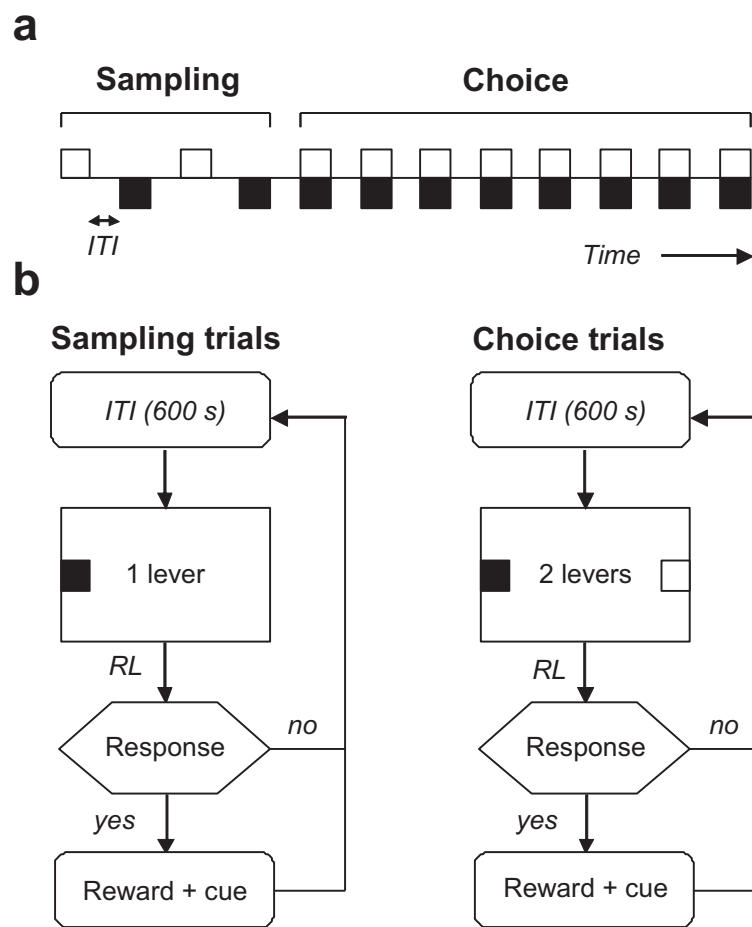


Fig. 2.

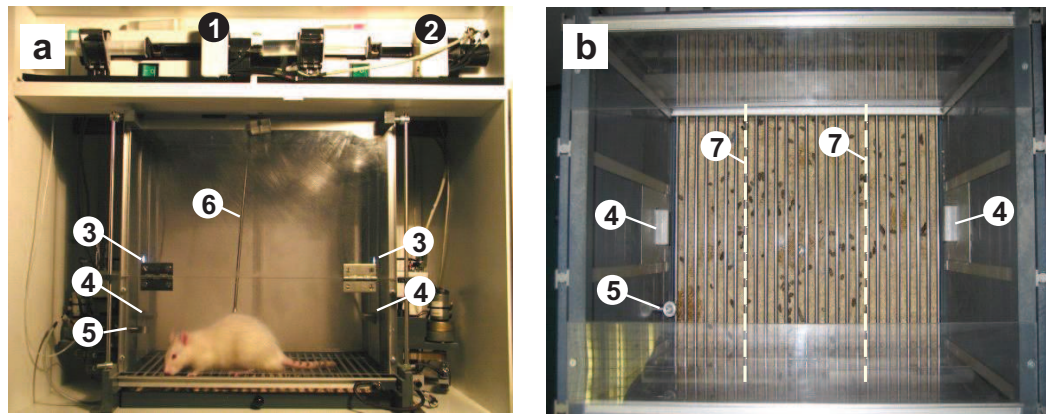


Fig. 3.

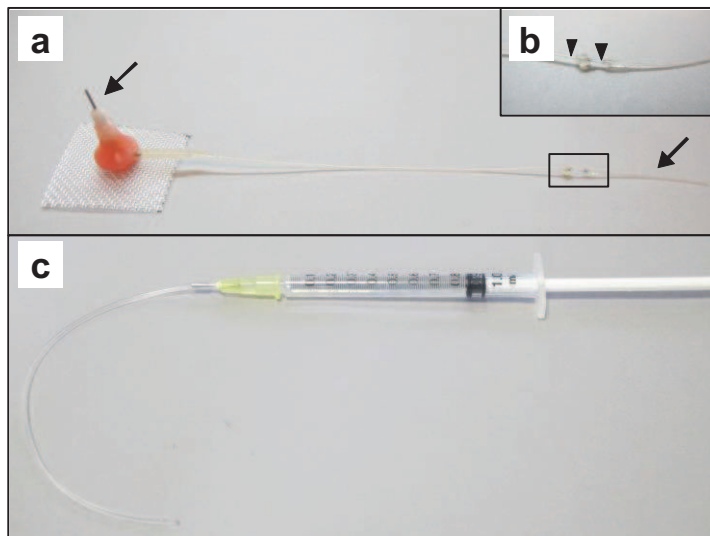
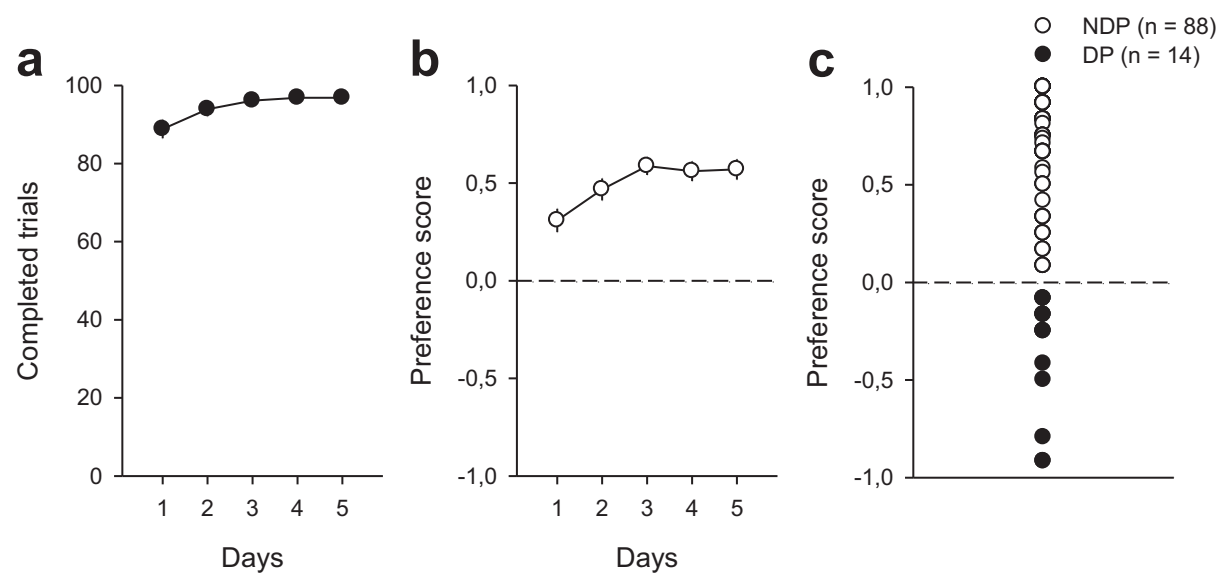


Fig. 4.



ARTICLE 2

La cocaïne est faible sur l'échelle de valeur du rat : premiers indices de l'existence d'un phénomène de résilience à l'addiction

Contexte : Mesurer la valeur relative de la cocaïne et évaluer l'impact d'une consommation chronique de la drogue sur cette valeur représentent un enjeu majeur dans le domaine de la recherche sur l'addiction. Lors d'expériences récentes, nous avons observé à notre grande surprise que chez le rat, de loin le modèle animal le plus utilisé dans le domaine, la cocaïne avait une valeur récompensante beaucoup plus faible que ce qui était habituellement rapporté.

But de l'étude : Cette étude a ainsi eu pour objectif de confirmer cette étonnante observation et de mieux la quantifier en mesurant précisément la différence de valeur entre la cocaïne et la récompense alternative. D'autre part, nous avons voulu vérifier si le degré d'exposition de la drogue avait un impact sur la proportion d'animaux préférant la drogue à la récompense alternative.

Méthodologie : Nous avons réalisé une série d'expériences utilisant une procédure de choix exclusif permettant de mieux définir la position relative de la cocaïne sur l'échelle de valeur du rat. Les animaux ont eu l'opportunité de choisir entre prendre de la cocaïne ou boire une solution sucrée de saccharine, une alternative naturelle qui ne présente pas d'intérêt biologique puisque non calorique. La valeur relative de la cocaïne comparée à la solution de saccharine a été mesurée en utilisant plusieurs approches comportementales basées sur la relation entre effort, motivation et valeur (variation systématique du coût et de la concentration de la récompense alternative).

Principaux résultats : Nos résultats ont permis de confirmer que la cocaïne est faible sur l'échelle de valeur du rat, au niveau des concentrations les plus basses d'eau sucrée. De plus, une étude rétrospective des expériences de choix que nous avons réalisées durant les cinq dernières années ont permis de révéler que, quelle que soit la sévérité de l'exposition antérieure à la cocaïne, la grande majorité des animaux se détourne de la drogue au profit de la récompense alternative. Seule une minorité d'individus, n'excédant pas 15 % au niveau le plus sévère d'exposition à la drogue, continue à prendre de la cocaïne, même lorsqu'ils sont

en privation alimentaire et qu'ils ont la possibilité de choisir un sucre naturel qui pourrait combler leur besoin en calories.

Conclusions : Cette répartition des scores individuels de préférence (abstinence chez la plupart des animaux ; préférence pour la cocaïne chez quelques rats) est en accord avec l'épidémiologie de l'addiction humaine à la cocaïne et suggère que seule une minorité de rats serait vulnérable à l'addiction alors qu'une vaste majorité y serait résiliente malgré une forte consommation de drogue. L'existence d'un phénomène de résilience à l'addiction chez l'être humain est suspectée depuis longtemps, mais n'a toujours pas pu être formellement établie, en particulier à cause de la difficulté de contrôler rétrospectivement les différences d'exposition et de disponibilité de la drogue chez les consommateurs. Notre observation pourrait ainsi avoir d'importantes implications pour la recherche préclinique sur la neurobiologie de l'addiction à la cocaïne et pour le développement de futures approches thérapeutiques.

Cocaine Is Low on the Value Ladder of Rats: Possible Evidence for Resilience to Addiction

Lauriane Cantin^{‡a}, Magalie Lenoir^{‡b}, Eric Augier[‡], Nathalie Vanhille[‡], Sarah Dubreucq^{‡c}, Fuschia Serre^{‡d}, Caroline Vouillac, Serge H. Ahmed*

Unité Mixte de Recherche 5227, Centre National de la Recherche Scientifique, Université Victor Segalen Bordeaux 2, Bordeaux, France

Abstract

Background: Assessing the relative value of cocaine and how it changes with chronic drug use represents a long-standing goal in addiction research. Surprisingly, recent experiments in rats – by far the most frequently used animal model in this field – suggest that the value of cocaine is lower than previously thought.

Methodology/Principal Findings: Here we report a series of choice experiments that better define the relative position of cocaine on the value ladder of rats (i.e., preference rank-ordering of different rewards). Rats were allowed to choose either taking cocaine or drinking water sweetened with saccharin – a nondrug alternative that is not biologically essential. By systematically varying the cost and concentration of sweet water, we found that cocaine is low on the value ladder of the large majority of rats, near the lowest concentrations of sweet water. In addition, a retrospective analysis of all experiments over the past 5 years revealed that no matter how heavy was past cocaine use most rats readily give up cocaine use in favor of the nondrug alternative. Only a minority, fewer than 15% at the heaviest level of past cocaine use, continued to take cocaine, even when hungry and offered a natural sugar that could relieve their need of calories.

Conclusions/Significance: This pattern of results (cocaine abstinence in most rats; cocaine preference in few rats) maps well onto the epidemiology of human cocaine addiction and suggests that only a minority of rats would be vulnerable to cocaine addiction while the large majority would be resilient despite extensive drug use. Resilience to drug addiction has long been suspected in humans but could not be firmly established, mostly because it is difficult to control retrospectively for differences in drug self-exposure and/or availability in human drug users. This conclusion has important implications for preclinical research on the neurobiology of cocaine addiction and for future medication development.

Citation: 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(7): e11592. doi:10.1371/journal.pone.0011592

Editor: Kenji Hashimoto, Chiba University Center for Forensic Mental Health, Japan

Received: April 9, 2010; **Accepted:** June 20, 2010; **Published:** July 28, 2010

Copyright: © 2010 Cantin et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Funding: This work was supported by grants from the Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), the Université Victor-Segalen Bordeaux 2, the Conseil Régional d'Aquitaine, the National Research Agency (ANR), the Fondation pour la Recherche Médicale (FRM) and the Mission Interministérielle de Lutte contre la Drogue et la Toxicomanie (MILDT). The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing Interests: The authors have declared that no competing interests exist.

* E-mail: sahmed@u-bordeaux2.fr

^{‡a} Current address: Institut de Santé Publique d'Epidémiologie et de Développement, Université Victor Segalen Bordeaux 2, Bordeaux, France

^{‡b} Current address: Behavioral Neuroscience Branch, National Institute on Drug Abuse-Intramural Research Program, National Institutes of Health, Baltimore, Maryland, United States of America

^{‡c} Current address: Neurocentre Magendie, Unité 862, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, Université Victor Segalen Bordeaux 2, Bordeaux, France

^{‡d} Current address: Laboratoire de Psychiatrie, Centre National de la Recherche Scientifique, Université Victor Segalen Bordeaux 2, Bordeaux, France

These authors contributed equally to this work.

Introduction

The immediate reward value of cocaine, especially if it is rapidly delivered to the brain following smoking or intravenous injection, is widely thought to be higher than that of most natural or socially-valued rewards – a difference that would contribute to explain its addictive potential [1–5]. This assumption is largely based on retrospective self-reports from current or ex-cocaine addicts or on evidence from experimental animals given access to cocaine self-administration with no behavioral alternative available. It seems also to be corroborated, though more indirectly, by neurobiological research showing that cocaine provokes a surge of dopamine in the ventral striatum that is abnormally high and that does not

habituate to repeated drug exposure, compared to that evoked by nondrug rewards [3,5,6]. However, estimating the relative value of cocaine in current or ex-cocaine abusers – who belong to a non-representative minority – is prone to a selection bias and is thus likely to lead to overestimates when generalized to the majority of other, unselected populations. There is no doubt that cocaine can be initially highly rewarding in some vulnerable individuals [7–10]; whether this is true in the large majority of other unselected individuals remains to be demonstrated [11–13]. Similarly, though there is no doubt that most experimental animals readily self-administer cocaine when no other valuable choices are available, this evidence in itself does not provide information about its relative value compared to that of other

nondrug rewards. As a matter of fact, since the seminal work by Pickens and Thompson in 1968 [14], comparatively little research has been conducted in experimental animals to quantify the relative value of cocaine (i.e., in comparison to nondrug reward) [15,16].

Recent research in (unselected) rats – by far the most frequently used animal model in experimental addiction research [17] – has revealed that the relative value of cocaine is surprisingly weaker than previously thought [18–21]. For instance, using a reliable behavioral economic approach, it was recently estimated in hungry rats from different strains that the reward value of food is largely greater than the reward value of intravenous cocaine [18,19], a difference that persisted even following long-term cocaine self-administration [20]. Considering that food is essential for survival, growth and reproduction, this outcome may not be surprising. Perhaps more surprisingly, we found that when offered a mutually-exclusive choice, most non-deprived rats readily give up cocaine use to drink water sweetened with a non-caloric sweetener (i.e., saccharin) [21] – an otherwise biologically inessential rewarding behavior. This observation is generally consistent with previous research showing that access to alternative non-drug reward or activity can reduce cocaine self-administration in both rats, monkeys and humans [22–27]. Preference for sweet water was not attributable to thirst or drinking behavior per se and was observed despite maximal cocaine stimulation and evidence for robust cocaine sensitization [21] – a well-documented behavioral change associated with persistent alterations in brain glutamate and dopamine synapses [28]. Still even more surprisingly, most rats rapidly abstain from cocaine use in favor of the nondrug alternative following an extended period of cocaine self-administration [21]. Previous research showed that following extended access to cocaine self-administration, rats are more likely to escalate their consumption of cocaine [29], to work harder [30] and to take more risk to seek and/or to obtain cocaine [31]. In addition, the ability of cocaine to reinstate cocaine seeking after extinction – a behavioral phenomenon that has been considerably studied over the past 10 years as a model of relapse or craving [32–34] – is also increased following a long period of cocaine self-administration [35–38]. Clearly, all these behavioral changes and others [39] betray a consistent increase in the reinforcing and/or incentive value of cocaine following extended drug use; nevertheless, no matter how large is this increase in drug value, it is apparently not sufficient to override preference for the nondrug alternative and promote cocaine preference in rats.

As a whole, these observations show that cocaine use has a surprisingly low relative value in the large majority of rats. The goal of the present series of experiments was to test the reliability and generality of this conclusion and to more precisely define the position of cocaine on the value ladder of rats (i.e., preference rank-ordering of different rewards) [40,41]. We first sought to compare the results from the choice procedure with those of a different reward assessment method – the progressive ratio (PR) schedule [42]. The PR schedule is the most frequently used method to measure the reward value of both drug and nondrug rewards in experimental animals [43,44]. In the PR schedule, the maximum amount of work that rats accept to do to get access to a given reward (i.e., the breakpoint), serves as an index of its value. Intuitively, one would expect that rats will work more to get access to their preferred reward (i.e., sweet water). Then, using the choice procedure, we attempted to precisely quantify the size of the difference in reward value between cocaine and sweet water. To achieve this end, we measured the point of indifference (or subjective equality) between the 2 rewards by adjusting the cost and concentration of sweet water [45,46]. We also estimated the conditioned incentive value of each type of reward by testing rats

during extinction [47]. Finally, we performed a retrospective analysis of all choice experiments conducted in the laboratory over the past 5 years to assess the influence of the severity of past cocaine use on preference. Overall, we found that no matter how heavy was past cocaine self-administration, most rats value cocaine poorly and readily abstain from cocaine use when offered the opportunity of making a different choice. Only a minority of rats, fewer than 15% at the highest degree of severity of past cocaine use, prefers cocaine over the alternative nondrug reward, even when hungry and offered a natural sugar (i.e., sucrose) that could relieve their need of calories. The persistence of cocaine preference in the face of high stakes strongly suggests a state of addiction.

Results

Twenty-nine rats from 2 independent cohorts were first trained on alternate daily sessions to lever press to self-administer either water sweetened with saccharin (0.2%) or intravenous cocaine (0.25 mg) under a fixed-ratio 1 (FR) schedule (i.e., one response results in one reward) (see Figure 1 and Materials and Methods). After acquisition and stabilization of FR performance, they were tested alternatively under a progressive-ratio 3 (PR) schedule (i.e., response requirement is increased within-session in constant step of 3 after each successive reward) of either sweet water or cocaine self-administration to measure the breakpoint of each type of reward (see Figure 1 and Materials and Methods). Finally, after stabilization of PR performance, the same rats were tested in the discrete-trials choice procedure to assess individual preferences (see Figure 1 and Materials and Methods). In the FR schedule, most rats self-administered the maximum available number of rewards which was limited to 30 per 3-h session. In the PR schedule, rats responded more vigorously for cocaine than for sweet water [$F(1, 28) = 7.62, P < 0.01$; Figure 2A]. As a result, they earned more cocaine doses than sweet rewards [$F(1, 28) = 11.38, P < 0.01$; Figure 2B] and the breakpoint of cocaine was two times higher than the breakpoint of sweet water [$F(1, 28) = 11.4, P < 0.01$; Figure 2C]. At first glance, these findings suggest that cocaine has a higher value compared to the alternative nondrug reward. However, when allowed to choose mutually-exclusively between the two rewards, the same rats that worked harder for cocaine than for sweet water in the PR schedule clearly preferred the latter over the former [from day 1 to 6: $t(28) > 2.69, P < 0.01$; Figure 3A]. The preference for sweet water was evident on the first day of choice and increased thereafter [$F(5, 140) = 2.54, P < 0.05$].

To further explore the origin of this apparent contradiction between reward assessment procedures, we computed for each individual the difference in breakpoints between water sweetened with saccharin and cocaine, called thereafter the PR score. Positive PR scores indicate that rats worked more for sweet water than for cocaine and negative PR scores indicate the opposite. We then plotted individual PR scores with individual preference scores, as measured under the discrete-trials choice procedure (see Data Analysis in Materials and Methods), and obtained a graph with 2

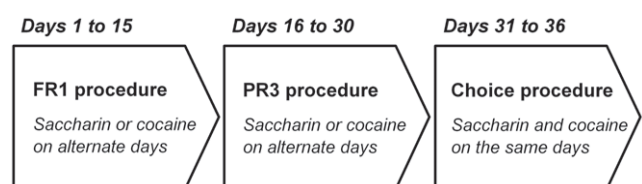


Figure 1. Diagram of the design of the first experiment. For additional information, see the text.
doi:10.1371/journal.pone.0011592.g001

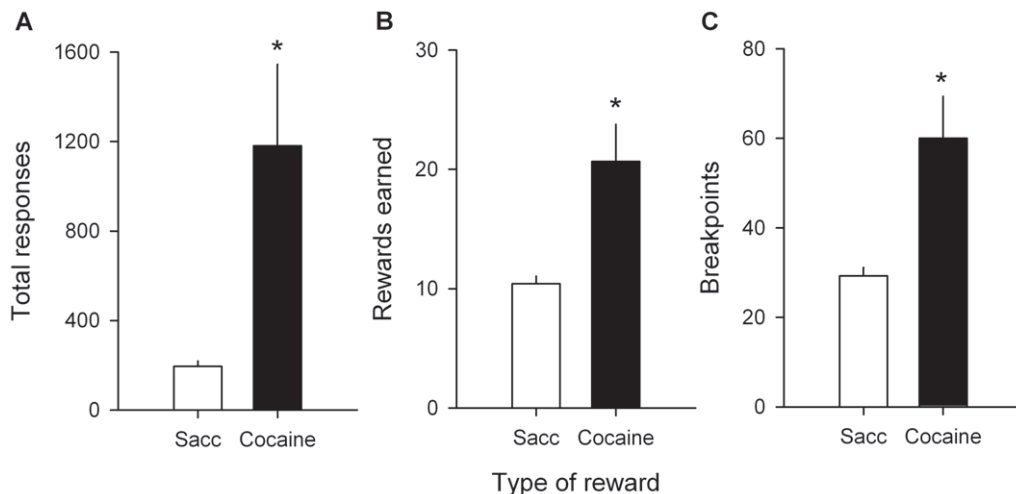


Figure 2. Differential PR responding for cocaine and saccharin. Bars represent the means ($\pm$ s.e.m.) over the last 3 stable testing sessions of: (A) total responses, (B) rewards earned and (C) breakpoints as a function of reward type [cocaine versus saccharin (sacc)]. *, different from sweet water [$P < 0.01$, one-way analysis of variance (ANOVA)]. doi:10.1371/journal.pone.0011592.g002

indifference lines centered at 0, thereby defining 4 quadrants (Figure 3B). Scores below the horizontal indifference line indicates individual rats that prefer cocaine over sweet water (i.e., 5 out of a total of 29; 17.2%); scores on the left of the vertical line indicates rats that work more for cocaine than for sweet water (i.e., 65.5%). Clearly, the majority of individuals (65.5%; open circles) were behaviorally incongruent across reward assessment procedures: they worked more (or about equally) for cocaine than for sweet water in the PR schedule but preferred the latter over the former during choice. Only a minority of individuals (34.5%; closed

circles) were behaviorally congruent. This qualitative analysis was confirmed by a linear regression analysis showing that PR scores were a very poor, though significant, predictor of preference scores [$R^2 = 0.15$, $F(1, 27) = 4.82$, $P < 0.05$].

The contradiction in outcomes between the PR schedule and the choice procedure suggests that these two reward assessment procedures do not entirely measure the same thing. Previous research suggests that responding for cocaine under the PR schedule would not only reflect the value of cocaine but also the direct stimulant effect of cocaine accumulation on work output or

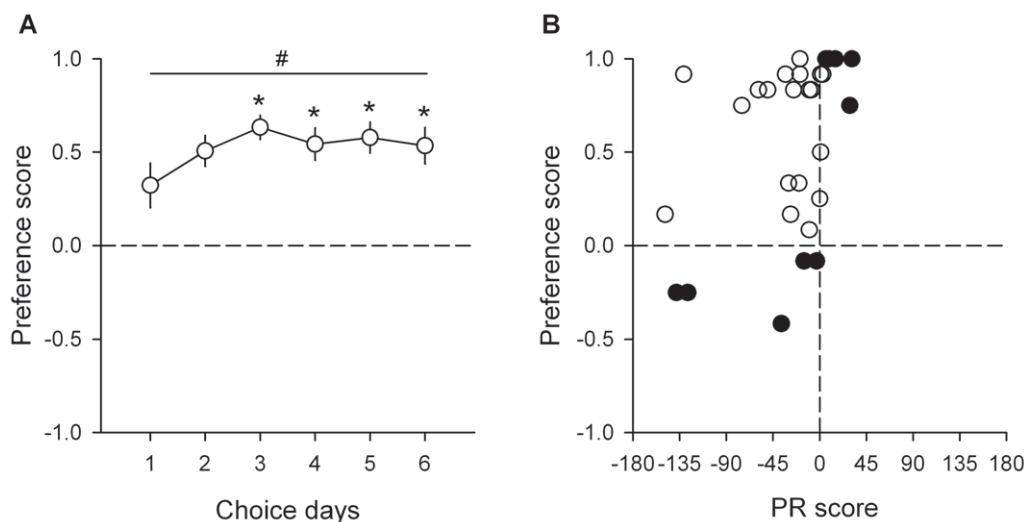


Figure 3. Comparison between reward assessment procedures. (A) Choice between water sweetened with saccharin and cocaine. The horizontal dashed line at 0 indicates the indifference level. Values above 0 indicate a preference for sweet water while values below 0 indicate a preference for intravenous cocaine. *, different from the first day ($P < 0.05$, Fisher's LSD test following a one-way ANOVA); #, different from the indifference level ($P < 0.05$, t-test). (B) Correlation between individual PR and preference scores. The x-axis corresponds to the PR score (difference in breakpoints between saccharin and cocaine; see Results) while the y-axis corresponds to the preference score as measured in the choice procedure (see Materials and Methods). The vertical dashed line at 0 indicates that the breakpoint of cocaine was equal to that of sweet water. Values on the left or on the right of this vertical line indicate that the breakpoint of cocaine is higher or lower than the breakpoint of sweet water, respectively. Open circles represent individuals whose PR and preference scores are incongruent; closed circles represent individuals whose PR and preference scores are congruent. Note that rats with a PR score ≥ -3 or ≤ 3 (i.e., only one step size in the PR3 schedule) were considered to work equally for both types of reward.

doi:10.1371/journal.pone.0011592.g003

effort production [48–50]. This latter, value-independent effect should lead to a systematic overestimation of the true value of cocaine in the PR schedule. Note that cocaine accumulation is prevented in the choice procedure by spacing trials with 10-min intervals (see Materials and Methods). Ten minutes is the time that it takes for the dissipation of the stimulant effect of the scheduled dose of cocaine [21]. To test this hypothesis, 23 additional rats from 2 separate cohorts were trained identically as described in the previous experiment, except that the PR schedule was modified as follows: a fixed delay of 10 min was added following each successive reward. During each post-reward delay, the available lever was retracted to avoid extinction. Adding a post-reward delay profoundly decreased responding for cocaine, but not for water sweetened with saccharin, compared to the previous experiment with no delay [Delay X Type of Reward: $F(1, 50) = 5.84$, $P < 0.05$; Figure 4A]. As a result, the breakpoint of cocaine decreased to a level comparable to the breakpoint of sweet water which remained constant [Delay X Type of Reward: $F(1, 50) = 8.85$, $P < 0.01$; Figure 4B]. This outcome now suggests that the two rewards would be of equal value. However, once again, when the same rats were allowed to choose either cocaine or sweet water, they expressed an immediate and strong preference for sweet water [from day 1 to 6, preference scores were significantly above the indifference line; $t(22) > 4.42$, $P < 0.01$]. Overall, the first two experiments unexpectedly reveal that the choice procedure is more sensitive and reliable for assessing the relative value of cocaine than the PR schedule, the latter being selectively biased in favor of cocaine.

To definitively rule out the confounding effect of cocaine accumulation on the assessment of its relative value, difference in responding for cocaine and water sweetened with saccharin was measured during extinction in a separate group of rats ($n = 12$). These rats have previously received over a period of 6 months 59 alternating daily FR sessions of cocaine and saccharin self-administration, followed by 40 alternating daily PR sessions of cocaine and saccharin self-administration which were finally followed by 52 choice sessions. As a result, they had self-administered 1296.7 ± 54.4 intravenous doses of cocaine corresponding to 324.2 ± 13.6 mg of cocaine (which roughly corre-

sponds to 926 mg/kg). During extinction testing, rats had concurrent access for 45 min to the lever associated with cocaine and to the lever associated with water sweetened with saccharin but responding on either lever had no programmed consequence. Thus, during extinction, responding is motivated by the conditioned incentive value that each lever has previously acquired from its associated reward. Consistent with their pre-extinction preference scores [$10.4 \pm 5.2\%$ cocaine choice, $t(11) = -7.60$, $P < 0.01$], but not their pre-extinction PR scores [breakpoint of cocaine: 65.0 ± 7.8 ; breakpoint of sweet water: 31.6 ± 2.5 ; $F(1, 11) = 22.48$, $P < 0.01$], rats responded more eagerly on the lever associated with sweet water than on the cocaine lever [$F(1, 11) = 6.88$, $P < 0.05$; Figure 5A], especially within the first 3 min where the difference in responding on the two levers was the highest [Time X Type of Reward: $F(14, 154) = 6.74$, $P < 0.01$; Figure 5B]. This outcome demonstrates that when the direct stimulant effect of cocaine is ruled out, rats work more to attempt to obtain sweet water than cocaine.

Together with previous research [21], the above series of experiments strongly suggest that for most rats, the reward value of intravenous cocaine is weaker than the value of water sweetened with saccharin. The following series of experiments was aimed at precisely quantifying the magnitude of this difference in reward value using a cost-effect analysis adapted to the choice procedure (see Materials and Methods). In these experiments, rats were first trained to self-administer cocaine or saccharin on alternate days under a FR1 schedule of reinforcement as described above. Then they were tested in the discrete-trials choice procedure during at least 6 consecutive days until stabilization of sweet preference (no increasing or decreasing trend across 3 consecutive days). In the first experiment, which involved 11 rats, after stabilization of preference, the number of responses required to obtain sweet water (or cost) was gradually increased from 1 to 16 times that for cocaine (fixed at 2 responses per reward) until reversal of preference and thus identification of the indifference point. The point of indifference (or also sometimes called the point of subjective equality) corresponds to the relative cost at which rats choose either reward equally (see Materials and Methods). Indifference points provide a continuous common metric to

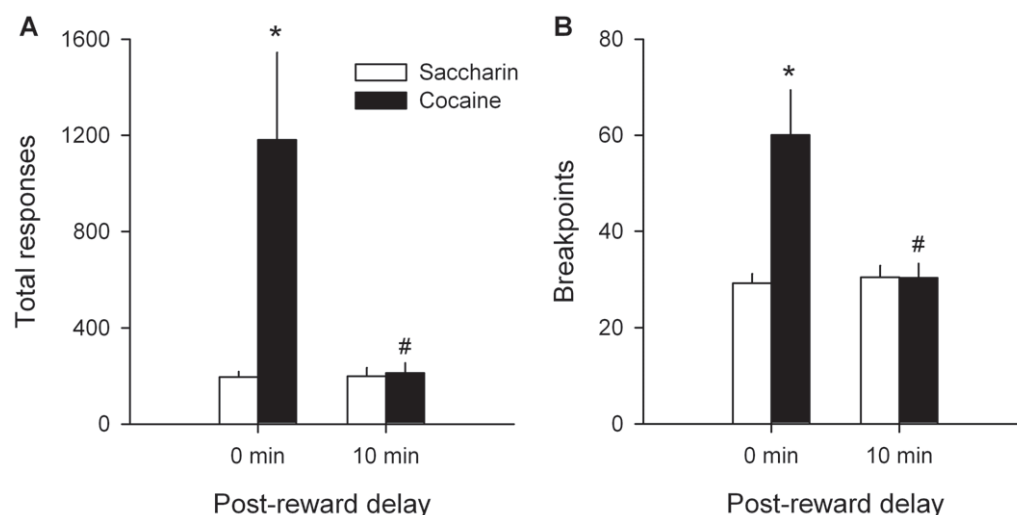


Figure 4. Effects of post-reward delay on PR responding for cocaine. Bars represent the means ($\pm$ s.e.m.) over the last 3 stable testing sessions of: (A) total responses and (B) breakpoints as a function of reward type (cocaine versus saccharin) and of post-reward delay (0 versus 10 min). *, different from saccharin ($P < 0.01$, Fisher's LSD test following a two-way ANOVA); #, different from 0-min delay ($P < 0.01$, Fisher's LSD test following a two-way ANOVA).

doi:10.1371/journal.pone.0011592.g004

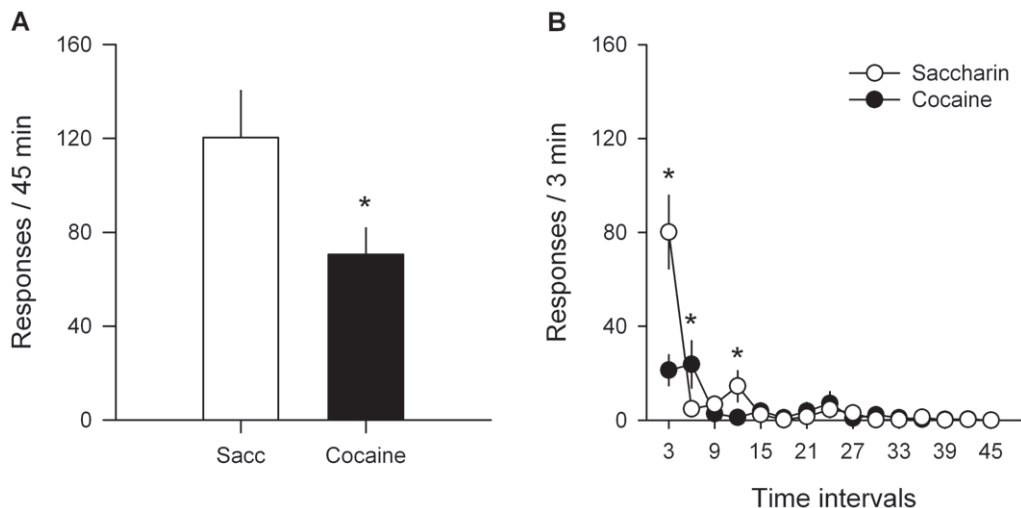


Figure 5. Concurrent extinction of responding for cocaine and saccharin. During extinction testing, the lever previously associated with cocaine was presented concurrently with the lever previously associated with saccharin during 45 min. Pressing on either lever was recorded but had no programmed consequence (no response-contingent reward delivery or light cue presentation). (A) Bars represent the mean total number of responses ($\pm$ s.e.m.) on the cocaine- and saccharin-associated levers over the 45-min extinction period. *, different from the other reward ($P < 0.05$, one-way ANOVA); (B) Curves represent within-session time course of extinction responding on the two levers (means $\pm$ s.e.m.). *, different from the other reward ($P < 0.01$, Fisher's LSD test following a two-way ANOVA). doi:10.1371/journal.pone.0011592.g005

measure and compare the values of rewards as different in kind as intravenous cocaine to sweet water. For instance, if the point of indifference between cocaine and saccharin is equal to X, then one can deduce that the value of cocaine is equal to the value of sweet water when the cost of the latter is X times greater than that of cocaine. As expected, when the cost of water sweetened with saccharin increased, rats progressively shifted their preference to cocaine [$F(4, 44) = 30.53$, $P < 0.01$; Figure 6A]. At the highest cost (i.e., 16 times that for cocaine), virtually all rats shifted their preference to cocaine (i.e., 10 out of a total of 11 non drug-preferring rats). Note that the number of completed choice trials was not affected by the cost of saccharin [$F(4, 44) = 1.6$, NS ;

Figure 6B]; this shows that the shift in preference was not influenced by a generalized decrement in performance. Similar results were obtained when the relative cost of sweet water was increased in a within-session manner [$F(3, 33) = 22.54$, $P < 0.01$; Figure 6A,B], suggesting that rats made their effort-based decision on a rapid, trial-by-trial reevaluation of the available options. Importantly, in both between- and within-session determinations, the point of indifference was reached when the effort demanded for sweet water was 7.8 (within-session determination, $R^2 = 0.98$, $P < 0.01$) to 8.5 (between-session determination, $R^2 = 0.99$, $P < 0.01$) times that for cocaine, as estimated by curve fitting of percentage data with a normal sigmoid function (see Materials and

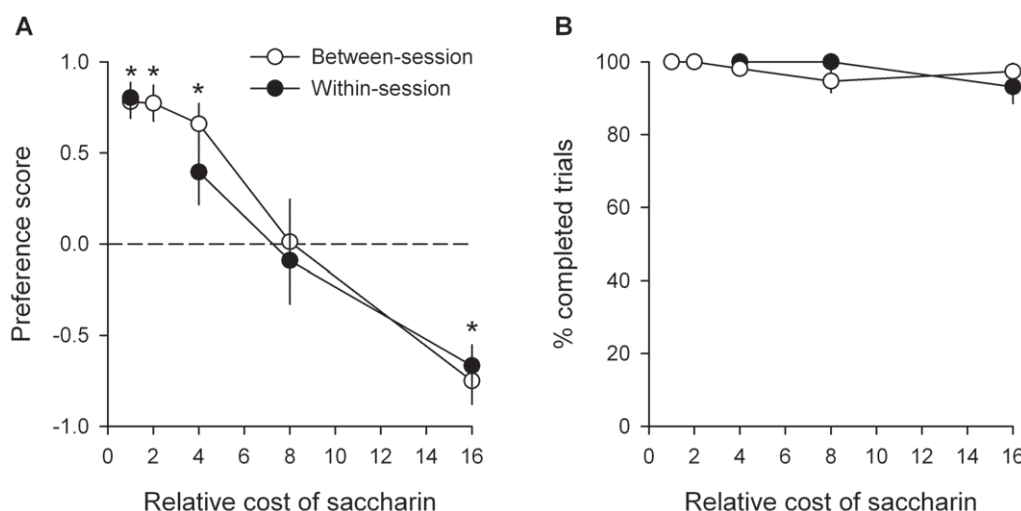


Figure 6. Estimation of the relative value of cocaine. Curves represent (A) choice between cocaine and water sweetened with saccharin and (B) percent of completed trials as a function of the relative cost of saccharin. The cost of saccharin was gradually increased either between sessions (open circles) or within sessions (closed circles). In the former case, each cost level was tested at least 5 times consecutively until stabilization of behavior. Data points represent the means ($\pm$ s.e.m.) of the last 3 stable testing sessions. For other details, see Materials and Methods, and legend of Figure 3. *, different from the indifference level ($P < 0.05$, t -test). doi:10.1371/journal.pone.0011592.g006

Methods). This large relative cost suggests that the value of cocaine is much lower than the value of water sweetened with saccharin. Finally, to further quantify the relative value of cocaine, the point of indifference (or subjective equality) between cocaine and saccharin was measured within-session as a function of the concentration of saccharin (0.0016–0.2%) in an additional group ($n=10$) of rats. As expected, the cost-effect curve for saccharin preference was shifted to the right with increasing concentrations of saccharin [Saccharin concentration: $F(3, 27) = 14.26$, $P < 0.01$; Figure 7A]. As a result, the point of indifference (all R^2 were greater than 0.96, $P < 0.01$) between cocaine and saccharin increased linearly up to 8.3 with the concentration of saccharin [$R^2 = 0.988$, $P < 0.01$; Figure 7B]. Of particular interest, the point of indifference was near 1 at the lowest saccharin concentration (i.e., 0.0016%), suggesting that on average the value of intravenous cocaine was equal to the value of this low concentration in the majority rats.

Though the large majority of rats prefer sweet water over intravenous cocaine, we consistently detected across experiments the existence of a small minority of cocaine-preferring rats (i.e., cocaine choices $>50\%$ of completed trials). To estimate the frequency of cocaine-preferring rats, we conducted a retrospective analysis of all choice experiments conducted in the laboratory over the past 5 years, including most of the rats of the present series of experiments. This analysis reveals that only 16 rats out of a total of 184 (i.e., 8.7%) prefer intravenous cocaine over water sweetened with saccharin. To assess the impact of past cocaine use on the frequency of cocaine-preferring rats, the total amount of self-administered cocaine before choice testing was calculated for each individual. This amount ranged from 0 to 486.8 mg (or approximately 1388 mg/kg) and was divided in 5 equal intervals (i.e., of 75 mg each, except for the last open interval), thereby defining 5 increasing levels of severity of past cocaine use (Figure 8A). The frequency of cocaine-preferring individuals increased slightly but not significantly with severity of past cocaine use [Kruskal-Wallis, $H(4, 184) = 3.47$] and remained below 15% (Figure 8B). Similarly, though the preference for sweet water slightly decreased with the severity of past cocaine use, there was clearly no shift in preference, even at the highest degree of severity

[$F(4, 179) = 2.42$, $P < 0.05$; Figure 8C]. Thus, no matter how heavy is past cocaine self-administration, cocaine preference in rats remains rare and exceptional.

Importantly, cocaine preference in cocaine-preferring rats was not attributable to a mere lack of interest in or aversion to water sweetened with saccharin since during saccharin sampling trials, these rats drank as much as the majority of other rats (0.28 ± 0.02 versus 0.31 ± 0.01 ml per 20-s access). In contrast, during cocaine sampling trials, cocaine-preferring rats responded much faster than the majority of other rats to self-administer cocaine [16.0 ± 7.6 versus 54.1 ± 6.5 s; $F(4, 179) = 2.42$, $P < 0.05$], suggesting a greater avidity for the drug. This relative avidity for cocaine in cocaine-preferring rats was not due to an increased sensitivity to the psychomotor effects of intravenous cocaine [Group: $F(1, 182) = 1.09$, Group $\times$ Time: $F(9, 1638) = 1.72$; Figure 9], as measured following the first cocaine sampling averaged over the last 3 stable testing sessions. Finally, to better determine the strength of cocaine preference, a subgroup of cocaine-preferring rats ($n=3$) with a history of FR1 training (24 alternating daily sessions of cocaine and saccharin self-administration) and choice testing (36 daily sessions) was chronically food-restricted (i.e., 85% of their free-food body weight) and allowed to choose between cocaine and saccharin (0.2%) and then between cocaine and sucrose (10%) – a natural caloric sugar. The goal of substituting saccharin by sucrose in food-restricted rats was to increase the value and stake of sweet water by increasing its physiological utility (i.e., relief of caloric need). Consistent with previous research [51], we showed in a pilot study that food-restricted rats largely prefer and work harder to obtain sucrose (5–20%) than the highest concentration of saccharin tested (0.2%) (Eric Augier and Serge Ahmed, unpublished data). In addition, in a parallel subgroup of food-restricted, non-drug preferring rats ($n=8$, same cohort and behavioral history as the 3 cocaine-preferring rats described above), sucrose shifted both downward and rightward the cost-effect curve for sweet preference over cocaine [Type of sweetener: $F(1, 7) = 21.62$, $P < 0.01$; Figure 10A]. As a result, the point of indifference between the two rewards increased from about 5.5 to 10.6, suggesting that sucrose plus the need for calories almost doubled the value of sweet water compared to cocaine. In contrast,

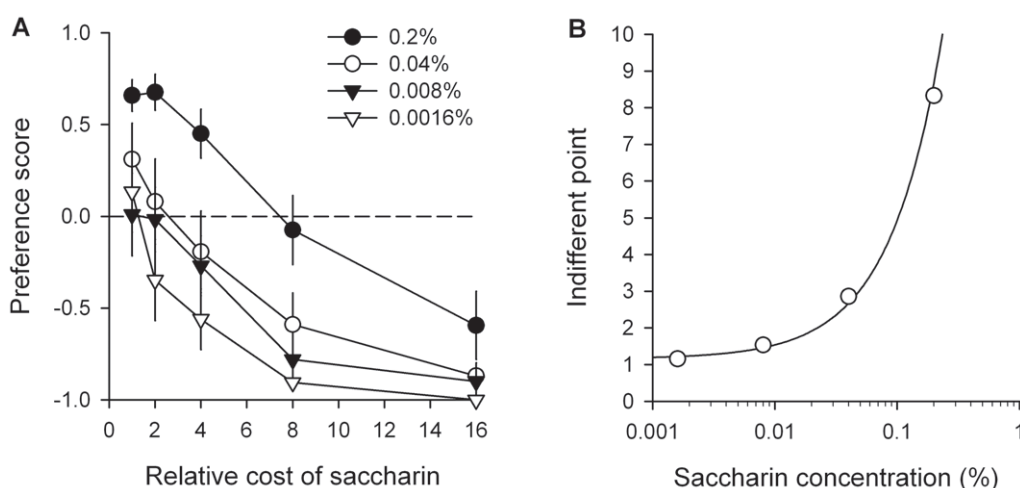


Figure 7. Estimation of the relative value of cocaine as a function of saccharin concentration. Cost-effect curves for each saccharin concentration (A) were established in a within-session manner. Each concentration was tested at least 5 times consecutively until stabilization of behavior. Data curves represent the means ($\pm$ s.e.m.) of the last 3 stable testing sessions. Indifferent points for each concentration of saccharin (B) were estimated by fitting the corresponding cost-effect curves using a normal sigmoid function. For other details, see Materials and Methods, and legend of Figure 6.

doi:10.1371/journal.pone.0011592.g007

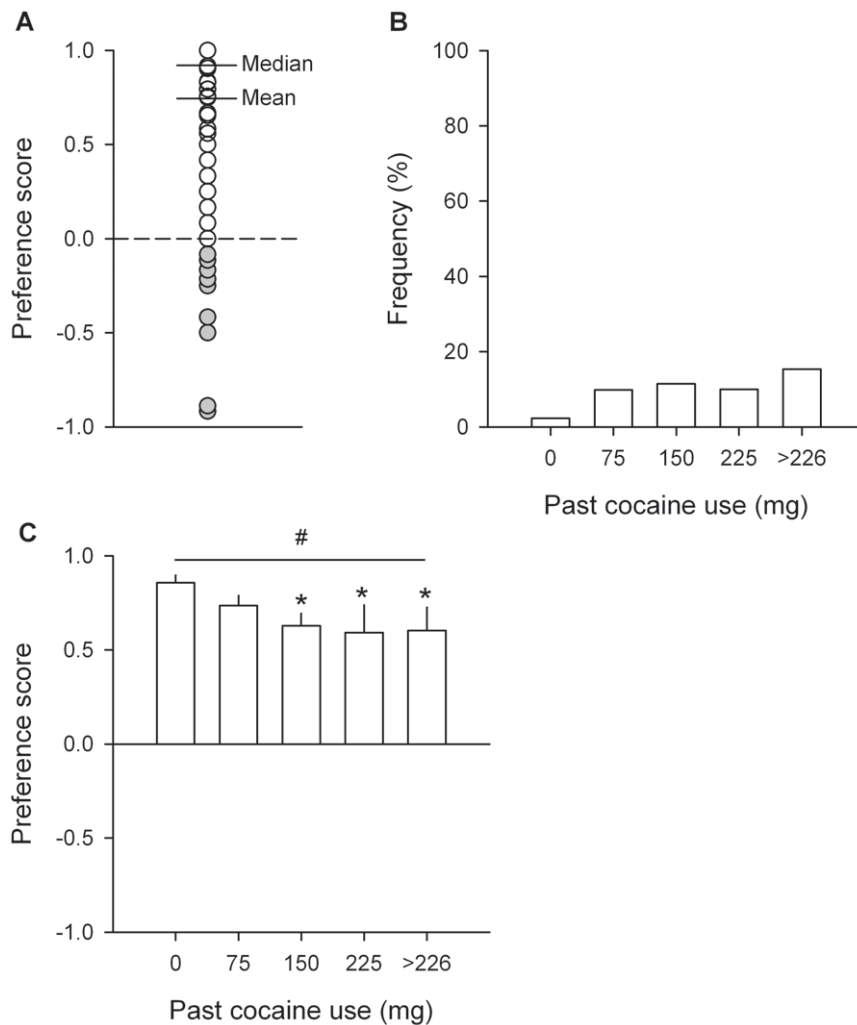


Figure 8. Effects of severity of past cocaine use on cocaine choice. (A) Distribution of individual preferences regardless of past cocaine use. Only 16 individuals out of a total of 184 rats tested in the choice procedure preferred cocaine over water sweetened with saccharin (closed circles). (B) Histograms represent the frequency of cocaine-preferring individuals (i.e., cocaine choices $>50\%$ of completed trials over the last 3 stable testing sessions) as a function of past cocaine use (i.e., amount of self-administered cocaine prior to choice testing). (C) Bars represent mean ($\pm$ s.e.m.) preference over the last 3 stable testing sessions as a function of past cocaine use. For other details, see Materials and Methods, and legend of Figure 3. #, different from the indifference level ($P < 0.05$, t-test); *, different from the lowest level of severity ($P < 0.01$, Fisher's LSD test following a one-way ANOVA).

doi:10.1371/journal.pone.0011592.g008

in cocaine-preferring rats, sucrose did not change significantly the preference for cocaine despite the need for calories [Type of sweetener: $F(1, 2) = 15.43$; Figure 10B].

Discussion

Several important features of the present series of experiments need to be explicitly stated at the outset to avoid subsequent confusion and/or misinterpretation. First, except for the last experiment with sucrose, rats were neither food or water-deprived throughout experimental testing, so the preference for sweet water – the alternative nondrug reward – over cocaine reported here is not attributable to hunger or thirst. Second, in the present study, rats were first trained to self-administer cocaine and sweet water on several alternate days before being tested in the choice procedure. This initial training clearly showed that rats readily self-administer intravenous cocaine when no other choice is available – as amply demonstrated in previous research

[29,31,47,52]. Third, in the discrete-trials choice procedure, rats were allowed to choose either cocaine or water sweetened with saccharin (i.e., choice was mutually-exclusive or either/or). As a result, selecting one reward excluded the alternative reward, thereby allowing individual rats to express their preference. In other words, selecting one reward was equivalent to a renunciation of the alternative reward. In terms of opportunity costs, the cost of selecting one reward corresponded to the loss of opportunity of obtaining the other reward. Fourth, the number of choice trials was restricted to only 8 per day to prevent the eventual confounding effect of differential reward satiation on assessment of reward value [53]. However, in a pilot study, we found that increasing the number of daily choice trials up to 40 had no significant impact on sweet preference (Sarah Dubreucq, Lauriane Cantin and Serge Ahmed, unpublished results). Fifth, trials were spaced by at least 10 min to reduce the direct anorexigenic effect of cocaine accumulation on ingestive behavior – an effect that would obviously bias choice in favor of cocaine, as suggested in

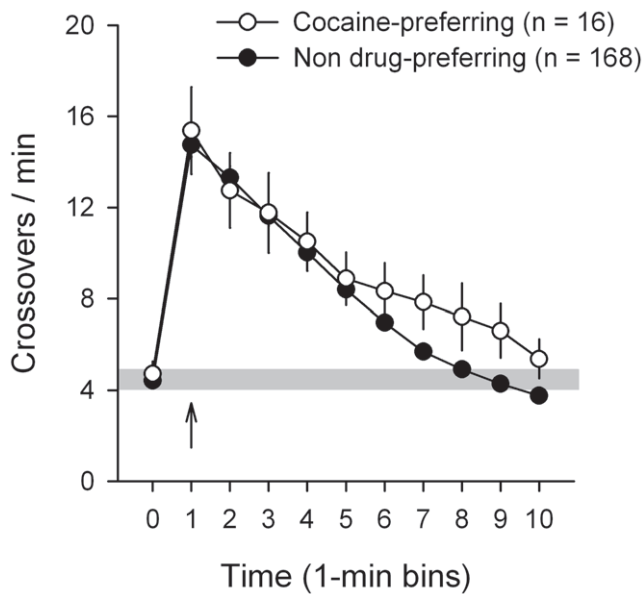


Figure 9. Cocaine-induced locomotion as a function of individual preference. Locomotion (i.e., mean number of cage crossings per min $\pm$ s.e.m.) was measured during 10 min after the first cocaine sampling (0.25 mg, i.v.) and was averaged across the last 3 stable choice sessions for each individual. The arrow indicates the intravenous injection of cocaine. The shaded area indicates the mean pre-injection level of locomotion ($\pm$ s.e.m.). Note that the first cocaine sampling was followed 10 min later by the first saccharin sampling. doi:10.1371/journal.pone.0011592.g009

other research [54]. However, as shown here, this precaution was superfluous because most rats spontaneously choose not to continue taking cocaine. Note that trial spacing in itself is not the cause of rats' relative lack of interest in cocaine. When no other choice is available, rats self-administer cocaine with forced inter-dose intervals of 10 min or even longer [21,55]. Finally, the unit dose of cocaine tested in the series of experiments described above (i.e., 0.25 mg per infusion) is a moderate to high dose that has been

extensively used in previous research in rats [29,38,56]. In fact, as shown in a previous study, most rats continued to prefer water sweetened with saccharin even when the unit dose of cocaine was increased 6-fold, from 0.25 up to the sub-convulsive dose of 1.5 mg [21]. Importantly, the lack of effects of cocaine doses on sweet preference was also seen following extended drug use and escalation of intake, suggesting that the maximal value of cocaine is lower than the value of sweet water [21]. These findings explain why the remainder of this discussion is focused on the relative value of cocaine independently of its dose.

Overall and considering the above information, the present study shows that no matter how heavy was past cocaine self-administration, the large majority of rats readily and almost completely give up cocaine use to engage in another rewarding activity that is biologically inessential (i.e., drinking water sweetened with a non-caloric sweetener is not essential for growth, survival and/or reproduction). Only a small minority of rats, fewer than 15% at the highest degree of severity of past cocaine use, continue to take cocaine despite the opportunity of making a different choice. Importantly, these few rats continued to prefer cocaine, even when hungry and offered a natural sugar (i.e., sucrose) that could relieve their need of calories, a behavior that recalls drug addiction (i.e., continued drug use at the expense of other important activities or occupations). In contrast, the rapid, self-initiated abstinence from cocaine use in the large majority of rats strongly suggests that the value of intravenous cocaine is weaker than previously thought. In support of this interpretation, a systematic cost-effect analysis in these rats revealed that cocaine is low on their value ladder, near the lowest concentration of sweet water. This hedonic position can be visualized in a single graph that represents the distribution of the indifference points corresponding to the different alternatives to cocaine tested in the present series of experiments (Figure 11). The low value of cocaine explains why the conditioned incentive value of the lever associated with cocaine, as measured during extinction, remains relatively low, despite more than 1000 repeated cocaine self-administration from this lever. The weak relative value of intravenous cocaine may also explain why in a previous study, a 6-fold increase in cocaine dose (from 0.25 to a maximum of

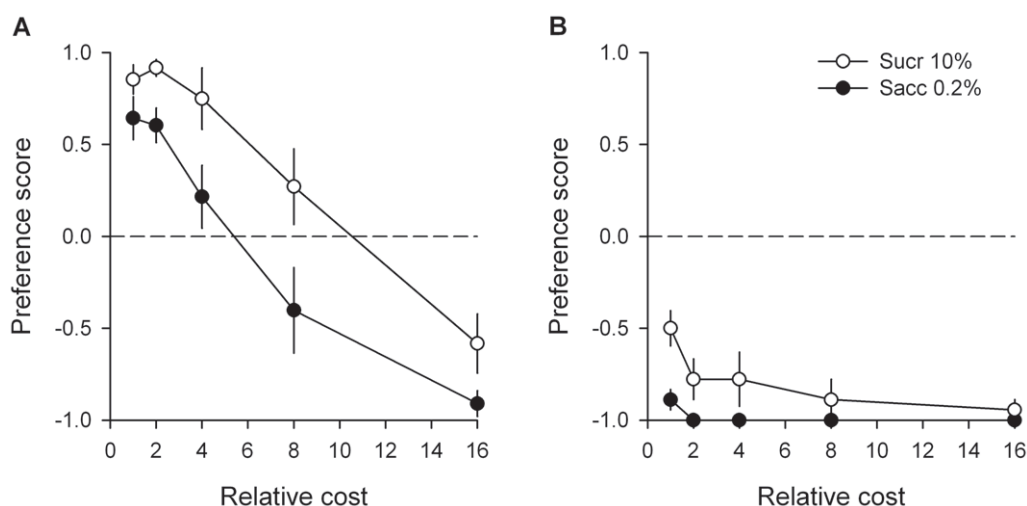


Figure 10. Effects of food restriction on cocaine preference. Cost-effect curves for saccharin (0.2%) or sucrose (10%) were established in a within-session manner in both (A) hungry non drug-preferring ($n=8$) and (B) hungry cocaine-preferring rats ($n=3$). Each sweetener was tested at least 5 times consecutively until stabilization of behavior. Data curves represent the means ($\pm$ s.e.m.) of the last 3 stable testing sessions. For other details, see Materials and Methods, and legend of Figure 6. doi:10.1371/journal.pone.0011592.g010

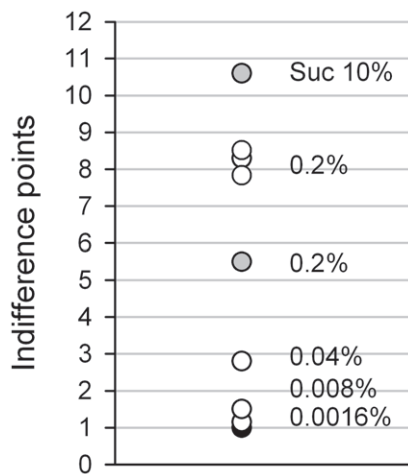


Figure 11. Position of cocaine on the value ladder of rats. Indifference points between cocaine and other types of reward (i.e., different concentrations of saccharin; sucrose) are measured in the same units (i.e., X times the cost of cocaine) and can thus be reported on the same scale. It is reasonably assumed that the indifference point between cocaine and cocaine is 1 (indicated in the graph by the closed circle at the bottom of the scale). Open and gray circles represent indifferent points measured in non-restricted and food-restricted rats, respectively. Note the reproducibility across different experiments ($n=3$) of the measurements of the indifference point between cocaine and the highest concentration of saccharin (0.2%).
doi:10.1371/journal.pone.0011592.g011

1.5 mg) was apparently not sufficient to shift preference to cocaine, even following extended access to cocaine self-administration [21]. Finally, it may also contribute to explain why to study cocaine preference, it is often necessary to increase the cost of the alternative reward [57,58]. For instance, in several recent studies in monkeys, the cost of cocaine (i.e., FR10) was much lower than the cost of food (i.e., FR100), thereby favoring cocaine preference [57,58]. As shown here, when the cost of sweet water is much higher than the cost of cocaine, rats too prefer cocaine.

This pattern of results (i.e., cocaine abstinence in most rats, cocaine preference in few rats) could be interpreted as evidence for resilience and vulnerability to cocaine addiction [16]. Specifically, it could suggest that only a minority of rats would be vulnerable to this disorder among a large majority of resilient ones, that is, individuals that cannot constitutively develop addiction even following extensive drug use. In standard experimental settings with no choice than drug use, resilient rats would take cocaine merely by default of other options. Their behavior would be “merely an expectable reaction” to an abnormal situation (i.e., lack of choice or opportunity) and would not necessarily reflect an underlying addiction-related dysfunction [16]. The interpretation in terms of resilience and vulnerability to addiction maps well with what we know about the epidemiology of drug addiction in general and of cocaine addiction in particular. First, among the general population aged 15–54 years, about 12–16% of those who have ever tried cocaine go on to develop cocaine addiction [59,60]. Second, among recent-onset cocaine users, only a minority (ranging from 4 to 16% depending on the latent class model selected) become addicted to cocaine within 24 months after initiation of cocaine use [61]. Overall, these epidemiological findings show that the large majority of human cocaine users do not eventually become addicted to the drug, a conclusion that is apparently consistent with the pattern of cocaine choice observed here in rats. It is important to note, however, that the

interpretation of these findings in terms of resilience to cocaine addiction is delicate and far from clear at present. It is possible that most human cocaine users do not develop addiction, not because they are resilient, as hypothesized here, but merely because they have not used cocaine sufficiently extensively (e.g., due to non-propitious settings). Ideally, to decide between these two possibilities, one must first selectively identify among people who have ever tried cocaine those who used it extensively and then estimate how many of them are resilient to cocaine addiction (i.e., did not develop addiction despite extensive cocaine use).

Perhaps the closest one could get to this epidemiological ideal was in a now old, though still valid, epidemiological survey of heroin users by Lee Robins and co-workers [62,63]. This survey reported that the large majority of Vietnam veterans (about 90%) who had used heroin on a chronic basis in Vietnam, even to the point of becoming physically dependent, readily and durably stopped heroin use upon return from war [62]. Only a minority of individuals (i.e., about 10%) continued to use heroin after the war. For soldiers during the Vietnam’s war, there was little opportunity and heroin use was a cheap, easily available way to make “life in service bearable”, “enjoyable” and also probably to cope with the stress of war [62]. As a result, soldiers were probably using heroin by default of other rewarding or outlet activities, and not because they lost power to control drug use. This interpretation explains why despite chronic and heavy heroin use and evidence of physical dependence, so many veterans (i.e., 90%) stopped heroin use upon return to home. Thus, despite chronic, heavy heroin consumption, most soldiers remained resistant to heroin addiction. As discussed above, there is currently no equivalent evidence for resilience to cocaine addiction after chronic, heavy cocaine use in humans. However, there is some possible evidence for resilience to addiction-like behavior to chronic dopaminergic medication in Parkinson disease [64,65]. To compensate for the irreversible loss of midbrain dopamine neurons due to neurodegeneration, Parkinsonian patients receive chronic dopamine replacement therapies, including the dopamine precursor levodopa and direct dopamine agonists. In the course of this chronic treatment, some of these patients eventually develop excessive dopaminergic medication use, despite severe motor and non-motor side effects [64]. This syndrome is often called the dopamine dysregulation syndrome and is currently hypothesized to be akin to a state of drug addiction [65]. It is currently estimated that this syndrome appears only in a small minority of patients chronically treated with dopamine replacement therapies (i.e., fewer than 10%), suggesting thus that the remaining majority is likely to be resilient to this syndrome despite years of dopaminergic medication use.

The hypothesis that in rats, like in humans, only a minority of cocaine users would become addicted to cocaine, even after extensive drug use, was previously reached by other researchers using a different approach [66,67]. Though innovative and interesting, the validity of this approach should nevertheless be considered with caution. It was based on a circular statistical method that limits a priori and arbitrarily to fewer than 33% the maximum possible frequency of rats with an addiction-like behavior. Specifically, an individual was considered to present a specific addiction-like criterion (e.g., an elevated breakpoint for cocaine in the standard PR procedure) if its score for this criterion was above the 66th percentile of the distribution. Obviously, such a frequency-dependent method of identification presupposes at the outset that addiction-like behavior can only affect a minority of rats, with a predefined maximal frequency of 33%. Adding other frequency-dependent criteria could only further decrease this frequency in proportion to the degree of rank correlation between the chosen criteria. Thus, when applied, this method can only

identify few rats with addition-like behavior. The fact that it cannot by design allow for a different outcome raises concerns about its validity in objectively measuring the frequency of rats that are resilient or vulnerable to addiction-like behavior. In contrast, the choice-based method of selection advocated here does not set arbitrarily and in advance a limit to the maximum possible frequency of cocaine-preferring rats. In principle, this frequency could attain 100%. The fact that the observed maximum frequency was much lower (i.e., ~15%) could objectively demonstrate, rather than presuppose, that cocaine addiction only affects a minority of individuals among a sea of resilient ones. Thus, from a methodological standpoint, the choice procedure described here could serve as a reliable sieve for cocaine addiction: it would weed out the majority of resilient rats and only retain the few rats that are potentially addicted to cocaine [16]. In support of the validity of this choice-based method of selection, a recent laboratory study in humans showed that when given a choice between cocaine and money, cocaine users with a DSM-based diagnosis of dependence choose cocaine more frequently than non-addicted long-term cocaine users, regardless of the amount of money available [68].

The present findings have several potential implications for future research in animal models of drug addiction. First, previous research on the neurobiology of drug addiction did not distinguish among animals with extensive cocaine use the minority that is vulnerable to addiction from the majority that is resilient [16]. As a result, brain changes associated with extensive cocaine use are difficult to interpret and their significance for the neurobiology of cocaine addiction is uncertain. In fact, since resilient animals appear to represent a large majority, it is likely that many of these brain changes do not represent neurobiological correlates of addiction but rather other, perhaps normal, neuroplastic adaptations to the novel, salient and unique experience of repeated cocaine use. One way to clarify this important issue in future neurobiological research would be to systematically compare and contrast the minority of vulnerable rats with the resilient majority. Such comparisons could indeed bring unprecedented insights into the neurobiological dysfunctions that are hypothesized to underlie cocaine addiction. Second, another related implication of the present findings is their relevance to preclinical models of cocaine self-administration for the development of medications to treat cocaine addiction. Despite many hopes and promises, experimental research on animal models of drug addiction has had so far only a modest translational impact. This research identified many potential pharmacological targets but no effective treatment for cocaine addiction [69]. Thus, more is clearly needed to improve the predictive validity of preclinical self-administration models in medication development for addiction. In this context, screening medications for their ability to decrease cocaine choice in the small subset of rats that prefer cocaine may better predict their therapeutic efficacy in cocaine-addicted humans.

One of the original goals of the present study was to confirm the weaker value of cocaine, as estimated in the discrete-trials choice procedure, using the classic PR schedule. Paradoxically, we found that though most rats largely prefer sweet water over intravenous cocaine, they nevertheless work harder to obtain the latter than the former. Superficially, this outcome recalls the well-documented “preference reversal” phenomenon in economic decision-making research in humans (i.e., subjects prefer the economic option that they valued less in independent evaluation) [70]. Additional investigation, however, showed that this apparent paradox results from a selective bias in the PR schedule of cocaine self-administration. Contrary to the breakpoint of sweet water which only depends on the value of this reward, the breakpoint of

cocaine depends on two independent effects: the reward value of the scheduled dose of cocaine and the direct stimulant effect of cocaine accumulation on work output or effort production [48,50]. When the latter, value-independent effect of cocaine is minimized by reducing cocaine accumulation with forced spaced trials, the breakpoint of cocaine considerably decreases, a finding that is consistent with previous research in monkeys [49,71]. Importantly, spacing access to sweet water had no similar impact. Thus, the breakpoint of cocaine, as measured in the standard PR schedule, provides a biased overestimate of the value of cocaine that partly explains the apparent discrepancy with the choice procedure. It is possible that with more spaced PR trials (i.e., greater than 10 min), the breakpoint of cocaine could have decreased below that of sweet water – a prediction that warrants further research. This selective bias probably also explains why the breakpoint of cocaine is generally much higher than that of other, non-stimulant drugs (e.g., heroin; nicotine) which nevertheless are equally or even more addictive than cocaine in humans [72–74]. Thus, the present series of experiments unexpectedly reveals that the standard PR schedule is selectively biased in favor of cocaine and is thus less suited than the choice procedure to assess its relative value. Nevertheless, it is worth mentioning here that although the present study demonstrates the importance of cocaine’s stimulant properties in the very high cocaine breakpoints typically achieved in the standard PR schedule, humans tend to self-administer cocaine in a similar binge pattern, with relatively short intervals between successive doses. Thus, perhaps it is most valid, for certain research questions, to study a short inter-dose interval of self-administration in rats, even though the resulting breakpoint reflects both reinforcement and stimulant effects.

Finally, despite many advantages, the choice-based method of identification of individuals that are vulnerable or resilient to drug addiction has also some potential limitations. Perhaps the most important limitation is that lack of drug preference alone is not always sufficient evidence for ruling out cocaine addiction. For instance, in the case of polysubstance addiction, preference for one substance does not rule out addiction to the other substance. It merely indicates that one addiction is stronger than the other. In the present study, if rats happened to be addicted to both sweet water and cocaine, then sweet preference would only indicate that addiction to sweet water is stronger than cocaine addiction. However, though there is growing evidence for food and sugar addiction in both animals and humans [75–78], co-addiction to sweet water and cocaine is unlikely to explain the pattern of cocaine choice reported here. In a previous study, rats with extensive cocaine use shifted their preference to sweet water within only two days and after having drunk less than 5 ml of sweet water [21]. It seems very unlikely that most rats could become addicted to sweet water so rapidly and following such a low level of consumption. In addition, recent estimation in humans suggests that food addiction, like cocaine addiction, would only affect a minority of people [76]. Finally and more generally, one must consider in interpreting the present findings that preference alone is also probably not sufficient evidence for inferring a state of addiction. What also counts is the opportunity costs or negative consequences associated with a preference. For instance, if one demonstrated that female rats systematically prefer their pups over cocaine, one would rightly not consider this preference as reflecting addiction. Maternal preference for pups is a normal, expectable behavior in female rats and the associated renunciation of cocaine use is not a major cost. In contrast, however, if few female rats preferred cocaine to the detriment of the welfare and/or survival of their pups, then one would be founded in interpreting such preference as possible evidence for addiction-

like behavior [79–81]. Indeed, in this case, the opportunity cost is relatively severe as it leads to a reduction in biological fitness. In the present study, preference for cocaine was associated with reduced welfare, as it persisted even when rats were hungry and offered a natural sugar (i.e., sucrose) that could relieve their need of calories. The persistence of cocaine preference in the face of high stakes strongly suggests a state of addiction.

Materials and Methods

Ethics statement

All experiments were carried out in accordance with institutional and international standards of care and use of laboratory animals [UK Animals (Scientific Procedures) Act, 1986; and associated guidelines; the European Communities Council Directive (86/609/EEC, 24 November 1986) and the French Directives concerning the use of laboratory animals (décret 87–848, 19 October 1987)]. All experiments have been approved by the Committee of the Veterinary Services Gironde, agreement number B-33-063-5, 13 June 2006.

Subjects

Naïve, young adult (2 months and a half old at the beginning of experiments), male, Wistar rats ($n=83$, Charles River, France) completed the present study. Rats were housed in groups of two or three and were maintained in a light- (12-h reverse light-dark cycle) and temperature-controlled vivarium (22°C). All behavioral testing occurred during the dark phase of the light-dark cycle. Food and water were freely available in the home cages, except when specified below. Food consisted of standard rat chow A04 (SAFE, Scientific Animal Food and Engineering, Augy, France) that contained 60% of carbohydrates (largely corn starch), 16% of proteins, 12% of water, 5% of minerals, 3% of fat and 4% of cellulose. No synthetic or refined sugar was added.

Apparatus

Twelve identical operant chambers (30×40×36 cm) were used for all behavioral training and testing (Imétronic, France). All chambers were located away from the colony room in a dimly lit room. They were individually enclosed in wooden cubicles equipped with a white noise speaker (45±6 dB) for sound-attenuation and an exhaust fan for ventilation. Each chamber had a stainless-steel grid floor that allowed waste collection in a removable tray containing maize sawdust. Each chamber was constituted of two opaque operant panels on the right and left sides, and two clear Plexiglas walls on the rear and front sides (the front side corresponds to the entry/exit of the chamber). Each operant panel contained an automatically-retractable lever, mounted on the midline and 7 cm above the grid. The left operant panel was also equipped with a retractable, cylinder-shaped drinking spout, 9.5 cm to the left of the lever and 6 cm above the grid. A lickometer circuit allowed monitoring and recording of licking. A white light diode (1.2 cm OD) was mounted 8.51 cm above each lever (from the center of the diode). Each chamber was also equipped with two syringe pumps placed outside, on the top of the cubicle. One syringe pump was controlled by the left lever and delivered water sweetened with saccharin solution into the drinking spout through a silastic tubing (Dow Corning Corporation, Michigan, USA). The other pump was controlled by the right lever and delivered drug solution through a Tygon tubing (Cole Parmer) connected via a single-channel liquid swivel (Lomir biomedical inc., Quebec, Canada) to a cannula connector (Plastics One, Roanoke, VA) on the back of the animal. The Tygon tubing was protected by a stainless-steel

spring (0.3 cm ID, 0.5 cm OD) (Aquitaine Ressort, France) which was suspended at the center of the chamber from the swivel tether connector. Vertical movements of the animal were compensated for by means of a counterbalancing weight-pulley device.

Surgery

Anesthetized rats [chloral hydrate (500 mg/kg, i.p., J-T Baker, The Netherlands) or a mixture of xylazine (15 mg/kg, i.p., Merial, France) and ketamine (110 mg/kg, i.p., Bayer Pharma, France)] were surgically prepared with silastic catheters (Dow Corning Corporation, Michigan, USA) in the right jugular vein that exited the skin in the middle of the back about 2 cm below the scapulae. After surgery, catheters were flushed daily with 0.15 ml of a sterile antibiotic solution containing heparinized saline (280 IU/ml) (Sanofi-Synthelabo, France) and ampicilline (Panpharma, France). When a catheter leakage was suspected, the patency of the catheter was checked by an intravenous administration of etomidate (1 mg/kg, Braun Medical, France), a short-acting non-barbiturate anesthetic. Behavioral testing began 7–10 days after surgery.

Fixed-ratio schedule

Operant- and drug naïve rats were trained under a fixed-ratio 1 (FR1) schedule of saccharin and cocaine self-administration on alternate daily sessions, six days a week. On saccharin sessions, the lever associated with saccharin was extended to mark the onset of the session and to signal saccharin availability; the other lever remained retracted. One lever pressing on the extended lever was rewarded by a 20-s access to water sweetened with 0.2% of sodium saccharin delivered in the adjacent drinking cup and initiated a concomitant 20-s time-out period signaled by the illumination of the cue-light above the lever. During the time-out period, responding had no scheduled consequences. The first 3 s of each 20-s access to sweet water, the drinking cup was filled automatically with sweet water; during the next 17 s, additional volumes of sweet water were obtained on demand by voluntary licking (approximately 0.02 ml per 10 licks). Note that 20 s of access to sweet water is a short access. When given free access to sweet water, rats can drink almost continuously during 20–30 minutes before reaching satiety (Magalie Lenoir and Serge Ahmed, unpublished observations). On cocaine sessions, the lever associated with cocaine was extended to mark the onset of the session and to signal cocaine availability; the lever associated with saccharin remained retracted. One lever pressing on the extended lever was rewarded by one intravenous dose of 0.25 mg cocaine in a volume of 0.15 ml delivered over 4 s and initiated a concomitant 20-s time-out period signaled by the illumination of the cue-light above the lever. During the time-out period, responding had no scheduled consequences. The dose of cocaine has been widely used in previous research on cocaine self-administration, including our own research. Sessions ended after rats had earned a maximum of 30 saccharin or cocaine rewards or 3 h had elapsed.

Progressive-ratio schedule

Following training in the FR schedule, rats were tested under a linear progressive-ratio (PR) schedule of saccharin or cocaine self-administration on alternate daily sessions, six days a week. All experimental conditions were identical to those used in the FR schedule, except that the response requirement or cost was increased within-session by a constant increment of 3 following each sweet or cocaine reward (i.e., 1, 4, 7, 10...). PR sessions terminated after 30 min had elapsed without a reward or 4 h had elapsed. After stabilization of performance, PR sessions ceased within 3 h for most rats (i.e., over 90%). The break point was defined as the last completed response requirement and corre-

sponded to the total number of rewards earned during the PR session.

Discrete-trials choice procedure

Rats were allowed to choose during several consecutive daily sessions between the lever associated with cocaine (lever C) and the lever associated with water sweetened with saccharin (lever S) on a discrete-trials choice procedure. Each daily choice session consisted of 12 discrete trials, spaced by 10 min, and divided into two successive phases, sampling (4 trials) and choice (8 trials). During sampling, each trial began with the presentation of one single lever in this alternative order: C – S – C – S. Lever C was presented first to prevent an eventual drug-induced taste aversion conditioning or negative affective contrast effects. If rats responded within 5 min on the available lever, they were rewarded by the corresponding reward (i.e., 0.25 mg cocaine delivered intravenously or 20-s access to water sweetened with 0.2% saccharin, as described above). Reward delivery was signaled by retraction of the lever and a 40-s illumination of the cue-light above this lever. If rats failed to respond within 5 min, the lever retracted and no cue-light or reward was delivered. Thus, during sampling, rats were allowed to separately evaluate each reward before making their choice. During choice, each trial began with the simultaneous presentation of both levers S and C. Rats had to select one of the two levers. During choice, reward delivery was signaled by retraction of both levers and a 40-s illumination of the cue-light above the selected lever. If rats failed to respond on either lever within 5 min, both levers retracted and no cue-light or reward was delivered. The response requirement of each reward was set to 2 consecutive responses to avoid eventual accidental choice. A response on the alternate lever before satisfaction of the response requirement reset it. Response resetting occurred very rarely, however.

Quantitative assessment of the relative value of cocaine: between-session determination

After stabilization of preference (i.e., no increasing or decreasing trends over 3 consecutive days), the number of responses or cost required to obtain water sweetened with saccharin – the preferred reward – was gradually incremented between sessions from 1 to 16 times that for cocaine which remained constant (i.e., 2 responses per reward). The goal was to produce a shift in preference to measure the point of indifference (or subjective equality) between the 2 rewards. Each level of cost was tested for at least 5 consecutive sessions and until stabilization of choice performance. The point of indifference between the 2 rewards was estimated by fitting the (group-average) cost-effect curve with a normal (i.e., three-parameter) sigmoid function (least-squares non-linear regressions, Sigmaplot 2002, version 8.02). For curve fitting, data were expressed in percentage of cocaine choices with the maximum set at 100%. Graphically, the indifference point corresponds thus to the relative cost of the alternative at which the fitted curve crosses the indifference line of 50%.

Quantitative assessment of the relative value of cocaine: within-session determination

After stabilization of preference, the relative cost of sweet water – the preferred reward – was gradually increased in a within-session manner every 4 choice trials. In the first within-session cost-effect analysis which was conducted in the same rats following the between-session analysis, there were a total of 16 discrete choice trials, corresponding to 4 levels of cost of sweet water: 1, 4, 8 and 16 times the cost of cocaine in this order. In all subsequent within-session cost-effect analyses, each daily session consisted of 4

sampling trials, as in the standard procedure, followed by 20 discrete choice trials, corresponding to 5 levels of relative cost: 1, 2, 4, 8 and 16 times the cost of cocaine in this order. Otherwise experimental conditions were identical to those in the standard choice procedure. For each tested variable (e.g., saccharin concentration), rats were tested for at least 5 consecutive sessions and until stabilization of the within-session cost-effect curve. The point of indifference between cocaine and sweet water was estimated by curve fitting as described above.

Retrospective analysis of the frequency of cocaine-preferring individuals

Over the past 5 years, a total of 184 rats belonging to 13 independent cohorts were tested in the choice procedure described above during at least 5 consecutive daily sessions until behavioral stabilization (i.e., 3 consecutive sessions with more than 50% of completed choice trials [range: 58 to 100%; median: 100] and without decreasing or increasing trends in preference score; see also, Data Analysis). Data from some of these rats were published elsewhere [21], though not under this form (i.e., frequencies) and not as a function of past cocaine use. These rats had a wide variety of history of cocaine self-administration before choice testing, ranging from no prior exposure to extended exposure to cocaine self-administration. As a result, the amount of self-administered cocaine ranged from 0 to 486 mg (or approximately 1388 mg/kg) and defined 5 levels of severity: 0 ($n = 43$), 1–75 ($n = 66$), 76–150 ($n = 52$), 151–225 ($n = 10$), >226 mg ($n = 13$). Then, we estimated the frequency of cocaine-preferring rats by counting for each degree of severity the number of individuals with a preference score below 0 (i.e., cocaine choices >50% of trials over 3 stable sessions; see Data Analysis).

Drugs

Cocaine hydrochloride (Coopération Pharmaceutique Française, France) was dissolved in 500-ml sterile bags of 0.9% NaCl and kept at room temperature ($21 \pm 2^\circ\text{C}$). Drug doses were expressed as the weight of the salt. Sodium saccharin (Sigma-Aldrich, France) or sucrose (Sigma-Aldrich, France) was dissolved in tap water at room temperature ($21 \pm 2^\circ\text{C}$). Sweet solutions were renewed each day.

Data Analysis

The indifference level between water sweetened with saccharin (or sucrose) and cocaine was conveniently normalized at 0 in the discrete-trials choice procedure. Scores above 0 indicated a preference for the nondrug alternative (i.e., selection of this reward >50% of completed choice trials) while scores below 0 indicated a preference for cocaine (i.e., selection of this reward >50% of completed choice trials). In the PR schedule, scores correspond to the difference in breakpoints between the nondrug alternative and cocaine. Individuals with a PR score between -3 and $+3$ (i.e., corresponding to a difference of one step size in the PR3 schedule) were considered to work equally for both types of reward. Statistical analyses were run using Statistica, version 7.1 (Statsoft, Inc France).

Acknowledgments

We thank Anne Fayoux and Stephane Lelgouach for animal care, Pierre Gonzalez for technical assistance, Marie-Hélène Bruyères for administrative assistance, Christian Darrack for his help with data extraction and Alain Labarriere for house-keeping assistance. We also thank Drs. Sallouha Aidoudi, Karyn Guillem and Kevin Freeman for their comments on a previous draft and Prs. Bernard Bioulac and Michel Le Moal for general

support. Finally, we thank the two anonymous reviewers for their thoughtful and constructive comments.

Author Contributions

Conceived and designed the experiments: SHA. Performed the experiments: LC ML EA NV SD FS CV SHA. Analyzed the data: LC ML EA

NV SHA. Contributed reagents/materials/analysis tools: SHA. Wrote the paper: SHA. Helped with designing the experiments: LC ML EA NV. Provided critical comments and materials for the paper: LC ML EA NV SD FS CV.

References

- Dackis CA, Gold MS (1985) New concepts in cocaine addiction: the dopamine depletion hypothesis. *Neurosci Biobehav Rev* 9: 469–477.
- Gawin FH (1991) Cocaine addiction: psychology and neurophysiology. *Science* 251: 1580–1586.
- Redish AD (2004) Addiction as a computational process gone awry. *Science* 306: 1944–1947.
- Van Dyck C, Byck R (1982) Cocaine. *Scientific American* 246: 128–141.
- Volkow ND, Wise RA (2005) How can drug addiction help us understand obesity? *Nat Neurosci* 8: 555–560.
- Di Chiara G (1999) Drug addiction as dopamine-dependent associative learning disorder. *Eur J Pharmacol* 375: 13–30.
- Davidson ES, Finch JF, Schenk S (1993) Variability in subjective responses to cocaine: initial experiences of college students. *Addict Behav* 18: 445–453.
- Haertzen CA, Kocher TR, Miyasato K (1983) Reinforcements from the first drug experience can predict later drug habits and/or addiction: results with coffee, cigarettes, alcohol, barbiturates, minor and major tranquilizers, stimulants, marijuana, hallucinogens, heroin, opiates and cocaine. *Drug Alcohol Depend* 11: 147–165.
- Lambert NM, McLeod M, Schenk S (2006) Subjective responses to initial experience with cocaine: an exploration of the incentive-sensitization theory of drug abuse. *Addiction* 101: 713–725.
- Sofuoglu M, Brown S, Dudish-Poulsen S, Hatsukami DK (2000) Individual differences in the subjective response to smoked cocaine in humans. *Am J Drug Alcohol Abuse* 26: 591–602.
- Goldstein RZ, Woicik PA, Moeller SJ, Telang F, Jayne M, et al. (2010) Liking and wanting of drug and non-drug rewards in active cocaine users: the STRAP-R questionnaire. *J Psychopharmacol* 24: 257–266.
- Volkow ND, Wang GJ, Fowler JS, Logan J, Gatley SJ, et al. (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, Fowler JS, Thanos PP, Logan J, et al. (2002) Brain DA D2 receptors predict reinforcing effects of stimulants in humans: replication study. *Synapse* 46: 79–82.
- Pickens R, Thompson T (1968) Cocaine-reinforced behavior in rats: effects of reinforcement magnitude and fixed-ratio size. *J Pharmacol Exp Ther* 161: 122–129.
- 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 (2010) Validation crisis in animal models of drug addiction: Beyond non-disordered drug use toward drug addiction. *Neurosci Biobehav Rev* in press.
- Weeks JR (1962) Experimental morphine addiction: method for automatic intravenous injections in unrestrained rats. *Science* 138: 143–144.
- Christensen CJ, Kohut SJ, Handler S, Silberberg A, Riley AL (2009) Demand for food and cocaine in Fischer and Lewis rats. *Behav Neurosci* 123: 165–171.
- Christensen CJ, Silberberg A, Hursh SR, Huntsberry ME, Riley AL (2008) Essential value of cocaine and food in rats: tests of the exponential model of demand. *Psychopharmacology (Berl)* 198: 221–229.
- Christensen CJ, Silberberg A, Hursh SR, Roma PG, Riley AL (2008) Demand for cocaine and food over time. *Pharmacol Biochem Behav* 91: 209–216.
- Lenoir M, Serre F, Cantin L, Ahmed SH (2007) Intense sweetness surpasses cocaine reward. *PLoS One* 2: e698.
- Carroll ME, Lac ST (1993) Autoshaping i.v. cocaine self-administration in rats: effects of nondrug alternative reinforcers on acquisition. *Psychopharmacology (Berl)* 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.
- Haney M (2009) Self-administration of cocaine, cannabis and heroin in the human laboratory: benefits and pitfalls. *Addict Biol* 14: 9–21.
- Nader MA, Woolverton WL (1991) Effects of increasing the magnitude of an alternative reinforcer on drug choice in a discrete-trials choice procedure. *Psychopharmacology (Berl)* 105: 169–174.
- Higgins ST, Bickel WK, Hughes JR (1994) Influence of an alternative reinforcer on human cocaine self-administration. *Life Sci* 55: 179–187.
- Speelman RD (1979) Behavior maintained by termination of a schedule of self-administered cocaine. *Science* 204: 1231–1233.
- Vanderschuren LJ, Kalivas PW (2000) Alterations in dopaminergic and glutamatergic transmission in the induction and expression of behavioral sensitization: a critical review of preclinical studies. *Psychopharmacology (Berl)* 151: 99–120.
- Ahmed SH, Koob GF (1998) Transition from moderate to excessive drug intake: change in hedonic set point. *Science* 282: 298–300.
- Paterson NE, Markou A (2003) Increased motivation for self-administered cocaine after escalated cocaine intake. *Neuroreport* 14: 2229–2232.
- Vanderschuren LJ, Everitt BJ (2004) Drug seeking becomes compulsive after prolonged cocaine self-administration. *Science* 305: 1017–1019.
- 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 (Berl)* 189: 1–16.
- Kalivas PW (2009) The glutamate homeostasis hypothesis of addiction. *Nat Rev Neurosci* 10: 561–572.
- Shalev U, Grimm JW, Shaham Y (2002) Neurobiology of relapse to heroin and cocaine seeking: a review. *Pharmacol Rev* 54: 1–42.
- Kippin TE, Fuchs RA, See RE (2006) Contributions of prolonged contingent and noncontingent cocaine exposure to enhanced reinstatement of cocaine seeking in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 187: 60–67.
- Knackstedt LA, Kalivas PW (2007) Extended access to cocaine self-administration enhances drug-primed reinstatement but not behavioral sensitization. *J Pharmacol Exp Ther* 322: 1103–1109.
- Mantsch JR, Yuforov V, Mathieu-Kia AM, Ho A, Kreek MJ (2004) Effects of extended access to high versus low cocaine doses on self-administration, cocaine-induced reinstatement and brain mRNA levels in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 175: 26–36.
- Ahmed SH, Cador M (2006) Dissociation of psychomotor sensitization from compulsive cocaine consumption. *Neuropsychopharmacology* 31: 563–571.
- Ahmed SH (2009) Escalation of drug use. In: Olmstead MC, ed. *Neuromethods: Animal Models of Drug Addiction* Humana press, Inc. Vol in press.
- Hollard V, Davison MC (1971) Preference for qualitatively different reinforcers. *J Exp Anal Behav* 16: 375–380.
- Miller HL (1976) Matching-based hedonic scaling in the pigeon. *J Exp Anal Behav* 26: 335–347.
- Hodos W (1961) Progressive ratio as a measure of reward strength. *Science* 134: 943–944.
- Richardson NR, Roberts DC (1996) Progressive ratio schedules in drug self-administration studies in rats: a method to evaluate reinforcing efficacy. *J Neurosci Methods* 66: 1–11.
- Stafford D, LeSage MG, Glowa JR (1998) Progressive-ratio schedules of drug delivery in the analysis of drug self-administration: a review. *Psychopharmacology (Berl)* 139: 169–184.
- Russ BE, Cohen YE (2009) Rhesus monkeys' valuation of vocalizations during a free-choice task. *PLoS One* 4: e7834.
- Mazur JE (1991) Choice. In: Iverson IH, Lattal KA, eds. *Techniques in the behavioral and neural sciences: Experimental analysis of behavior, Part 1*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers BV. pp 219–250.
- Grimm JW, Hope BT, Wise RA, Shaham Y (2001) Neuroadaptation. Incubation of cocaine craving after withdrawal. *Nature* 412: 141–142.
- Brown G, Stephens DN (2002) Effects of cocaine on responding for ethanol or sucrose under a progressive ratio schedule. *Behav Pharmacol* 13: 157–162.
- Martelle JL, Czoty PW, Nader MA (2008) Effect of time-out duration on the reinforcing strength of cocaine assessed under a progressive-ratio schedule in rhesus monkeys. *Behav Pharmacol* 19: 743–746.
- Poncelet M, Chermat R, Soubrie P, Simon P (1983) The progressive ratio schedule as a model for studying the psychomotor stimulant activity of drugs in the rat. *Psychopharmacology (Berl)* 80: 184–189.
- Scalfani A (2001) Post-ingestive positive controls of ingestive behavior. *Appetite* 36: 79–83.
- Carroll ME, Lac ST (1997) Acquisition of i.v. amphetamine and cocaine self-administration in rats as a function of dose. *Psychopharmacology (Berl)* 129: 206–214.
- Elsmore TF, Fletcher GV, Conrad DG, Soderet FJ (1980) Reduction of heroin intake in baboons by an economic constraint. *Pharmacol Biochem Behav* 13: 729–731.
- Aigner TG, Balster RL (1978) Choice behavior in rhesus monkeys: cocaine versus food. *Science* 201: 534–535.
- Fitch TE, Roberts DC (1993) The effects of dose and access restrictions on the periodicity of cocaine self-administration in the rat. *Drug Alcohol Depend* 33: 119–128.
- Ahmed SH, Kenny PJ, Koob GF, Markou A (2002) Neurobiological evidence for hedonic allostasis associated with escalating cocaine use. *Nat Neurosci* 5: 625–626.
- Negus SS (2003) Rapid assessment of choice between cocaine and food in rhesus monkeys: effects of environmental manipulations and treatment with d-amphetamine and flupentixol. *Neuropsychopharmacology* 28: 919–931.
- Negus SS (2005) Effects of punishment on choice between cocaine and food in rhesus monkeys. *Psychopharmacology (Berl)* 181: 244–252.

59. Anthony JC, Warner LA, Kessler RC (1994) Comparative epidemiology of dependence on tobacco, alcohol, controlled substances, and inhalants: Basic findings from the National Comorbidity Survey. *Experimental and Clinical Psychopharmacology* 2: 224–268.
60. Degenhardt L, Bohnert KM, Anthony JC (2008) Assessment of cocaine and other drug dependence in the general population: “gated” versus “ungated” approaches. *Drug Alcohol Depend* 93: 227–232.
61. Reboussin BA, Anthony JC (2006) Is there epidemiological evidence to support the idea that a cocaine dependence syndrome emerges soon after onset of cocaine use? *Neuropsychopharmacology* 31: 2055–2064.
62. Robins LN (1993) The sixth Thomas James Okey Memorial Lecture. Vietnam veterans’ rapid recovery from heroin addiction: a fluke or normal expectation? *Addiction* 88: 1041–1054.
63. Robins LN, Davis DH, Goodwin DW (1974) Drug use by U.S. Army enlisted men in Vietnam: a follow-up on their return home. *Am J Epidemiol* 99: 235–249.
64. Voon V, Fernagut PO, Wickens J, Baunez C, Rodriguez M, et al. (2009) Chronic dopaminergic stimulation in Parkinson’s disease: from dyskinesias to impulse control disorders. *Lancet Neurol* 8: 1140–1149.
65. Evans AH, Lees AJ (2004) Dopamine dysregulation syndrome in Parkinson’s disease. *Curr Opin Neurol* 17: 393–398.
66. Deroche-Gamonet V, Belin D, Piazza PV (2004) Evidence for addiction-like behavior in the rat. *Science* 305: 1014–1017.
67. Belin D, Mar AC, Dalley JW, Robbins TW, Everitt BJ (2008) High impulsivity predicts the switch to compulsive cocaine-taking. *Science* 320: 1352–1355.
68. Walsh SL, Donny EC, Nuzzo PA, Umbricht A, Bigelow GE (2010) Cocaine abuse versus cocaine dependence: cocaine self-administration and pharmacodynamic response in the human laboratory. *Drug Alcohol Depend* 106: 28–37.
69. Koob GF, Kenneth Lloyd G, Mason BJ (2009) Development of pharmacotherapies for drug addiction: a Rosetta stone approach. *Nat Rev Drug Discov* 8: 500–515.
70. Tversky A, Kahneman D (1981) The framing of decisions and the psychology of choice. *Science* 211: 453–458.
71. Woolverton WL, Ranaldi R, Wang Z, Ordway GA, Paul IA, et al. (2002) Reinforcing strength of a novel dopamine transporter ligand: pharmacodynamic and pharmacokinetic mechanisms. *J Pharmacol Exp Ther* 303: 211–217.
72. Anthony JC (2002) Epidemiology of drug dependence. In: Davis KL, Charney D, Coyle JT, Nemeroff C, eds. *Neuropsychopharmacology: the fifth generation of progress*. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins. pp 1557–1573.
73. Hughes JR, Helzer JE, Lindberg SA (2006) Prevalence of DSM/ICD-defined nicotine dependence. *Drug Alcohol Depend* 85: 91–102.
74. Nutt D, King LA, Saulsbury W, Blakemore C (2007) Development of a rational scale to assess the harm of drugs of potential misuse. *Lancet* 369: 1047–1053.
75. Avena NM, Rada P, Hoebel BG (2008) Evidence for sugar addiction: behavioral and neurochemical effects of intermittent, excessive sugar intake. *Neurosci Biobehav Rev* 32: 20–39.
76. Gearhardt AN, Corbin WR, Brownell KD (2009) Preliminary validation of the Yale Food Addiction Scale. *Appetite* 52: 430–436.
77. Rogers PJ, Smit HJ (2000) Food craving and food “addiction”: a critical review of the evidence from a biopsychosocial perspective. *Pharmacol Biochem Behav* 66: 3–14.
78. Pelchat ML (2009) Food addiction in humans. *J Nutr* 139: 620–622.
79. Mattson BJ, Williams S, Rosenblatt JS, Morrell JI (2001) Comparison of two positive reinforcing stimuli: pups and cocaine throughout the postpartum period. *Behav Neurosci* 115: 683–694.
80. Mattson BJ, Williams SE, Rosenblatt JS, Morrell JI (2003) Preferences for cocaine- or pup-associated chambers differentiates otherwise behaviorally identical postpartum maternal rats. *Psychopharmacology (Berl)* 167: 1–8.
81. Seip KM, Pereira M, Wansaw MP, Reiss JL, Dziopa EI, et al. (2008) Incentive salience of cocaine across the postpartum period of the female rat. *Psychopharmacology (Berl)* 199: 119–130.

ARTICLE 3

Le diazépam favorise le choix de l'abstinence à la cocaïne chez le rat

Contexte : Lorsqu'ils font face à un choix entre la cocaïne et une récompense alternative puissante, bien qu'inessentielle biologiquement, la grande majorité des rats choisissent de s'abstenir de prendre de la cocaïne en faveur de la solution sucrée de saccharine, quels que soient la dose et le degré d'exposition préalable des animaux à la drogue. Seule une minorité d'animaux continue à prendre de la drogue malgré la disponibilité d'une option alternative, suggérant ainsi que la majorité des rats serait résiliente à l'addiction à la cocaïne, la consommant par défaut d'autres options valables.

But de l'étude : Cette étude a pour but de tester l'hypothèse selon laquelle la majorité des rats se détournerait de la drogue en raison des propriétés ambivalentes (à la fois récompensante et anxiogène) de la cocaïne.

Méthodologie : En utilisant une procédure de choix discret, nous avons testé l'effet du diazépam (une benzodiazépine couramment utilisée possédant des propriétés anxiolytiques), injecté par la voie sous-cutanée ou en intraveineux, sur le comportement de rats faisant face à un choix entre la cocaïne et une solution sucrée de saccharine.

Principaux résultats : Contrairement à l'hypothèse d'étude, nous avons observé que le diazépam ne diminue pas, mais au contraire augmente le choix de la récompense alternative. Bien que le diazépam entraîne une diminution de la locomotion des animaux, les rats se sont adaptés à cet effet en passant plus de temps proche du levier associé avec leur récompense préférée, un comportement qui minimise l'obligation de se mouvoir au moment du choix. De plus, en analysant séparément la réponse des animaux pour la cocaïne ou la saccharine, nous avons découvert que le diazépam diminue la réponse pour la drogue sans affecter celle pour l'eau sucrée. Enfin, les effets en faveur de l'abstinence induite par le diazépam ont aussi été observés chez des rats dont la préférence initiale était la cocaïne à la suite d'un traitement chronique à l'anxiolytique.

Conclusion : Nos résultats démontrent clairement que le comportement d'abstinence observé dans notre protocole de choix ne peut être expliqué par l'existence d'effets anxiogènes de la cocaïne, renforçant ainsi la possible existence d'une résilience à l'addiction chez le rat. De plus, la modification de la préférence observée chez des rats choisissant initialement la drogue à la suite d'un traitement chronique au diazépam penche en faveur de l'utilisation des benzodiazépines (celles dépourvues de potentiel addictif) dans le traitement de l'addiction à la cocaïne.

Diazepam promotes choice of abstinence in cocaine self-administering rats

Eric Augier^{1,2}, Caroline Vouillac^{1,2} & Serge H. Ahmed^{1,2}

Université de Bordeaux, Institut des Maladies Neurodégénératives, France¹ and CNRS, Institut des Maladies Neurodégénératives, France²

ABSTRACT

When facing a choice between cocaine and a potent, albeit inessential, non-drug alternative (i.e. water sweetened with saccharin), most cocaine self-administering rats abstain from cocaine in favor of the non-drug pursuit, regardless of the dose available and even after extended drug use. Only a minority continues to take the drug despite the opportunity of making a different choice and increasing stakes. This pattern of individual variation could suggest that the majority of rats are resilient to addiction, taking cocaine by default of other options. Only a minority would be vulnerable to addiction. This study tested the hypothesis that rats choose to refrain from cocaine self-administration because cocaine would be conflictual, having both rewarding and anxiogenic properties. Contrary to this hypothesis, however, we report here that diazepam—a broad-spectrum benzodiazepine anxiolytic—did not decrease, but instead, further increased cocaine abstinence. Interestingly, although diazepam decreased locomotion, rats adapted to this effect by spending more time near the lever associated with the preferred reward, a behavior that minimized the need for locomotion at the moment of choice. When responding for cocaine or saccharin was analyzed separately, we found that diazepam decreased responding for cocaine without affecting responding for saccharin. Finally, the abstinence-promoting effects of diazepam were also induced in cocaine-preferring rats treated chronically with diazepam. Overall, this study demonstrates that abstinence from cocaine cannot be explained away by the anxiogenic effects of cocaine, thereby reinforcing the notion of resilience to addiction. It also supports the use of benzodiazepines in the treatment of cocaine addiction.

Keywords Abstinence, addiction, benzodiazepine, choice, cocaine, self-control.

Correspondence to: Serge H. Ahmed, Institut des Maladies Neurodégénératives—CNRS UMR 5293, Université Victor Segalen-Bordeaux 2, 146 rue Léo-Saignat, 33076 Bordeaux, France. E-mail: sahmed@u-bordeaux2.fr

INTRODUCTION

The transition to cocaine addiction is characterized by a progression towards compulsive drug use to the detriment of other socially valued behavioral choices despite negative consequences. According to current epidemiological evidence, this transition only affects a minority of cocaine users (i.e. 12–16%), suggesting that the remaining majority would be resilient to cocaine addiction (Anthony, Warner & Kessler 1994; Anthony 2002; Degenhardt, Bohnert & Anthony 2008). Over the past 10 years, several innovative attempts have been made to better model the transition to cocaine addiction in non-human animals, particularly in rats, with the goal to study the underlying neurobiology (Ahmed & Koob 1998; Deroche-Gamonet, Belin & Piazza 2004; Vanderschuren & Everitt 2004; Roberts, Morgan & Liu 2007; Belin *et al.* 2008). Whether these efforts succeeded

to model the loss of control over cocaine self-administration—a quintessential feature of the concept of addiction as a psychiatric disorder—remains uncertain, however (Ahmed 2010). This incertitude is largely because of the lack of choice during access to cocaine self-administration. Without the possibility of alternative choice, it is indeed difficult, not to say intractable, to decide whether rats take cocaine by compulsion or merely by default of other rewarding options (Hyman & Malenka 2001; Ahmed 2010). Obviously, in the latter case, cocaine intake would merely represent a normal, 'expectable response' to an abnormal situation (i.e. lack of choice) and should thus not be considered compulsive (i.e. determined by an uncontrollable underlying dysfunction within the individual) (Wakefield 2007; Martin, Chung & Langenbucher 2008).

As it turns out, we recently found (to our initial surprise) that when cocaine self-administering rats face a

mutually exclusive choice between cocaine and a potent, albeit biologically inessential, non-drug reward (i.e. water sweetened with saccharin), most of them (i.e. 85–94%) readily choose to refrain from cocaine use in favor of the other option, despite robust drug sensitization and even following extended and escalated cocaine self-administration (Lenoir *et al.* 2007; Cantin *et al.* 2010)—a finding that extends previous research on concurrent choice in rats (Carroll, Lac & Nygaard 1989; Carroll & Lac 1993). Only a minority of rats (i.e. fewer than 15% at the highest degree of severity of drug use) continues to take cocaine despite the opportunity to engage in an alternative behavior. These few cocaine-preferring rats continue to take cocaine even when hungry and offered a non-drug option that could relieve their need of calories (i.e. sucrose). Persistence of cocaine use and preference despite choice and increasing stakes or opportunity costs strongly suggests compulsive cocaine use (Cantin *et al.* 2010) and is reminiscent of the drug preference of cocaine-dependent people in laboratory choice studies (Haney 2009; Walsh *et al.* 2010). Importantly, the large majority of cocaine self-administering rats does not refrain from cocaine use because the available dose of cocaine is too low. Gradually increasing the dose of cocaine up to the subconvulsive dose of 1.5 mg per injection (corresponding roughly to 3.3 mg/kg) has no or little effect on cocaine choice, even after a history of extended access to cocaine (Lenoir *et al.* 2007). This lack of dose-dependent effect on cocaine choice shows that for most cocaine self-administering rats, the value of cocaine is bounded with a maximum lower than the value of the available option (i.e. sweet water). In support of this interpretation, we found that cocaine choice increases when the magnitude of the non-drug option is decreased or when its relative cost is increased (Cantin *et al.* 2010). However, for most rats, it takes a large decrease in magnitude or a large increase in cost to shift preference to cocaine. Given that rats choose to refrain from cocaine for another pursuit and not because they are forced to do so, we consider thereafter this choice as a form of abstinence. In humans, abstinence generally involves the act of refraining from drug use to engage in other activities.

Though extrapolation to humans is always delicate, this pattern of individual variation in rats (cocaine abstinence in the majority versus cocaine preference in a minority) nevertheless fits the known epidemiology of cocaine addiction (Anthony 2002). It is thus plausible to hypothesize that only a minority of vulnerable rats would take cocaine by compulsion (i.e. despite the possibility of choice and significant opportunity costs). The remaining majority of cocaine self-administering rats would be resilient to addiction, taking the drug merely out of a lack of choice and abstaining when another valuable pursuit is

available. Resilience to drug addiction has long been suspected in humans but could not be firmly established, mostly because of methodological difficulties in controlling for differential drug exposure and/or availability between non-addicted and addicted drug users (Ahmed 2010). Obviously, if confirmed, the notion of resilience to cocaine addiction in rats will have important implications for future animal research on the neuropsychopharmacology of addiction and on medication development for addiction (see also the Discussion section). Alternatively, however, abstinence from cocaine in rats can also be explained away by the unique ambivalent or conflictual effects of cocaine as opposed to non-drug rewards. Several lines of evidence indicate that in addition to its well-established rewarding action, acute cocaine can also be anxiogenic in rats, at least in initially drug-naïve individuals or in individuals with limited exposure to drug self-administration (see the Discussion section). First, cocaine activates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in rats, thereby increasing blood concentrations of the stress steroid hormone corticosterone (Moldow & Fischman 1987; Rivier & Vale 1987; Borowsky & Kuhn 1991). This hormonal effect is attenuated by pre-treatment with a benzodiazepine anxiolytic (Yang *et al.* 1992). Second, cocaine can also increase behavioral signs of anxiety in fear-inducing experimental situations (Fontana & Commissaris 1989; Rogerio & Takahashi 1992; Yang *et al.* 1992; DeVries & Pert 1998; Blanchard & Blanchard 1999; Paine, Jackman & Olmstead 2002). These anxiogenic effects are reduced or abolished by pre-treatment with different anxiolytic drugs, including diazepam, a broad-spectrum benzodiazepine anxiolytic (Yang *et al.* 1992; Paine *et al.* 2002). Third, cocaine induces interoceptive sensations that mimic those evoked by a stressful situation (Mantsch & Goeders 1998) or by an intensely anxiogenic substance (Shearman & Lal 1981). This anxiety-like internal state is significantly blocked by pre-treatment with diazepam (Shearman & Lal 1981). Fourth, rats also show an approach-avoidance conflict towards cocaine in the runway self-administration model (Ettenberg & Geist 1991), a conflictual behavior that is, once again, abolished by pre-treatment with diazepam or other anxiolytic drugs, such as ethanol (Ettenberg & Geist 1991; Knackstedt & Ettenberg 2005). In our choice procedure, we also found some possible evidence for the anxiogenic effects of cocaine during pre-choice sampling trials. During these trials, rats are forced to respond for each reward alternatively to learn its respective value before making their choice. In initially drug-naïve rats, response latencies for cocaine were longer than response latencies for the alternative reward (Lenoir *et al.* 2007). Although this large difference in sampling latencies can be classically interpreted as evidence for the relatively weak rewarding value of cocaine in rats, it could also

reflect an approach-avoidance conflict similar to that seen in the runway self-administration model.

The primary goal of the present study was to test the possible contribution of the anxiogenic effects of cocaine to cocaine abstinence in the majority of rats. To this end, we measured the effects of different doses of diazepam on choice between cocaine [0.25 mg, intravenous (i.v.)] and water sweetened with saccharin (0.2%) in cocaine self-administering rats. Diazepam, like other non-selective benzodiazepines, acts as a positive allosteric modulator that enhances brain GABA_A receptor function (Mohler, Fritschy & Rudolph 2002). The anxiolytic properties of diazepam have been well-documented in rats using a variety of behavioral assays (Treit 1985; Geist & Ettenberg 1997). In addition and as already mentioned earlier, diazepam can also prevent the anxiogenic effects of cocaine in different situations, including in the runway self-administration model (Ettenberg & Geist 1991; Paine *et al.* 2002). Thus, if the anxiogenic effects of cocaine played a critical role in determining why rats choose to avoid cocaine when offered a choice, then diazepam should dose-dependently increase cocaine choice and even shift preference towards cocaine. For purposes of comparison, we also tested the effects of chronic diazepam on cocaine choice in a few cocaine-preferring rats. Finally, the dose of cocaine tested in the present study (0.25 mg per injection) has been extensively used in previous research on cocaine self-administration in rats (Ahmed 2010), including our own initial choice experiments (Lenoir *et al.* 2007; Cantin *et al.* 2010). Note, however, that as mentioned earlier, higher doses of cocaine had no or little effect on cocaine choice in the majority of rats, even after extensive cocaine use (Lenoir *et al.* 2007).

MATERIALS AND METHODS

Subjects

Twelve male Wistar rats (Charles River, L'arbresle, France, 353–464 g at the beginning of the experiment) completed the present study. Rats were housed in groups of three and were maintained in a light- (12-hour reverse light–dark cycle) and temperature-controlled vivarium (23°C). All behavioral testing occurred during the dark phase of the light–dark cycle. Food and water were freely available in the home cages throughout the duration of the experiment (i.e. rats were neither food- nor water-restricted) and consisted of standard rat chow A04 (SAFE, Scientific Animal Food and Engineering, Augy, France) that contained 60% carbohydrates (largely corn starch), 16% proteins, 12% water, 5% minerals, 3% fat and 4% cellulose. No synthetic or refined sugar was added. All experiments were carried out in accordance with institutional and international standards of care

and use of laboratory animals [UK Animals (Scientific Procedures) Act, 1986; and associated guidelines; the European Communities Council Directive (86/609/EEC, 24 November 1986) and the French Directives Concerning the Use of Laboratory Animals (décret 87-848, 19 October 1987)]. All experiments have been approved by the Committee of the Veterinary Services Gironde, agreement number B-33-063-5, 13 June 2006.

Apparatus

Twelve identical operant chambers (30 × 40 × 36 cm) were used for all behavioral training and testing (Imétronic, Pessac, France). All chambers were located away from the colony room in a dimly lit room. They were individually enclosed in wooden cubicles equipped with a white noise speaker (45 ± 6 dB) for sound attenuation and an exhaust fan for ventilation. Each chamber had a stainless steel grid floor that allowed waste collection in a removable tray containing maize sawdust. Each chamber was constituted of two opaque operant panels on the right and left sides, and two clear polycarbonate walls on the rear and front sides (the front side corresponds to the entry/exit of the chamber). Each operant panel contained an automatically retractable lever, mounted on the midline and 7 cm above the grid. The left operant panel was also equipped with a retractable, cylinder-shaped drinking spout, 9.5 cm to the left of the lever and 6 cm above the grid. A commercially available lickometer circuit (Imétronic) allowed monitoring and recording of licking. A white light diode [1.2 cm outer diameter (OD)] was mounted 8.5 cm above each lever (from the center of the diode). Each chamber was also equipped with two syringe pumps placed outside, on the top of the cubicle. One syringe pump was controlled by one lever and delivered water sweetened with 0.2% saccharin solution into the drinking spout through a Silastic tubing (Dow Corning Corporation, MI, USA) whereas the other pump was controlled by the other lever and delivered drug solution through a Tygon tubing (Cole Parmer, Vernon Hills, IL, USA) connected via a single-channel liquid swivel (Lomir Biomedical Inc., Quebec, Canada) to a cannula connector (Plastics One, Roanoke, VA, USA) on the back of the animal. The Tygon tubing was protected by a stainless steel spring (0.3 cm inner diameter (ID), 0.5 cm OD; Aquitaine Ressort, Beychac-Et-Caillau, France) which was suspended at the center of the chamber from the swivel tether connector. Vertical movements of the animal were compensated for by means of a counterbalancing weight-pulley device. Finally, each operant chamber was also equipped with two pairs of infrared beams 2 cm above the grid floor (Imétronic). Both pairs crossed the chamber on its length axis and were separated from each other by 16 cm and from the right or left wall by 12 cm. As a result, they defined two sides: the side of the drug-paired lever

and the side of the saccharin-paired lever. The number of consecutive interruptions of the two beams served as a proxy for forward locomotion across the two sides of the chamber (i.e. crossovers). The duration of interruptions of each infrared beam served also as a proxy for the amount of time spent in the corresponding side of the chamber.

Behavioral training

Before assessing the effects of diazepam on cocaine choice, naïve rats were trained and tested in a novel choice procedure that will be reported elsewhere (Augier & Ahmed, unpublished). Briefly, rats were first trained on 40 alternate daily sessions to lever press to self-administer either water sweetened with saccharin (0.2%) or i.v. cocaine (0.25 mg corresponding to about 0.65 mg/kg for an average body weight of 400 g) under a fixed-ratio 2 (FR2) schedule (i.e. two responses result in one reward), as described previously (Cantin *et al.* 2010). One lever was associated with cocaine reward (lever C), the other with saccharin reward (lever S). Sessions ended after rats had earned a maximum of 30 saccharin or cocaine rewards, or 3 hours had elapsed. The maximum number of saccharin or cocaine rewards was limited to 30 per session to ensure approximately equal exposure to both rewards before choice testing. All 12 rats rapidly learned to earn the maximum number of saccharin rewards available on saccharin sessions and to self-administer nearly all cocaine doses available on cocaine sessions (mean number per session over the last three sessions: 25.4 ± 2.1 ; mean total number of cocaine injections before choice testing: 506.5 ± 23.8 ; mean total cocaine intake: 126.6 ± 5.9 mg). Then, these rats were tested in a novel choice procedure in 15 additional sessions during which the rats showed a strong and stable preference for sweet water over cocaine (data not shown). To avoid potential confusion, note that rats were neither food- nor water-restricted during training and throughout the duration of the following experiment. In addition, saccharin (a potent non-caloric sweetener) was selected because it is an inessential non-drug reward with no direct advantageous effect on growth, survival and/or reproduction. Finally, the concentration of saccharin (i.e. 0.2%) used in the present study is within the range of maximally rewarding concentrations (0.1–1%) (Smith & Sclafani 2002; Cantin *et al.* 2010; Vendruscolo *et al.* 2010).

Discrete-trials choice procedure

After initial training, rats were allowed to choose between cocaine and saccharin under a discrete-trials choice schedule, as previously described in detail (Lenoir *et al.* 2007; Cantin *et al.* 2010). A schematic diagram of this choice procedure is also presented elsewhere (Lenoir *et al.* 2007). Each daily choice session consisted of 12 discrete

trials, spaced by 10 minutes, and divided into two successive phases, reward sampling (four trials) and choice (eight trials). During reward sampling, each trial began with the presentation of a single lever in this alternative order: lever C—lever S—lever C—lever S. Lever C was presented first to prevent an eventual drug-induced conditioned taste aversion (Lenoir *et al.* 2007). If rats responded within 5 minutes on the available lever, they were rewarded by the corresponding reward (i.e. 0.25 mg cocaine delivered intravenously or 20-second access to water sweetened with 0.2% saccharin). Reward delivery was signaled by retraction of the lever and a 40-second illumination of the cue light above this lever. If rats failed to respond within 5 minutes, the lever retracted and no cue light or reward was delivered. Though rats already associated each lever with its corresponding reward (cocaine or saccharin) during behavioral training (see earlier discussion), alternating sampling trials were needed to maintain this association and to separately measure the effects of diazepam on responding for each reward. During choice, each trial began with the simultaneous presentation of both levers S and C. Rats had to select one of the two levers. During choice, reward delivery was signaled by retraction of both levers and a 40-second illumination of the cue light above the selected lever. If rats failed to respond on either lever within 5 minutes, both levers retracted and no cue light or reward was delivered. The response requirement of each reward was set to two consecutive responses (i.e. FR2) to avoid eventual accidental choice. A response on the alternate lever before satisfaction of the response requirement reset it. Response resetting occurred very rarely, however. Thus, a maximum of 10 rewards of the same type (cocaine or saccharin) could be obtained per session (i.e. two during sampling and eight during choice). Rats were tested in this choice procedure during a total of eight consecutive sessions until stabilization of choice performance (i.e. no increasing or decreasing trend across three consecutive sessions and between-session variation <10%).

Diazepam treatment

After stabilization of choice performance, rats received, for three consecutive days, one daily subcutaneous (s.c.) injection of 0.9% NaCl (1 ml/kg) 10 minutes before the choice session. The goal was to habituate rats to the injection procedure. Given that there was no effect of repeated NaCl administration on choice, performance during these three sessions was averaged and served as baseline. Then, they were injected with different doses of diazepam (one dose per day dissolved in a dilute solution of Tween 80) in the following ascending order: 0 (vehicle), 2, 4, 8 and 16 mg/kg. All s.c. injections were administered 10 minutes before the choice session. Diazepam was

administered in ascending doses, rather than randomly, because we did not know the range of effective doses in our choice procedure. After the last s.c. injection of diazepam, rats were re-baselined and re-tested with diazepam but administered intravenously through the indwelling jugular catheter. During re-baselining, rats received, for 3 days, one daily i.v. injection of vehicle (i.e. a dilute solution of Tween 80) immediately before the choice session. Given that there was no effect of repeated vehicle administration on choice, performance during these three sessions was averaged. Rats were then injected with two i.v. doses of diazepam in the following descending order: 2 and 1 mg/kg. All i.v. injections were administered immediately before the choice session. Diazepam was administered in descending doses to control for the ascending order used when it was administered subcutaneously (see above).

The day after the last i.v. administration of diazepam (i.e. 1 mg/kg), rats were re-tested during one final session of exclusive access to cocaine self-administration under a FR2 reinforcement schedule, as during initial drug self-administration training (see earlier discussion). This re-test session allowed determination of whether repeated administration of diazepam and/or repeated choice testing had a lasting effect on cocaine self-administration (when no other option was available).

For purposes of comparison, we also sought through a pilot study to test the effects of diazepam (2 mg, i.v.) on cocaine preference in drug-preferring rats. As there was no cocaine-preferring rat in the above-described experiment, we selected two cocaine-preferring rats from a separate group of 21 rats. These rats were first trained on alternate daily sessions to lever press to self-administer either saccharin or cocaine under a FR2 schedule as described earlier. Then, they were trained for 48 sessions in a discrete-trials choice procedure identical to that described above, except that during both sampling and choice, responding was reinforced according to a fixed-interval (FI)-FR2 schedule (i.e. the second response after FI termination was rewarded). After FI-FR2 training, the FI component was cancelled and rats were re-trained under the standard choice procedure during at least five sessions and until stabilization of preference. Among the 21 rats tested, only two rats showed a stable preference for cocaine (i.e. >50% cocaine choice over the last three sessions). These two cocaine-preferring rats were first treated with the vehicle of diazepam on day 1 of testing (i.e. day VEH) and then with diazepam (2 mg, i.v.) on six consecutive days (i.e. days DZ). Diazepam was administered on several days to assess possible tolerance development.

Drugs

Cocaine hydrochloride (Coopération Pharmaceutique Française, Melun, France) was dissolved in a solution of

NaCl (0.9%), which was filtered through a syringe filter (0.22 μ m) and kept at room temperature in a 500-ml sterile bag ($21 \pm 2^\circ\text{C}$). Drug doses were expressed as the weight of the salt. Sodium saccharin (Sigma-Aldrich, Lyon, Saint-Quentin Fallavier, France) was dissolved in tap water at room temperature ($21 \pm 2^\circ\text{C}$). Sweet solutions were renewed each day. Diazepam (Sigma Aldrich) was dissolved in a 10-ml solution of NaCl (0.9%) containing two drops of Tween 80 (Sigma Aldrich) corresponding to an approximate concentration of 7 mg/ml. For i.v. administration, the Tween solution was also filtered with a syringe filter (0.2 μ m) before dissolving diazepam. In every case, the solution of diazepam was vortexed 5–10 seconds before each administration.

Data analysis

The indifference level between water sweetened with saccharin and cocaine was conveniently normalized at 0 in the discrete-trials choice procedure (Lenoir *et al.* 2007) using the following formula: $1 - (\% \text{ cocaine choices} / 50\%)$. Scores above 0 indicated a preference for the non-drug alternative (i.e. selection of this reward >50% of completed choice trials) while scores below 0 indicated a preference for cocaine (i.e. selection of this reward >50% of completed choice trials). Response latencies during sampling or choice corresponded to the time (in seconds) required to complete the FR2 reinforcement requirement after trial onset. When a rat failed to respond within 5 minutes after trial onset, it was assigned a maximal response latency of 300 seconds. Locomotion near the moment of choice corresponded to the total number of cage crossings during the eight 1-minute pre-choice intervals (corresponding to the eight choice trials per daily session). Similarly, the amount of time spent in the drug-paired side near the moment of choice corresponded to the percent of total time spent in that side during the eight 1-minute pre-choice intervals. Statistical analyses were run using Statistica, version 7.1 (Statsoft, Inc., Maisons-Alfort, France).

RESULTS

As expected from previous research, during baseline, all cocaine self-administering rats turned away from cocaine in favor of saccharin when offered a choice (mean cocaine choice: $18.8 \pm 4.8\%$; range: 0–46%; median: 16.7%). They completed about 100% of the choice trials (i.e. $99.7 \pm 0.3\%$) within only about 5 seconds (i.e. 5.1 ± 1.7 seconds), suggesting that they made their decision between the two available options with little hesitation. In this specific experiment, no rat preferred cocaine, an outcome consistent with the low frequency of cocaine-preferring rats found previously (see the Introduction).

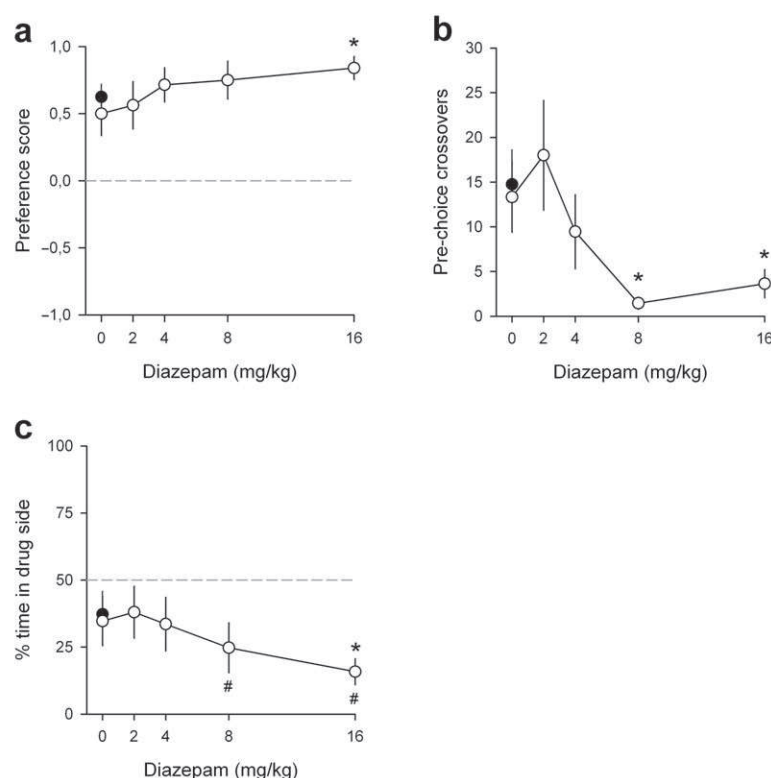


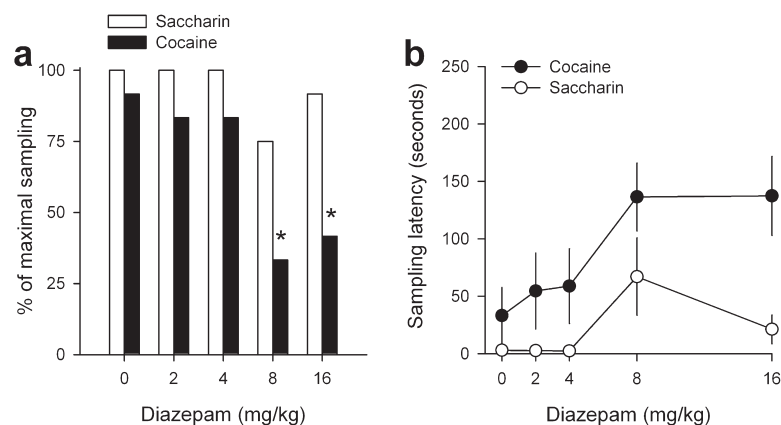
Figure 1 (a) Effects of diazepam [0–16 mg/kg, subcutaneous (s.c.)] on choice between cocaine (0.25 mg per injection) and water sweetened with saccharin (20-second access to a 0.2% solution). The horizontal dashed line at 0 indicates the indifference level. Values [mean $\pm$ standard error of the mean (SEM)] above 0 indicate a preference for sweet water while values below 0 indicate a preference for intravenous cocaine. (b) Effects of diazepam (0–16 mg/kg, s.c.) on forward locomotion (i.e. mean $\pm$ SEM number of cage crossings) measured 1 minute before choice trials. In both graphs, the closed circle represents baseline before treatment with diazepam. (c) Effects of diazepam (0–16 mg/kg, s.c.) on mean $\pm$ SEM percent time spent in the side of the cocaine-paired lever measured 1 minute before choice trials. The closed circle represents baseline before treatment with diazepam. *Different from vehicle or dose 0 ($P < 0.01$, Dunnett's test). #Different from the indifference level of 50% ($P < 0.01$, t-test)

The vehicle of diazepam (i.e. diluted solution of Tween-80) did not significantly alter rats' initial preference compared with baseline ($F_{1,11} = 2.49$; Fig. 1a). However, diazepam dose-dependently decreased cocaine choice compared with vehicle ($F_{4,44} = 2.84$, $P < 0.05$), thereby further increasing preference for sweet water (Fig. 1a). *Post hoc* comparisons revealed that this increase in abstinence from cocaine reached statistical significance at the highest dose of diazepam tested (Dunnett's test, $P < 0.01$). To probe the general behavioral state of rats near the moment of choice, locomotor activity was analyzed 1 minute before the onset of choice trials. As expected, diazepam dose-dependently decreased locomotor activity ($F_{4,44} = 4.99$, $P < 0.01$), suggesting that rats were effectively under the effects of diazepam when they made their choice between the two options (Fig. 1b). Surprisingly, however, this dose-dependent decrease in locomotor activity—which is generally interpreted as evidence for the sedative effects of diazepam—was not associated with a decrease in the percent of completed trials that remained near the maximum of 100% at all doses tested ($F_{4,44} = 1.14$). In addition, although diazepam tended to increase the latency of choice in some rats, this effect was not statistically significant ($F_{4,44} = 1.87$) (Supporting Information Fig. S1). Thus, although diazepam clearly decreased locomotor activity at the moment of choice, this effect had apparently no incidence on choice performance and initial direction of preference.

To better assess the effects of diazepam during choice making, we analyzed where rats were located in the experimental chambers 1 minute before the onset of choice trials. During baseline, rats tended to spend less time near the cocaine lever and, thus, more time near the preferred saccharin lever [i.e. $62.7 \pm 8.5\%$ of total pre-choice time (8×1 -minute intervals); Fig. 1c]. However, this trend was not significantly different from the indifference level of 50% ($t_{11} = 1.48$). The vehicle of diazepam had no significant effect on time allocation on either side of the cage ($F_{1,11} = 0.54$; comparison with indifference level: $t_{11} = 1.66$). In contrast, consistent with its effects on sweet preference, diazepam decreased dose-dependently the amount of time spent near the cocaine lever ($F_{4,44} = 4.45$, $P < 0.01$; Fig. 1c) and thus increased the time spent near the saccharin lever. *Post hoc* comparisons revealed that this decrease was significant at the highest dose of diazepam (Dunnett's test, $P = 0.011$). In addition, the amount of time spent away from the cocaine lever (and, thus, near the saccharin lever) was significantly different from the indifference level of 50% at the two highest doses of diazepam ($t_{11} > 2.71$, $P < 0.05$). Thus, under the effects of increasing doses of diazepam, rats spent proportionally more time near the lever that was associated with their preferred reward.

To separately assess the effects of diazepam on responding for cocaine or saccharin, we analyzed performance during the sampling period preceding the choice

Figure 2 Effects of diazepam [0–16 mg/kg, subcutaneous (s.c.)] on (a) percent proportion of rats that sample maximally cocaine (closed bars) or saccharin (open bars) during sampling and (b) mean $\pm$ standard error of the mean latency of cocaine (closed circles) or saccharin sampling (open circles). *Different from vehicle or dose 0 ($P < 0.01$, test of two proportions). Note that there are no error bars in Fig. 2a because each bar represents a single proportion expressed in percentage



period (see Materials and Methods section). Because sampling was limited to a maximum of only two trials per type of reward (cocaine or saccharin) and because there was no data dispersion at several doses of diazepam, we analyzed the effects of diazepam on the proportion of rats that sampled each type of reward maximally. During baseline, all rats showed maximal sampling of saccharin. Similarly, during baseline, all but one rat exhibited maximal sampling of cocaine (data not shown). The vehicle of diazepam did not affect these proportions significantly. In contrast, the two highest doses of diazepam decreased the proportion of rats that sampled maximally cocaine compared with the vehicle condition (test of proportion, $|z| > 1.96$, $P < 0.01$; Fig. 2a). None of the doses of diazepam decreased significantly the proportion of rats that sampled saccharin maximally (test of proportion, $|z| < 1.96$). Thus, during sampling, diazepam seems to selectively alter responding for cocaine. This conclusion was partially confirmed by an analysis of response latencies during sampling (i.e. latency to complete the FR2 requirement). As reported previously, during baseline, rats were slower to respond for cocaine than for saccharin (36.7 ± 24.3 versus 3.0 ± 0.5 seconds; data not shown). The vehicle of diazepam had no effect on this initial difference in sampling latencies (main effect: $F_{1,11} = 2.80$; interaction: $F_{1,11} = 0.15$). Importantly, diazepam did not decrease but instead tended to increase cocaine sampling latencies further above saccharin sampling latencies (Fig. 2b). However, this effect was not statistically significant (diazepam dose $\times$ type of reward: $F_{4,44} = 1.68$). Nevertheless, regardless of the dose of diazepam, rats were systematically slower in sampling cocaine than saccharin ($F_{1,11} = 5.47$, $P < 0.05$; Fig. 2b).

Finally, to assess the effects of diazepam on cocaine's efficacy in increasing locomotor activity, we measured locomotion following the first sampling injection. This analysis was performed on a total of eight rats (out of 12), which systematically sampled cocaine at least once

following each dose of diazepam. Previous research showed that at the dose tested in the present study (i.e. 0.25 mg, i.v.), cocaine produces a rapid increase in locomotion that then returns to normal within 10 minutes (Lenoir *et al.* 2007; Cantin *et al.* 2010). Thus, to measure the effects of cocaine across different doses of diazepam, locomotion was measured 10 minutes before (i.e. pre-cocaine control level) and 10 minutes after the first injection of cocaine. During baseline, cocaine boosted locomotion above pre-cocaine levels (from 36.4 ± 3.1 to 68.0 ± 10.7 , $F_{1,7} = 14.99$, $P < 0.01$; data not shown). Once again, the vehicle of diazepam had no influence on this effect ($F_{1,7} = 0.70$). In contrast, diazepam dose-dependently decreased this effect of cocaine, as revealed by a two-way analysis of variance (ANOVA; diazepam dose $\times$ cocaine effect: $F_{4,28} = 4.31$, $P < 0.01$). However, a subsequent independent one-way ANOVA revealed that diazepam also decreased dose-dependently pre-cocaine levels of locomotion ($F_{4,28} = 16.26$, $P < 0.01$) (Fig. 3). As a result, although the absolute effects of cocaine clearly decreased with the dose of diazepam, cocaine nevertheless continued to increase locomotion above pre-cocaine levels by about the same relative extent (i.e. by about 200%). Thus, the effects of diazepam on the locomotor-activating effects of cocaine appear to be largely secondary to a general reduction in locomotion.

To assess the generality of the above findings across different routes of administration, all rats were re-tested with diazepam but administered intravenously. Another goal of this follow-up study was to assess the feasibility of administering drug compounds through the indwelling jugular catheter used for i.v. cocaine self-administration. The vehicle of diazepam was first administered intravenously during several consecutive sessions. Given that there was no significant behavioral variation with repeated vehicle administration, behavior averaged over the last three sessions served as the baseline for the effects of i.v. diazepam on cocaine choice. Overall, i.v. diazepam reproduced most of the effects that were obtained

following s.c. administration of the drug, except that the effective dose was about 10-fold lower (i.e. 2 versus 16 mg/kg). First, i.v. diazepam dose-dependently decreased cocaine choice, thereby increasing the initial preference for sweet water ($F_{2,22} = 4.69$, $P < 0.05$; Fig. 4a). Second, i.v. diazepam decreased locomotion near

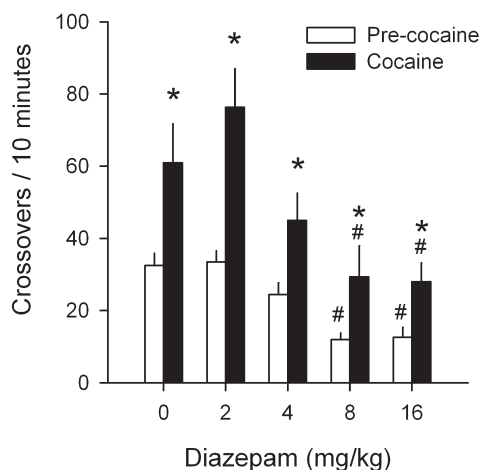


Figure 3 Effects of diazepam [0–16 mg/kg, subcutaneous (s.c.)] on intravenous cocaine-induced locomotion (mean $\pm$ standard error of the mean). Locomotion was measured 10 minutes before (open bars) and 10 minutes after the first cocaine sampling (closed bars). *Different from pre-drug control levels [$P < 0.01$, following a two-way analysis of variance (ANOVA)]; #Different from vehicle or dose 0 ($P < 0.01$, Dunnett's test, following a one-way ANOVA)

the moment of choice ($F_{2,22} = 5.05$, $P = 0.015$; Fig. 4b). Third, i.v. diazepam had no effect on the number of completed choice trials ($F_{2,22} = 1.00$) or on the latency of choice ($F_{2,22} = 0.91$) (Supporting Information Fig. S2). Fourth, i.v. diazepam tended to reduce the amount of time spent near the drug lever ($F_{2,22} = 2.83$, $P = 0.080$; Fig. 4c) and, thus, to increase the amount of time spent near the saccharin lever. Fifth, i.v. diazepam selectively reduced the proportion of rats that sampled cocaine maximally (test of proportion, $|z| > 1.96$, $P < 0.01$; Fig. 5a), without affecting saccharin sampling (test of proportion, $|z| < 1.96$). Finally, consistent with this selective effect, i.v. diazepam selectively increased the latency of cocaine sampling ($F_{2,22} = 9.38$, $P < 0.01$; one-way ANOVA following a two-way ANOVA that revealed a significant reward type $\times$ dose of diazepam interaction; Fig. 5b), without affecting the latency of saccharin sampling ($F_{2,22} = 1.10$). Note that only five rats (out of a total of 12) sampled cocaine at least once across the different i.v. doses of diazepam, thereby precluding analysis of the effects of diazepam on the locomotor-activating effects of cocaine.

During the final session of exclusive access to cocaine self-administration following the last i.v. administration of diazepam (see the Materials and Methods section), rats took as many cocaine injections as before choice testing (27.3 ± 1.5 versus 25.4 ± 2.1 , respectively). This outcome shows that repeated diazepam administration and/or repeated choice testing had no lasting impact on

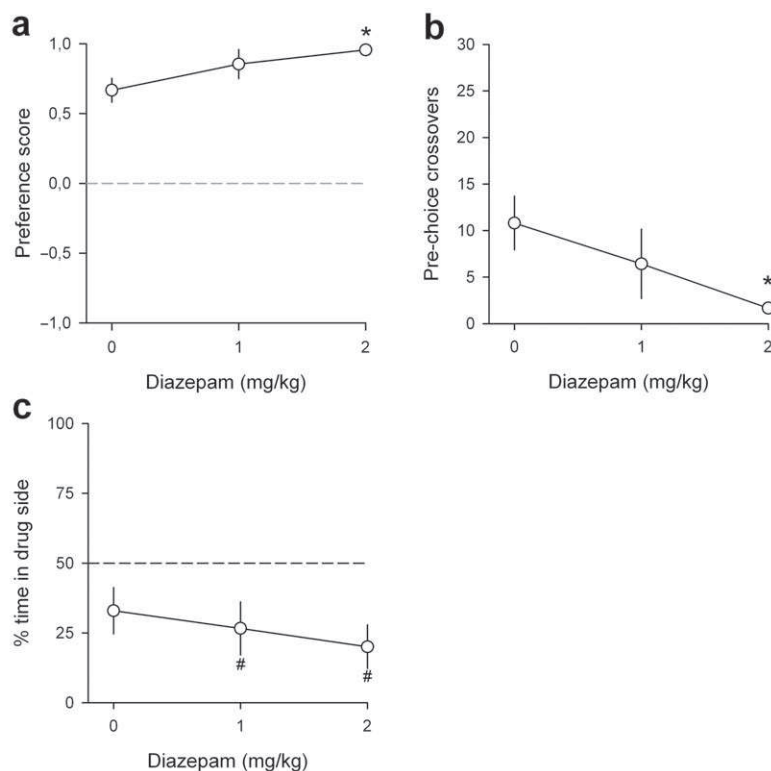


Figure 4 (a) Effects of diazepam [0–2 mg/kg, intravenous (i.v.)] on choice between cocaine and water sweetened with saccharin. The horizontal dashed line at 0 indicates the indifference level. Values [mean $\pm$ standard error of the mean (SEM)] above 0 indicate a preference for sweet water while values below 0 indicate a preference for i.v. cocaine. (b) Effects of diazepam (0–2 mg/kg, i.v.) on forward locomotion (i.e. mean $\pm$ SEM number of cage crossings) measured 1 minute before choice trials. (c) Effects of diazepam (0–2 mg/kg, i.v.) on mean $\pm$ SEM percent time spent in the side of the cocaine-paired lever measured 1 minute before choice trials. *Different from vehicle or dose 0 ($P < 0.01$, Dunnett's test); #Different from the indifference level of 50% ($P < 0.01$, t-test)

Figure 5 Effects of diazepam [0–2 mg/kg, intravenous (i.v.)] on (a) percent proportion of rats that sample maximally cocaine (closed bars) or saccharin (open bars) during sampling and (b) mean $\pm$ standard error of the mean latency of cocaine (closed circles) or saccharin sampling (open circles). *Different from vehicle or dose 0 ($P < 0.01$, test of two proportions). Note that there are no error bars in Fig. 5a because each bar represents a single proportion expressed in percentage

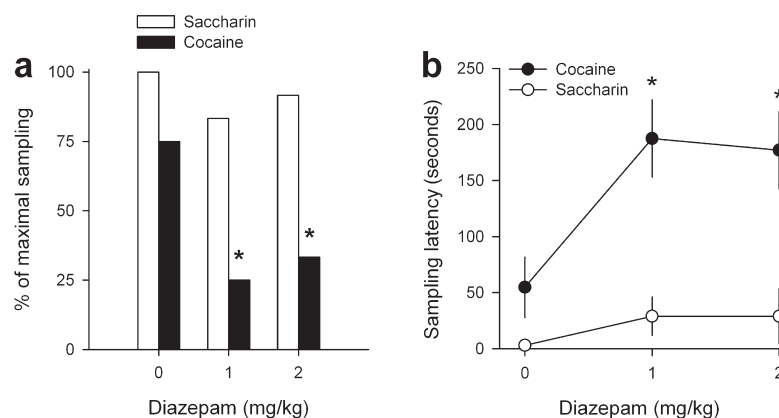
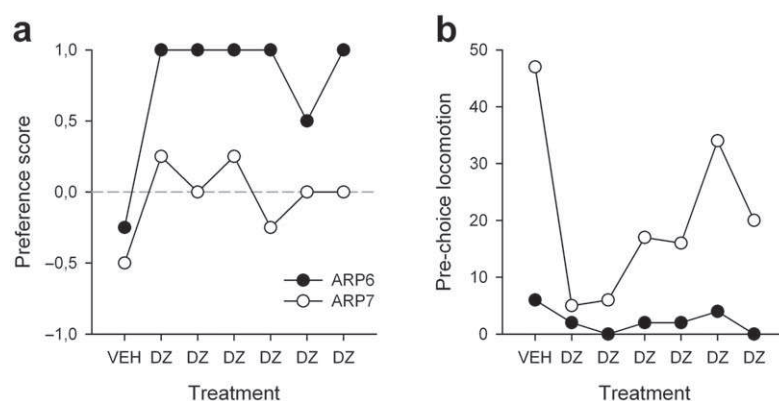


Figure 6 (a) Effects of repeated administration of diazepam [2 mg/kg, intravenous (i.v.), for 6 days] on cocaine preference in two drug-preferring rats (ARP 6 and 7). The horizontal dashed line at 0 indicates the indifference level. Values above 0 indicate a preference for sweet water while values below 0 indicate a preference for i.v. cocaine. (b) Effects of repeated administration of diazepam (2 mg/kg, i.v., for 6 days) on forward locomotion (i.e. number of cage crossings) measured 1 minute before choice trials. VEH=vehicle administration; DZ=daily diazepam administration



cocaine self-administration. This result also confirms the well-established fact that when no choice is available, rats self-administer cocaine.

Finally, for purposes of comparison, we assessed, through a pilot study, the effects of chronic diazepam (2 mg, i.v., during 6 days) on drug preference in two cocaine-preferring rats selected from a separate experiment (see the Materials and Methods section). As in non-drug-preferring rats, diazepam reduced cocaine choice in these two rats (Fig. 6a), thereby increasing saccharin choice. In one rat, chronic diazepam switched preference from cocaine to saccharin almost exclusively (Fig. 6a, closed circle). This abstinence-promoting effect did not decrease with repeated diazepam administration, ruling out tolerance development, and was associated with a persistent decrease in locomotion near the moment of choice (Fig. 6b). As expected from the above findings, chronic diazepam had no effect on the latency of choice or on the percent of completed choice trials that remained maximal (i.e. 100%) for each rat (data not shown). Finally, as shown previously in non-drug-preferring rats, chronic diazepam selectively increased the latency of cocaine sampling above that of saccharin sampling in cocaine-preferring rats (Fig. 7a, b).

DISCUSSION

The present study confirms previous research showing that cocaine self-administering rats spontaneously abstain from cocaine when offered water sweetened with saccharin, a potent non-drug reward that is not biologically essential (Lenoir *et al.* 2007; Cantin *et al.* 2010). Importantly, diazepam does not decrease, but instead, further increases abstinence from cocaine in a dose-dependent manner, thereby increasing their initial preference for sweet water. Diazepam also partially suppresses locomotion near the moment of choice (i.e. 1 minute before onset of choice trials), suggesting that rats are effectively under the influence of diazepam during choice-making. Diazepam-induced partial suppression of locomotion is generally interpreted as evidence for hypnosis and/or sedation in rats. However, in the present study, this locomotor-suppressing effect is neither associated with a decrease in the number of completed choice trials nor with an increase in choice latency, ruling out a non-specific deficit in choice performance. Thus, despite partial suppression of locomotion, rats, nevertheless, remain fully capable of making their choice. Interestingly, rats seemed to adapt to the locomotor-suppressing effects of diazepam by spending more time near the lever associated

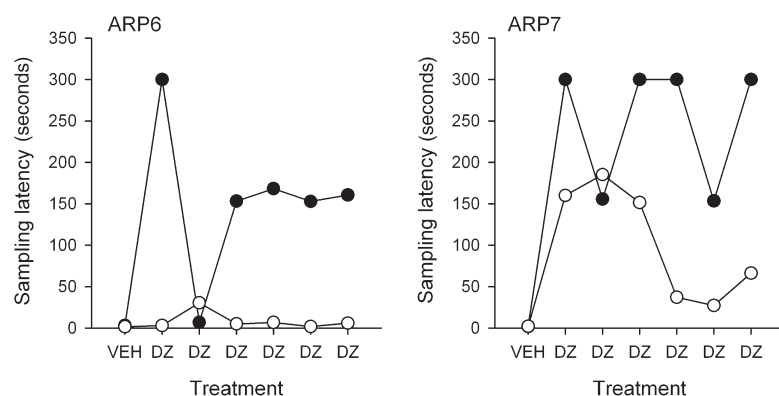


Figure 7 Effects of repeated administration of diazepam (2 mg/kg, intravenous for 6 days) on latency of cocaine (closed circles) or saccharin sampling (open circles) in two cocaine-preferring rats (ARP 6 and 7). VEH = vehicle administration; DZ = daily diazepam administration

with the preferred reward (i.e. the saccharin-paired side), thereby minimizing the need of locomotion at the moment of choice. This behavioral strategy provides additional evidence for rats' robust initial preference for sweet water and thus for the relatively weak value of cocaine. Finally, when responding for cocaine or saccharin is analyzed separately (i.e. during sampling trials preceding choice), we found that diazepam decreases selectively and dose-dependently responding for cocaine without affecting responding for saccharin. Notably, diazepam does not decrease but instead increases response latencies for cocaine further above those for saccharin, ruling out a conflict effect as a possible explanation for the high response latencies generally associated with cocaine (Lenoir *et al.* 2007; Ahmed 2010; Cantin *et al.* 2010). Most of these effects are reproduced when diazepam is administered intravenously, except that, as one would expect, the effective dose is now about 10-fold lower (i.e. 2 versus 16 mg/kg). Given that in i.v. drug self-administration studies, rats are already prepared with a chronic jugular catheter, this result validates the use of the i.v. route of administration as a minimally invasive method for chronic drug pretreatment in future research (e.g. avoid pain associated with repeated needle insertion into the skin). Overall, the present study clearly shows that abstinence from cocaine cannot be explained away by the anxiogenic effects of cocaine, thereby reinforcing the notion of resilience to cocaine addiction in rats (Ahmed 2010; Cantin *et al.* 2010). In fact, the effects of diazepam on cocaine abstinence were not restricted to non-drug-preferring rats as they were also observed in two cocaine-preferring rats treated chronically with diazepam. Importantly, there was no evidence for tolerance to the abstinence-promoting effects of diazepam during chronic treatment, supporting the use of anxiolytic benzodiazepines in the treatment of cocaine addiction (Goeders, McNulty & Guerin 1993; Goeders *et al.* 2009).

Previous research using a runway self-administration procedure showed that diazepam (or ethanol, which has also anxiolytic or anticonflict effects in rats) can reduce the

latency to reach the goal box and receive cocaine (Ettenberg & Geist 1991; Knackstedt & Ettenberg 2005). In the present study, however, diazepam appears to have the opposite effect; it does not decrease, but instead, dose-dependently and rather selectively increases the latency to respond for cocaine during sampling. This outcome rules out the possible contribution of the anxiogenic effects of cocaine to the present study and, if anything, suggests that diazepam further decreases the initially low relative value of cocaine during choice (see also the next paragraph). This interpretation is consistent with the present observation that diazepam can also dose-dependently decrease cocaine-induced locomotion, although this latter effect is probably not specific. It is also confirmed by the abstinence-promoting effects of chronic diazepam in initially drug-preferring rats (whose initial drug preference rules out the anxiogenic effects of cocaine). Many methodological differences between the present study and previous research on runway cocaine self-administration probably explain this apparent discrepancy. One major relevant difference could be the differential level of pre-exposure to cocaine self-administration between these studies. In previous research using the runway model, rats had minimal, if any, pre-exposure to cocaine self-administration before assessment of the anxiogenic effects of cocaine. In contrast, in the present study and elsewhere (Lenoir *et al.* 2007; Cantin *et al.* 2010), rats had a relatively long history of cocaine self-administration before choice testing during which they could habituate or become tolerant to the initial anxiogenic effects of cocaine, thereby explaining the lack of evidence for anxiogenic effects in the present study. In support of this hypothesis, it was recently found by Ettenberg and colleagues that the approach-avoidance conflict induced by cocaine in the runway self-administration model is virtually abolished following extended access to cocaine self-administration in rats (Ben-Shahar *et al.* 2008). Similarly, we found that following extended access to cocaine self-administration, the latency to respond for cocaine during sampling considerably decreased, although it remained

above that for saccharin (Lenoir *et al.* 2007). Importantly, this decrease in response latency was without incidence on cocaine choice. Thus, as a whole, these different studies suggest that cocaine has initially significant anxiogenic effects that are progressively lost during chronic cocaine self-administration.

In fact, the main effects of diazepam in rats with a history of cocaine self-administration (i.e. decreased cocaine choice or drug preference reversal and increased preference for sweet water) confirms and extends to a choice setting previous research. This research showed that diazepam or other non-selective benzodiazepines (e.g. alprazolam or midazolam) can decrease cocaine self-administration (Goeders *et al.* 1989; 1993; Barrett *et al.* 2005; Weerts, Froestl & Griffiths 2005; Goeders & Guerin 2008) and increase the consumption and palatability of (generally sweetened) food or water (Wise & Dawson 1974; Cooper & McClelland 1980; Berridge & Treit 1986; Treit, Berridge & Schultz 1987; Treit & Berridge 1990; Parker 1991; Stanhope *et al.* 1993; Berridge & Pecina 1995; Pecina & Berridge 1996; Duke *et al.* 2006; Morris *et al.* 2009). Regarding the latter effect, Berridge and co-workers demonstrated that diazepam and other benzodiazepine anxiolytics can increase the palatability of sweet water (Berridge & Treit 1986; Treit *et al.* 1987; Treit & Berridge 1990; Berridge & Pecina 1995; Pecina & Berridge 1996), an effect that depends critically, though not exclusively, on brain mu-opioid receptor signaling (Richardson *et al.* 2005). Concerning the effect of benzodiazepines on cocaine self-administration, several studies, except one (Maier *et al.* 2008), have shown that they can selectively and dose-dependently decrease cocaine self-administration (Goeders *et al.* 1993; Barrett *et al.* 2005; Weerts *et al.* 2005). In addition, there is also one study showing that diazepam dose-dependently abolishes cocaine-induced place preference (Meririnne *et al.* 1999). Thus, the cocaine abstinence-promoting action of diazepam in favor of sweet water seen here can be fully explained by its dual, opposite action on sweet palatability and cocaine reward.

The primary goal of the present study was to test the possible contribution of the anxiogenic effects of cocaine to abstinence in the majority of cocaine self-administering rats. The main findings clearly demonstrate that abstinence from cocaine, even following extended cocaine use, cannot be explained away by these effects. Thus, when facing a choice, most cocaine self-administering rats would not avoid cocaine because it is more conflictual than the non-drug option but more likely because it has a weaker rewarding value compared with the non-drug option (i.e. sweet water). This outcome reinforces the notion of a biological resilience to cocaine addiction proposed recently (Ahmed 2010; Cantin *et al.* 2010). Thus, contrary to the appearances and no matter how heavy

past cocaine use was, most cocaine self-administering rats appear to keep control over cocaine use, as they can readily choose to abstain from it for another, albeit inessential, pursuit (Cantin *et al.* 2010). Under the standard operant self-administration setting, these rats would take cocaine merely out of a lack of choice, not by compulsion. Only a minority of vulnerable rats would take cocaine by compulsion, continuing to prefer the drug despite the opportunity to make a different choice, even a biologically important one (i.e. sucrose in hungry rats) (Cantin *et al.* 2010). Thus, paradoxically, offering choice to rats during access to cocaine self-administration provides a unique strategy for selecting the few addicted individuals that take cocaine compulsively among the resilient majority that takes cocaine merely by default of other options. Screening medications for their ability to decrease cocaine preference in this small subset of vulnerable rats should better predict their therapeutic efficacy in cocaine-addicted humans and, thus, increase the currently modest translational impact of animal research on cocaine addiction. In this regard, the preliminary finding reported here showing that chronic treatment with diazepam can reverse cocaine preference in drug-preferring rats, without evidence for tolerance development, extends to vulnerable individuals previous research and warrants future clinical research on the therapeutic potential of anxiolytic benzodiazepines, preferably non-addictive ones, for cocaine addiction. More generally, the present study suggests that brain gamma amino butyric acid (GABA)ergic signaling may represent a promising therapeutic target for addiction. For instance, there is growing evidence that non-benzodiazepine GABAergic agonists, such as baclofen, may have clinical utility in the treatment of cocaine dependence (Preti 2007).

Some final considerations are in order to avoid confusion and to better interpret the main outcomes of the present study and of previous related research from this laboratory (Lenoir *et al.* 2007; Cantin *et al.* 2010). First, the lack of cocaine preference does not show that cocaine is a weak rewarding drug. It shows that cocaine has a reinforcing value that is bounded with a maximum lower than that of sweet water (see also the Introduction). Taste sweetness is a particularly powerful non-drug reward that has been extensively used in experimental psychology and behavioral neuroscience over the past 50 years (Collier & Novell 1967; Valenstein, Cox & Kakolewski 1967; Grimm, Fyall & Osincup 2005). Intense sweetness could even represent a super-normal stimulus for rats as originally defined by Nikko Timbergen (Lenoir *et al.* 2007). One should thus expect that other non-drug rewards that are less potent than sweet reward, such as, for instance, non-palatable food, could be outcompeted by cocaine reward, especially at high doses (Aigner & Balster 1978). In fact, rats can

eventually shift their preference to cocaine when the concentration of sweet water is decreased or when its cost is increased (Cantin *et al.* 2010). Nevertheless, the observation that i.v. cocaine, even at maximal doses, cannot outcompete intense sweetness may have important implications for animal models of addiction and for current hypotheses about the biological mechanisms of cocaine addiction. Second, as explained elsewhere in detail, lack of cocaine preference alone does not necessarily exclude cocaine addiction and, therefore, should not be unconditionally interpreted as evidence for resilience to addiction (Cantin *et al.* 2010). Indeed, one can imagine, at least in theory, individuals co-addicted to reward A and reward B and who prefers A over B. Thus, to conclude that non-drug-preferring rats are resilient to cocaine addiction, one must show that they are not addicted to the alternative option, i.e. water sweetened with saccharin in the present study and elsewhere (Lenoir *et al.* 2007; Cantin *et al.* 2010). Although there is cumulating evidence for food and sugar addiction (Avena, Rada & Hoebel 2008; Kenny 2011; Olsen 2011), there is currently no evidence for addiction to artificial sweeteners, such as saccharin, or to taste sweetness *per se*. In addition, in a previous study, rats with a history of extended access to cocaine self-administration shifted their preference to sweet water within only 2 days and after having drunk less than 5 ml (Lenoir *et al.* 2007). It is implausible that most rats could become addicted to saccharin so rapidly and with such a low level of exposure. Finally, recent estimation in humans suggests that food addiction, like cocaine addiction, only affects a small minority of people (Gearhardt, Corbin & Brownell 2009). Thus, lack of cocaine preference during choice between cocaine and saccharin in the majority of rats is unlikely the result of a co-addiction between these two rewards and, more probably, reflects the existence of a genuine resilience to cocaine addiction.

Acknowledgements

We thank Anne Fayoux and Stephane Lelgouach for animal care, Pierre Gonzalez for technical assistance, Marie-Hélène Bruyères for administrative assistance, Christian Darrack for his help with data extraction and Alain Labarriere for housekeeping assistance. We also thank Drs Magalie Lenoir and Karyn Guillem for their helpful comments on a previous version of the manuscript. This work was supported by the French Research Council (CNRS), the Mission Interministerielle de Lutte contre les Drogues et la Toxicomanie (MILDT), the Université Victor Segalen-Bordeaux 2 and the Conseil Régional d'Aquitaine.

Authors Contribution

EA and SHA were responsible for the study concept and design. EA and CV contributed to the acquisition of animal data. EA and SHA assisted with data analysis and interpretation of findings. SHA drafted the manuscript. EA and CV provided critical revision of the manuscript. All authors critically reviewed content and approved final version for publication.

References

- Ahmed SH (2010) Validation crisis in animal models of drug addiction: beyond non-disordered drug use toward drug addiction. *Neurosci Biobehav Rev* 35:172–184.
- Ahmed SH, Koob GF (1998) Transition from moderate to excessive drug intake: change in hedonic set point. *Science* 282:298–300.
- Aigner TG, Balster RL (1978) Choice behavior in rhesus monkeys: cocaine versus food. *Science* 201:534–535.
- Anthony JC (2002) Epidemiology of drug dependence. In: Davis KL, Charney D, Coyle JT, Nemeroff C, eds. *Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress*, pp. 1557–1573. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins.
- Anthony JC, Warner LA, Kessler RC (1994) Comparative epidemiology of dependence on tobacco, alcohol, controlled substances, and inhalants: basic findings from the National Comorbidity Survey. *Exp Clin Psychopharmacol* 2:224–268.
- Avena NM, Rada P, Hoebel BG (2008) Evidence for sugar addiction: behavioral and neurochemical effects of intermittent, excessive sugar intake. *Neurosci Biobehav Rev* 32:20–39.
- Barrett AC, Negus SS, Mello NK, Caine SB (2005) Effect of GABA agonists and GABA-A receptor modulators on cocaine- and food-maintained responding and cocaine discrimination in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 315:858–871.
- Belin D, Mar AC, Dalley JW, Robbins TW, Everitt BJ (2008) High impulsivity predicts the switch to compulsive cocaine-taking. *Science* 320:1352–1355.
- Ben-Shahar O, Posthumus EJ, Waldroup SA, Ettenberg A (2008) Heightened drug-seeking motivation following extended daily access to self-administered cocaine. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 32:863–869.
- Berridge KC, Pecina S (1995) Benzodiazepines, appetite, and taste palatability. *Neurosci Biobehav Rev* 19:121–131.
- Berridge KC, Treit D (1986) Chlordiazepoxide directly enhances positive ingestive reactions in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 24:217–221.
- Blanchard DC, Blanchard RJ (1999) Cocaine potentiates defensive behaviors related to fear and anxiety. *Neurosci Biobehav Rev* 23:981–991.
- Borowsky B, Kuhn CM (1991) Monoamine mediation of cocaine-induced hypothalamo-pituitary-adrenal activation. *J Pharmacol Exp Ther* 256:204–210.
- 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.
- Carroll ME, Lac ST (1993) Autoshaping i.v. cocaine self-administration in rats: effects of nondrug alternative reinforcers on acquisition. *Psychopharmacology (Berl)* 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.
- Collier G, Novell K (1967) Saccharin as a sugar surrogate. *J Comp Physiol Psychol* 64:401–408.
- Cooper SJ, McClelland A (1980) Effects of chlordiazepoxide, food familiarization, and prior shock experience on food choice in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 12:23–28.
- Degenhardt L, Bohnert KM, Anthony JC (2008) Assessment of cocaine and other drug dependence in the general population: 'gated' versus 'ungated' approaches. *Drug Alcohol Depend* 93:227–232.
- Deroche-Gamonet V, Belin D, Piazza PV (2004) Evidence for addiction-like behavior in the rat. *Science* 305:1014–1017.
- DeVries AC, Pert A (1998) Conditioned increases in anxiogenic-like behavior following exposure to contextual stimuli associated with cocaine are mediated by corticotropin-releasing factor. *Psychopharmacology (Berl)* 137:333–340.
- Duke AN, Platt DM, Cook JM, Huang S, Yin W, Mattingly BA, Rowlett JK (2006) Enhanced sucrose pellet consumption induced by benzodiazepine-type drugs in squirrel monkeys: role of GABAA receptor subtypes. *Psychopharmacology (Berl)* 187:321–330.
- Ettenberg A, Geist TD (1991) Animal model for investigating the anxiogenic effects of self-administered cocaine. *Psychopharmacology (Berl)* 103:455–461.
- Fontana DJ, Commissaris RL (1989) Effects of cocaine on conflict behavior in the rat. *Life Sci* 45:819–827.
- Gearhardt AN, Corbin WR, Brownell KD (2009) Preliminary validation of the Yale Food Addiction Scale. *Appetite* 52:430–436.
- Geist TD, Ettenberg A (1997) Concurrent positive and negative goalbox events produce runway behaviors comparable to those of cocaine-reinforced rats. *Pharmacol Biochem Behav* 57:145–150.
- Goeders NE, Clampitt DM, Keller C, Sharma M, Guerin GF (2009) Alprazolam and oxazepam block the cue-induced reinstatement of extinguished cocaine seeking in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 201:581–588.
- Goeders NE, Guerin GF (2008) Effects of the combination of metyrapone and oxazepam on cocaine and food self-administration in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 91:181–189.
- Goeders NE, McNulty MA, Guerin GF (1993) Effects of alprazolam on intravenous cocaine self-administration in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 44:471–474.
- Goeders NE, McNulty MA, Mirkis S, McAllister KH (1989) Chlordiazepoxide alters intravenous cocaine self-administration in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 33:859–866.
- Grimm JW, Fyall AM, Osincup DP (2005) Incubation of sucrose craving: effects of reduced training and sucrose pre-loading. *Physiol Behav* 84:73–79.
- Haney M (2009) Self-administration of cocaine, cannabis and heroin in the human laboratory: benefits and pitfalls. *Addict Biol* 14:9–21.
- Hyman SE, Malenka RC (2001) Addiction and the brain: the neurobiology of compulsion and its persistence. *Nat Rev Neurosci* 2:695–703.
- Kenny PJ (2011) Reward mechanisms in obesity: new insights and future directions. *Neuron* 69:664–679.
- Knackstedt LA, Ettenberg A (2005) Ethanol consumption reduces the adverse consequences of self-administered intravenous cocaine in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 178:143–150.
- Lenoir M, Serre F, Cantin L, Ahmed SH (2007) Intense sweetness surpasses cocaine reward. *PLoS ONE* 2:e698.
- Maier EY, Ledesma RT, Seiwel AP, Duvauchelle CL (2008) Diazepam alters cocaine self-administration, but not cocaine-stimulated locomotion or nucleus accumbens dopamine. *Pharmacol Biochem Behav* 91:202–207.
- Mantsch JR, Goeders NE (1998) Generalization of a restraint-induced discriminative stimulus to cocaine in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 135:423–426.
- Martin CS, Chung T, Langenbucher JW (2008) How should we revise diagnostic criteria for substance use disorders in the DSM-V? *J Abnorm Psychol* 117:561–575.
- Meririnne E, Kankaanpää A, Lillsunde P, Seppälä T (1999) The effects of diazepam and zolpidem on cocaine- and amphetamine-induced place preference. *Pharmacol Biochem Behav* 62:159–164.
- Mohler H, Fritschy JM, Rudolph U (2002) A new benzodiazepine pharmacology. *J Pharmacol Exp Ther* 300:2–8.
- Moldow RL, Fischman AJ (1987) Cocaine induced secretion of ACTH, beta-endorphin, and corticosterone. *Peptides* 8:819–822.
- Morris HV, Nilsson S, Dixon CI, Stephens DN, Clifton PG (2009) Alpha1- and alpha2-containing GABAA receptor modulation is not necessary for benzodiazepine-induced hyperphagia. *Appetite* 52:675–683.
- Olsen CM (2011) Natural rewards, neuroplasticity, and non-drug addictions. *Neuropharmacology* in press.
- Paine TA, Jackman SL, Olmstead MC (2002) Cocaine-induced anxiety: alleviation by diazepam, but not buspirone, dimenhydrinate or diphenhydramine. *Behav Pharmacol* 13:511–523.
- Parker LA (1991) Chlordiazepoxide nonspecifically enhances consumption of saccharin solution. *Pharmacol Biochem Behav* 38:375–377.
- Pecina S, Berridge KC (1996) Brainstem mediates diazepam enhancement of palatability and feeding: microinjections into fourth ventricle versus lateral ventricle. *Brain Res* 727:22–30.
- Preti A (2007) New developments in the pharmacotherapy of cocaine abuse. *Addict Biol* 12:133–151.
- Richardson DK, Reynolds SM, Cooper SJ, Berridge KC (2005) Endogenous opioids are necessary for benzodiazepine palatability enhancement: naltrexone blocks diazepam-induced increase of sucrose-'liking'. *Pharmacol Biochem Behav* 81:657–663.
- Rivier C, Vale W (1987) Cocaine stimulates adrenocorticotropin (ACTH) secretion through a corticotropin-releasing factor (CRF)-mediated mechanism. *Brain Res* 422:403–406.
- Roberts DC, Morgan D, Liu Y (2007) How to make a rat addicted to cocaine. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 31:1614–1624.
- Rogério R, Takahashi RN (1992) Anxiogenic properties of cocaine in the rat evaluated with the elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav* 43:631–633.
- Shearman GT, Lal H (1981) Discriminative stimulus properties of cocaine related to an anxiogenic action. *Prog Neuropsychopharmacol* 5:57–63.
- Smith JC, Scalfani A (2002) Saccharin as a sugar surrogate revisited. *Appetite* 38:155–160.
- Stanhope KJ, Roe S, Dawson G, Draper F, Jackson A (1993) Effect of the benzodiazepine receptor agonist, zolpidem, on palatable fluid consumption in the rat. *Psychopharmacology (Berl)* 111:185–189.
- Treit D (1985) Animal models for the study of anti-anxiety agents: a review. *Neurosci Biobehav Rev* 9:203–222.

- Treit D, Berridge KC (1990) A comparison of benzodiazepine, serotonin, and dopamine agents in the taste-reactivity paradigm. *Pharmacol Biochem Behav* 37:451–456.
- Treit D, Berridge KC, Schultz CE (1987) The direct enhancement of positive palatability by chlordiazepoxide is antagonized by Ro 15-1788 and CGS 8216. *Pharmacol Biochem Behav* 26:709–714.
- Valenstein ES, Cox VC, Kakolewski JW (1967) Polydipsia elicited by the synergistic action of a saccharin and glucose solution. *Science* 157:552–554.
- Vanderschuren LJ, Everitt BJ (2004) Drug seeking becomes compulsive after prolonged cocaine self-administration. *Science* 305:1017–1019.
- 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.
- Wakefield JC (2007) The concept of mental disorder: diagnostic implications of the harmful dysfunction analysis. *World Psychiatry* 6:149–156.
- Walsh SL, Donny EC, Nuzzo PA, Umbricht A, Bigelow GE (2010) Cocaine abuse versus cocaine dependence: cocaine self-administration and pharmacodynamic response in the human laboratory. *Drug Alcohol Depend* 106:28–37.
- Weerts EM, Froestl W, Griffiths RR (2005) Effects of GABAergic modulators on food and cocaine self-administration in baboons. *Drug Alcohol Depend* 80:369–376.
- Wise RA, Dawson V (1974) Diazepam-induced eating and lever pressing for food in satiated rats. *J Comp Physiol Psychol* 86:930–941.
- Yang XM, Gorman AL, Dunn AJ, Goeders NE (1992) Anxiogenic effects of acute and chronic cocaine administration: neurochemical and behavioral studies. *Pharmacol Biochem Behav* 41:643–650.

ARTICLE 4

La préférence pour le goût sucré face à la cocaïne persiste malgré une pré-exposition et un accès illimité au goût sucré

Contexte : Lorsqu'ils ont l'opportunité de choisir entre la cocaïne et une récompense alternative, la plupart des rats abandonnent la cocaïne en faveur de l'eau sucrée, en dépit de signes comportementaux qui auraient pu être interprétés comme des signes d'addiction (escalade de la consommation à la suite d'un accès étendu). Cependant, dans nos études, les animaux sont initialement naïfs pour le goût sucré, ce qui contraste fortement avec l'expérience humaine caractérisée par une pré-exposition, voire une surexposition, précoce au goût sucré.

But de l'étude : Nous avons cherché à savoir si les animaux évitaient la cocaïne en raison de l'attrait pour la nouveauté du goût sucré et si une habitude initiale au goût sucré pouvait impacter sur leur comportement de choix.

Méthodologie : Dans une première expérience, un groupe de rats ayant eu un accès illimité pendant un mois à une solution de saccharine a été testé dans notre protocole de choix discret habituel. Enfin, nous avons testé l'effet de la satiété sur la préférence des animaux en donnant un accès illimité à la solution sucrée à un second groupe de rats dans leur cage pendant la phase de choix.

Principaux résultats : Malgré une exposition importante au goût sucré (50 ml par jour par animal), les animaux ne montrent aucun signe d'habitude puisqu'ils préfèrent toujours très majoritairement l'option alternative à la drogue. De plus, la satiété (les animaux ayant bu presque 80 ml entre les séances de choix) pour la saccharine ne modifie pas le comportement de choix des animaux.

Conclusions : Cette étude confirme que lorsqu'ils ont le choix entre la drogue et une récompense alternative, la plupart des animaux se détournent de la cocaïne. De plus, ni l'habitude au goût sucré (à travers une période d'exposition d'un mois) ni la satiété ne diminuent le choix d'abstinence des animaux. Ces résultats indiquent que l'attrait pour la

Résultats expérimentaux

nouveauté du goût sucré ne joue pas de rôle significatif dans l'établissement de la préférence des animaux confrontés à un choix entre cocaïne et une solution sucrée.

Preference for sweetness over cocaine persists despite pre-exposure and *ad libitum* access to sweet taste

Eric Augier, Claudia Mihindou , Caroline Vouillac & Serge H. Ahmed*

Université de Bordeaux, Institut des Maladies Neurodégénératives, UMR 5293, F-33000
Bordeaux, France

CNRS, Institut des Maladies Neurodégénératives, UMR 5293, F-33000 Bordeaux, France

***Corresponding author:**

Serge H. Ahmed

Institut des Maladies Neurodégénératives - CNRS UMR 5293

Université Victor Segalen-Bordeaux 2,

146 rue Léo-Saignat

33076 Bordeaux, France

Tel : +33 557 571 566

Fax : +33 556 900 278

Email : sahmed@u-bordeaux2.fr

Home page : <http://imn-bordeaux.org>

ABSTRACT

When offered the opportunity to choose between cocaine and an inessential nondrug reward (i.e., water sweetened with saccharin), most rats quit cocaine in favor of the alternative reward, despite the presence of behavioral signs that could be interpreted as addiction-like (e.g., escalated drug use and increased drug motivation). Only a minority of rats continues to prefer to self-administer the drug. This pattern of individual variation maps well with current epidemiology of human cocaine addiction (which only affects a minority of drug users) and could indicate that the majority of rats are resilient to addiction, taking the drug merely by default of other options rather than compulsively. The present study sought to determine whether rats' sweet preference can be modulated by taste habituation and satiation. Here we report that rats still prefer sweetness over cocaine even following a one-month pre-exposure to sweet water (i.e., 24/24h unlimited access to sweet water for 26 days). In addition, once acquired, expression of sweet preference persisted even when rats had *ad libitum* access to sweet water between daily sessions of choice. All together, there was no evidence for habituation to and satiation for saccharin. Such lack of habituation to and/or satiation for saccharin may explain, at least partly, why saccharin is so reinforcing in rats. This conclusion confirms previous research suggesting that cocaine has a low reward value compared to taste sweetness and that most rats are probably resilient to addiction.

Key-words:

Addiction; choice; sugar; cocaine; habituation; satiety.

INTRODUCTION

One of the major goals in the addiction field is to understand the transition from a recreational state of drug use to a compulsive drug use. According to epidemiological reports, only a small minority of consumers would fall into a compulsive drug use (i.e., 12-16%), while most cocaine users are able to control their recreational drug use, suggesting they would be resilient to cocaine addiction (Anthony, 2002, Degenhardt et al., 2008). Over recent years, few attempts have been made to model the transition to cocaine addiction in non-human animals, especially in rats (by far the most used animal model in drug self-administration), with the purpose to better understand the underlying neurobiology of drug addiction (Ahmed and Koob, 1998, Deroche-Gamonet et al., 2004, Vanderschuren and Everitt, 2004, Roberts et al., 2007). All together, these studies have contributed to show that following an extended, but not limited, access to self-administrated cocaine, rats develop a number of specific behavioral changes that appear to be addiction-like (e.g., escalated drug use and increased drug motivation) (Ahmed, 2011a, Ahmed, 2011b).

It is not clear, however, whether these behavioral changes reflect a real loss of control over cocaine self-administration (which is one of the major criteria of addiction as a psychiatric disorder) or simply reflect a lack of choice or options during access to cocaine for self-administration (Ahmed, 2010). Indeed, without any possibility of alternative choice other than drug use, rats may self-administer cocaine by default rather by compulsion (Hyman and Malenka, 2001, Ahmed, 2010). In order to directly assess this issue, we have recently developed a choice model (Lenoir et al., 2007) and found, very surprisingly, that when cocaine self-administering rats have the opportunity to choose between cocaine and a potent, though biologically inessential, alternative reward (i.e., water sweetened with a non caloric sweetener, saccharin), most rats (i.e., 85-94 %) quit cocaine for sweet water. Sweet preference over cocaine was seen even following a history of extended access to cocaine

self-administration and regardless of the dose of cocaine available. In fact, sweet preference was robust to a large range of experimental conditions and factors (e.g., drug sensitization; drug intoxication; response effort; reward delay) (Ahmed, 2011b) and could be not attributed to some anxiogenic effects of cocaine (Augier et al., 2011). Only few rats (i.e., roughly 10%) prefer the drug following extended drug use despite the negative consequences associated with drug preference (Cantin et al., 2010).

This pattern of individual variation is concordant with previous research in monkeys (Nader and Woolverton, 1991) and fits well the known epidemiology of cocaine addiction (Anthony, 2002). This pattern convergence across humans and experimental rats could indicate that only a minority of rats would be vulnerable to cocaine addiction while the large majority would be resilient, taking cocaine merely by default of other available options. The present study sought to further test this hypothesis by continuing to measure the robustness of rats' sweet preference over cocaine. Specifically, this study attempted to modulate sweet preference by habituation to and satiation for saccharin. Habituation or satiation generally influences the motivation and consumption of non-drug rewarding stimuli (Mook, 1996). In one experiment, rats were pre-exposed to sweet water for one month before onset of choice sessions, thereby reducing sweet taste novelty. During saccharin pre-exposure, they had 24/24h unlimited access to water sweetened with saccharin 0.2% in their home cages. This experiment was also designed to better approach the human condition where people have generally a long experience with sweet foods and beverages before experimenting with cocaine. If pre-exposure to sweet taste reduces the reinforcing value of sweet water, then one should observe a reduction in sweet preference in favor of cocaine choice. In another experiment, after expression of sweet preference, rats were given *ad libitum* access to sweet water between choice sessions to measure whether sweet satiation could alter the expression of sweet preference.

MATERIALS AND METHODS

Subjects

Twenty-three naïve male Wistar rats (Charles River, France, 353-464 g at the beginning of the experiment) were used in the present experiments. Rats were housed in groups of 2-3 and were maintained in a light- (12-h reverse light-dark cycle) and temperature-controlled vivarium ($23 \pm 2^{\circ}\text{C}$). All behavioral testing occurred during the dark phase of the light-dark cycle. Food and water were freely available in the home cages throughout the duration of the experiment and consisted of standard rat chow A04 (SAFE, Scientific Animal Food and Engineering, Augy, France) that contained 60% of carbohydrates (largely corn starch), 16% of proteins, 12% of water, 5% of minerals, 3% of fat and 4% of cellulose. All experiments were carried out in accordance with institutional and international standards of care and use of laboratory animals [UK Animals (Scientific Procedures) Act, 1986; and associated guidelines; the European Communities Council Directive (86/609/EEC, 24 November 1986) and the French Directives concerning the use of laboratory animals (décret 87-848, 19 October 1987)]. All experiments have been approved by the Committee of the Veterinary Services Gironde, agreement number B-33-063-5, 13 June 2006.

Surgery

Anesthetized rats [mixture of xylazine (15 mg/kg, i.p., Merial, Lyon, France) and ketamine (110 mg/kg, i.p., Bayer Pharma, Lyon, France)] were surgically prepared with silastic catheters (Dow Corning Corporation, Michigan, USA) in the right jugular vein that exited the skin in the middle of the back about 2 cm below the scapulae. After surgery, catheters were flushed daily with 0.2 ml of a sterile antibiotic solution containing heparinized saline (280 IU / ml) and ampicilline (Panpharma, Fougères, France). When a catheter leakage was

suspected, the patency of the catheter was checked by an intravenous administration of etomidate (1 mg/kg, Braun Medical, Boulogne-Billancourt, France), a short-acting non-barbiturate anesthetic. Behavioral testing began 7-10 days after surgery.

Apparatus

Twelve identical operant chambers (30 x 40 x 36 cm) were used for all behavioral training and testing (Imetronic, Pessac, France). All chambers were located away from the colony room in a dimly lit room. They were individually enclosed in wooden cubicles equipped with a white noise speaker (45 ± 6 dB) for sound-attenuation and an exhaust fan for ventilation. These chambers have been described in detail elsewhere (Augier et al., 2011). Briefly, each chamber was equipped with 2 automatically retractable levers (Imetronic), a commercially-available lickometer circuit (Imetronic), two syringe pumps, a single-channel liquid swivel (Lomir biomedical Inc., Quebec, Canada) and two pairs of infrared beams (Imetronic).

General behavioral procedure

Fixed-ratio schedule

Before choice testing, rats were trained for cocaine and saccharin self-administration as described previously (Cantin et al., 2010). Briefly, after an initial habituation to the self-administration chamber (two consecutive 2-h daily sessions during which levers were retracted), rats were allowed to self-administer saccharin (20-s of access to water containing 0.2% saccharin, left lever) or cocaine (0.25 mg, i.v., right lever) on alternate days under a FR1TO20s reinforcement schedule. The TO period was signaled by turning on a light cue above the corresponding lever. FR1 sessions ended after rats had earned a maximum of 30 rewards or 3h had elapsed. The maximum number of saccharin or cocaine rewards was

limited to 30 per session to ensure approximately equal exposure to both rewards before choice testing.

Discrete-trials choice procedure

After initial training, rats were allowed to choose between cocaine and saccharin under a discrete-trials choice schedule, as described in details previously (Lenoir et al., 2007, Cantin et al., 2010). A schematic diagram of this choice procedure is also presented elsewhere (Lenoir et al., 2007). Each daily choice session consisted of 12 discrete trials, spaced by 10 min, and divided into two successive phases, reward sampling (4 trials) and choice (8 trials). During reward sampling, each trial began with the presentation of one single lever in this alternative order: lever C – lever S – lever C – lever S. Lever C was presented first to prevent an eventual drug-induced conditioned taste aversion (Lenoir et al., 2007). If rats responded within 5 min on the available lever, they were rewarded by the corresponding reward (i.e., 0.25 mg cocaine delivered intravenously or 20-s access to water sweetened with 0.2% saccharin). Reward delivery was signaled by retraction of the lever and a 40-s illumination of the cue-light above this lever. If rats failed to respond within 5 min, the lever retracted and no cue-light or reward was delivered. Thus, during sampling, rats were allowed to separately evaluate each reward before making their choice. During choice, each trial began with the simultaneous presentation of both levers S and C. Rats had to select one of the two levers. Reward delivery was signaled by retraction of both levers and a 40-s illumination of the cue-light above the selected lever. If rats failed to respond on either lever within 5 min, both levers retracted and no cue-light or reward was delivered. The response requirement of each reward was set to 2 consecutive responses (i.e., FR2) to avoid eventual accidental choice. A response on the alternate lever before satisfaction of the response requirement reset it. Response resetting occurred very rarely, however. Rats were tested in this choice procedure until stabilization of choice performance (i.e., no increasing or decreasing trend across 3 consecutive sessions and between-session variation < 10%).

Experiment 1: pre-exposure to sweet water before choice testing

One week after surgery and before operant training and choice testing, rats ($n = 11$) were chronically pre-exposed to water sweetened with saccharin for one month. During saccharin pre-exposure, they had 24/24h unlimited access to two bottles in their home cages: one containing tap water and the other containing water sweetened with 0.2% saccharin. The side of the bottles was counterbalanced across days to avoid side preference. Solutions were renewed every other days at around 5 p.m. Twenty-four-hour water and saccharin consumptions (in ml) were measured daily by weighing the bottles, except on Sunday. In addition, during this one-month habituation period, rats were weighed daily, except on Sunday.

Experiment 2: *ad libitum* access to sweet water between choice sessions

In this experiment, rats ($n = 12$) were not pre-exposed to sweet water before operant training and choice testing. After acquisition of sweet preference, they were given *ad libitum* access to saccharin between sessions of choice for 7 consecutive days. Specifically, rats had unlimited and exclusive access to sweet water in their home cages during the 21.5-h intervals between choice sessions. The effects of *ad libitum* access to saccharin on preference scores were compared to baseline scores (i.e., average score over last 3 stable sessions).

Drugs

Cocaine hydrochloride (Coopération Pharmaceutique Française, France) was dissolved in 500-ml sterile bags of 0.9% NaCl and kept at room temperature ($21 \pm 2^\circ\text{C}$). Drug doses were expressed as the weight of the salt. Sodium saccharin (Sigma-Aldrich, France) was

dissolved in tap water at room temperature ($21 \pm 2^{\circ}\text{C}$). Sweet solutions were renewed each day.

Data Analysis

The indifference level between water sweetened with saccharin and cocaine was conveniently normalized at 0 in the discrete-trials choice procedure (Lenoir et al., 2007). Scores above 0 indicated a preference for the nondrug alternative (i.e., selection of this reward > 50% of completed choice trials) while scores below 0 indicated a preference for cocaine (i.e., selection of this reward > 50% of completed choice trials). Response latencies during sampling or choice corresponded to the time (in s) required to complete the FR2 reinforcement requirement after trial onset. When a rat failed to respond within 5 min after trial onset, it was assigned a maximal response latency of 300s. Statistical analyses were run using Statistica, version 7.1 (Statsoft, Inc France). To assess the effects of sweet taste habituation on the acquisition of sweet preference, data obtained in saccharin-habituated rats were compared with previous data obtained in control rats ($n = 43$) with identical behavioral training history, except for saccharin habituation. Since rats were group-housed in their home cages, per capita consumption of sweet water or water in the home cages was calculated by dividing the volume drank per cage by the number of rats per cage.

RESULTS

Experiment 1: effects of pre-exposure to sweet water on the acquisition of sweet preference

During the one-month habituation period to saccharin, rats developed a rapid preference for sweet water, drinking about 7 times more sweet water than water each day. As a result, at the end of the habituation period, rats drank a much larger total volume of sweet water than tap water ($t_4 = -4.5$, $p < 0.05$) (Figure 1A). Despite this long pre-exposure to and high consumption of sweet water, rats nevertheless rapidly developed the same preference for sweet water over cocaine during choice testing than non-pre-exposed controls ($n = 43$) (Group: $F_{1,52} = 1.03$, ns; Session: $F_{4,208} = 8.93$, $p < 0.01$; Group x Session interaction: $F_{4,208} = 1.22$, ns) (Figure 1B). In addition, both groups rapidly learned to complete the maximum number of choice trials available (Group: $F_{1,52} = 0.87$, ns; Session: $F_{4,208} = 3.73$, $p < 0.01$; Group x Session interaction: $F_{4,208} = 0.45$, ns) (Figure 1C) and learned equally to sample maximally saccharin during reward sampling (data not shown).

Experiment 2: effects of ad libitum access to sweet water on the expression of sweet preference

After acquisition of stable sweet preference over cocaine, a separate group of rats ($n = 12$) were given *ad libitum* access to sweet water between choice sessions during 7 days. During inter-session *ad libitum* access to sweet water, rats consumed on average 84.0 ± 10.9 ml per day per rat. However, this large amount was apparently not sufficient to produce satiety because rats continued to prefer sweet water over cocaine compared to baseline choice performance (Figure 2A) (Dunnett test, $p < 0.5$). Inter-session *ad libitum* access to saccharin had also no significant impact on completed choice trials (Figure 2B) and on saccharin sampling which was maximal throughout the experiment (Figure 2C).

DISCUSSION

The present study confirms previous research indicating that when offered a choice between sweet water and cocaine, cocaine self-administering rats abstain from cocaine for sweet water (Lenoir et al., 2007, Cantin et al., 2010). Interestingly, pre-exposure to *ad libitum* access to saccharin for one month before choice testing has no effect on the acquisition of sweet preference. This apparent lack of sweet taste habituation cannot be attributed to an insufficient exposure to saccharin because rats drank an abnormally high level of sweet water during the pre-exposure period (i.e., almost 2 liters per rat which is 7 times higher than water consumption). This outcome rather suggests that the novelty of sweet taste does not play a major role in its relative reinforcing effect and that if the reinforcing value of saccharin is decreased following pre-exposure to *ad libitum* saccharin, this decrease is apparently not sufficient to shift preference toward cocaine use. This outcome also shows that better mimicking in rats the human condition where people are first exposed to sweet stimuli before experimenting on drugs does not affect the pattern of individual variation in cocaine choice reported previously (i.e., cocaine abstinence in most rats, cocaine preference in few rats), thereby strengthening its robustness and validity. It is worth noting here that there is possibly a critical period in the development of saccharin habituation. In the present experiment, rats were pre-exposed to saccharin at about 2.5 months of age. It is possible that an earlier pre-exposure to saccharin could have induced saccharin habituation in adulthood and thus an increase in cocaine choice. Previous research, however, does not support this critical period hypothesis (Wurtman and Wurtman, 1979) though additional research is clearly warranted.

The present study also shows that *ad libitum* access to saccharin between choice sessions has no significant impact on the expression of sweet preference once acquired. Importantly, during intersession *ad libitum* access to saccharin in their home cages, rats drank a large volume of saccharin (i.e., about 80 ml). However, this high intake was apparently not sufficient to induce satiety during choice testing because rats sampled saccharin as

frequently as during baseline (data not shown) and continued to prefer saccharin over cocaine during choice trials. The persistence of sweet preference over cocaine is particularly remarkable because rats had no other opportunity to take cocaine outside the choice setting while they had free access to saccharin between sessions. This interpretation is limited, however, by our ignorance of the inter-session pattern of saccharin consumption. For instance, it is possible that during each inter-session interval, rats drank most saccharin early in the interval and not near the onset of choice sessions, thereby being not fully satiated immediately before choice testing. This alternative hypothesis is unlikely, however, because rats were tested for choice few hours after the beginning of the active period, a time generally associated with an increased in food and water consumption. Future research is needed to better test this hypothesis.

In conclusion, the present series of experiments shows no evidence for saccharin habituation or satiation. These processes probably play no major role in rats' preference for sweetness over cocaine and thus confirm previous research suggesting that cocaine has a low reward value and that most rats are resilient to addiction. In fact, lack of habituation to and/or satiation for saccharin may contribute to explain, at least partly, why saccharin is so reinforcing in rats compared to cocaine.

DISCLOSURE/CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Anne Fayoux and Stephane Lelgouach for animal care, Pierre Gonzalez for technical assistance, Marie-Hélène Bruyères for administrative assistance and Alain Labarriere for house-keeping assistance. We also thank Gaëlle Le Pape and Dr Karine Guillem for comments on a previous draft of this article. This work was supported by the Université Victor-Segalen Bordeaux 2, the French Research Council (CNRS), the National Research Agency (ANR), the Conseil Regional d'Aquitaine and the Mission Interministerielle de Lutte contre les Drogues et la Toxicomanie (MILDT).

REFERENCES

- Ahmed SH (2010) Validation crisis in animal models of drug addiction: beyond non-disordered drug use toward drug addiction. *Neurosci Biobehav Rev* 35:172-184.
- Ahmed SH (2011a) Escalation of drug use. In: Olmstead, M. C. (Ed.), *Animal Models of Drug Addiction*, *Neuromethods*, vol.53. Humana Press, New York, pp. 267-292.
- Ahmed SH (2011b) The science of making drug-addicted animals. *Neuroscience*.
- Ahmed SH, Koob GF (1998) Transition from moderate to excessive drug intake: change in hedonic set point. *Science* 282:298-300.
- Anthony JC (2002) Epidemiology of drug dependence. In: Davis, K. L. et al. (Eds.), *Neuropsychopharmacology: the fifth generation of progress*. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, pp. 1557-1573.
- Augier E, Vouillac C, Ahmed SH (2011) Diazepam promotes choice of abstinence in cocaine self-administering rats. *Addict Biol*.
- 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.
- Degenhardt L, Bohnert KM, Anthony JC (2008) Assessment of cocaine and other drug dependence in the general population: "gated" versus "ungated" approaches. *Drug Alcohol Depend* 93:227-232.
- Deroche-Gamonet V, Belin D, Piazza PV (2004) Evidence for addiction-like behavior in the rat. *Science* 305:1014-1017.
- Hyman SE, Malenka RC (2001) Addiction and the brain: the neurobiology of compulsion and its persistence. *Nat Rev Neurosci* 2:695-703.
- Lenoir M, Serre F, Cantin L, Ahmed SH (2007) Intense sweetness surpasses cocaine reward. *PLoS One* 2:e698.
- Mook DG (1996) *Motivation: the organization of action*. New York: W. W. Norton & Company.

- Nader MA, Woolverton WL (1991) Effects of increasing the magnitude of an alternative reinforcer on drug choice in a discrete-trials choice procedure. *Psychopharmacology (Berl)* 105:169-174.
- Roberts DC, Morgan D, Liu Y (2007) How to make a rat addicted to cocaine. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 31:1614-1624.
- Vanderschuren LJ, Everitt BJ (2004) Drug seeking becomes compulsive after prolonged cocaine self-administration. *Science* 305:1017-1019.
- Wurtman JJ, Wurtman RJ (1979) Sucrose consumption early in life fails to modify the appetite of adult rats for sweet foods. *Science* 205:321-322.

FIGURE LEGENDS

Figure 1 Effects of pre-exposure to sweet water on acquisition of sweet preference. **(a)** Per capita total consumption ($\pm$ s.e.m.) of water (W) and water sweetened with 0.2% saccharin (SW) in the home cages over the one-month habituation period preceding choice testing. **(b)** Mean preference scores ($\pm$ s.e.m.) of saccharin-pre-exposed rats (PRE) and non-pre-exposed controls (CTL) as a function of testing days. The horizontal dashed line at 0 indicates the indifference level. Values above 0 indicate a preference for sweet water while values below 0 indicate a preference for intravenous cocaine. **(c)** Mean percent number ($\pm$ s.e.m.) of completed choice trials by saccharin-pre-exposed rats (PRE) and non-pre-exposed controls (CTL) as a function of testing days.

Figure 2 Effects of *ad libitum* access to sweet water on expression of sweet preference **(a)** Mean preference scores ($\pm$ s.e.m.) during baseline (BL) and during inter-session *ad libitum* access to saccharin in the home cages. The horizontal dashed line at 0 indicates the indifference level. Values above 0 indicate a preference for sweet water while values below 0 indicate a preference for intravenous cocaine. **(b)** Mean percent number ($\pm$ s.e.m.) of completed choice trials during baseline (BL) and during inter-session *ad libitum* access to saccharin in the home cages. **(c)** Mean percent number ($\pm$ s.e.m.) of saccharin sampling during baseline (BL) and during inter-session *ad libitum* access to saccharin in the home cages.

Figure 1

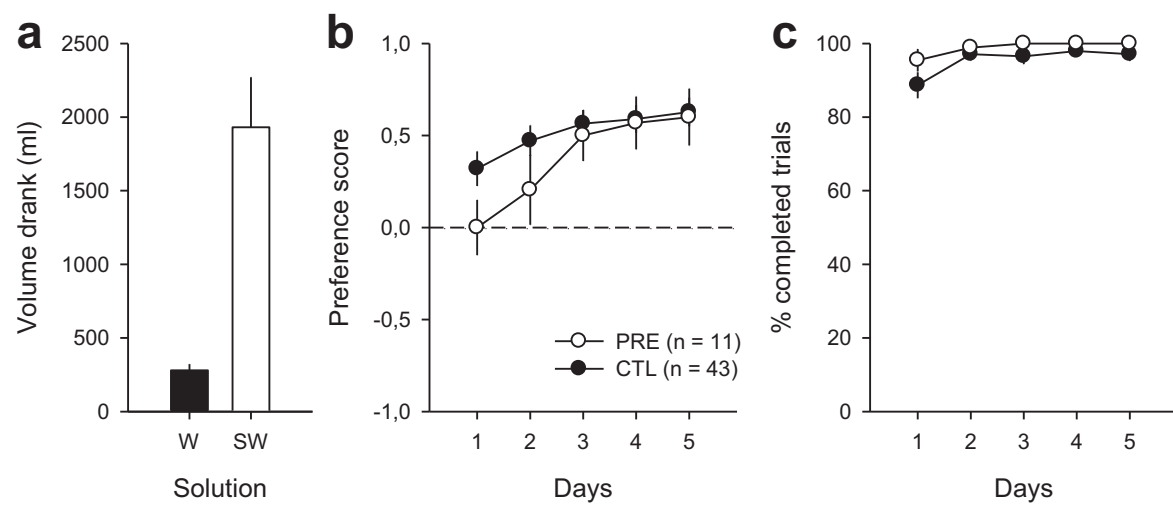
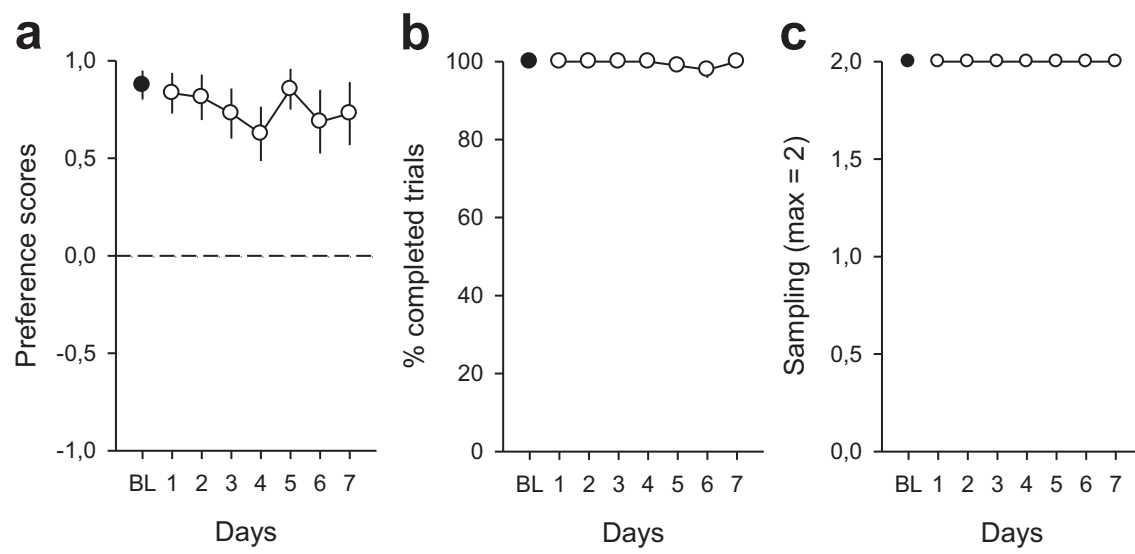


Figure 2



ARTICLE 5

Contrôle inhibiteur de la prise de drogue chez le rat et son absence chez les individus dépendants

Contexte : La majorité des personnes qui ont consommé ou expérimenté la cocaïne n'ont pas développé d'addiction. Elles ont arrêté d'en prendre, la plupart du temps pour éviter les conséquences négatives potentielles que la prise de drogue aurait pu avoir sur de futurs accomplissements (échec scolaire, difficulté de trouver un emploi et de le garder ...). Cette capacité de refréner sa consommation et de s'abstenir de la cocaïne pour éviter une interférence avec des activités futures reflète l'existence chez l'être humain d'un puissant mécanisme de contrôle et d'inhibition. L'absence ou la perte de ce mécanisme pourrait expliquer pourquoi une minorité de consommateurs de cocaïne tombe dans l'addiction.

But de l'étude : Nous avons voulu tester s'il était possible de mettre en évidence l'existence d'un tel mécanisme de contrôle et d'inhibition de la prise de cocaïne chez le rat, en montrant que les animaux étaient capables de refréner leur prise de drogue au profit d'une activité alternative qui n'a pas ou peu de valeur immédiate, mais qui deviendra plus valorisante dans le futur.

Méthodologie : Pour cela, nous avons mis au point un nouveau protocole de choix qui favorise la satiété pour l'eau sucrée, dans lequel pour la première fois, l'animal est libre de contrôler le moment du choix. Dans ce protocole, les rats ont d'abord appris lors de séances alternées de trois heures à s'auto-administrer de la cocaïne et de la saccharine selon une chaîne comportementale. Les animaux devaient visiter dix fois un trou central pour obtenir la présentation d'un levier associé avec l'une ou l'autre des récompenses. Après stabilisation de leur performance, les animaux étaient testés en choix, la visite du trou central entraînant cette fois la présentation des deux leviers.

Principaux résultats : En accord avec nos précédents résultats obtenus, les animaux montrent dans ce nouveau modèle de choix, une préférence quasi-exclusive pour la saccharine. Seule une minorité préfère la cocaïne (moins de 15 %). Au cours de la séance de choix, les animaux finissent par ressentir une satiété pour l'eau sucrée, et perdent alors éventuellement leur intérêt pour la récompense alternative. Alors que la réponse des animaux pour la saccharine

était forte au début de la séance, celle-ci devient plus erratique, ce qui se traduit par de longues pauses pendant lesquels les animaux pourraient s'auto-administrer de la cocaïne, mais s'en abstiennent. Cette abstinence ne peut de plus être expliquée par un effet inhibiteur de la satiété et/ou de la fatigue (due à un grand nombre de réponses) sur la prise de cocaïne.

Conclusions : Pour la première fois, nous avons montré que la grande majorité des rats étaient capables de s'abstenir de prendre de la drogue lorsqu'ils étaient libres de le faire et même s'ils n'étaient pas intéressés par une activité alternative aux conséquences positives immédiates. Nous avons de plus observé qu'une minorité de rats semble incapable de s'abstenir et continue de s'auto-administrer de la drogue. Nous faisons l'hypothèse que cette capacité de contrôle et d'inhibition de la prise de cocaïne pourrait traduire une volonté d'éviter les interférences et effets négatifs que la cocaïne pourrait avoir sur une consommation future de saccharine.

Proactive inhibitory control of cocaine use in rats and lack thereof in addicted individuals

Eric Augier B.S., Caroline Vouillac B.S. & Serge H. Ahmed Ph.D.*

Université de Bordeaux, Institut des Maladies Neurodégénératives, UMR 5293, F-33000 Bordeaux, France

CNRS, Institut des Maladies Neurodégénératives, UMR 5293, F-33000 Bordeaux, France

***Corresponding author:**

Serge H. Ahmed

Institut des Maladies Neurodégénératives - CNRS UMR 5293

Université Victor Segalen-Bordeaux 2

146 rue Léo-Saignat

33076 Bordeaux, France

Tel: +33 557 571 566

Fax: +33 556 900 278

Email: sahmed@u-bordeaux2.fr

Most people who are using cocaine do not develop addiction but eventually choose to abstain to avoid future negative consequences on more beneficial goals. Such forward-looking choice reflects humans' ability for proactive inhibitory control – an ability that would be lacking in addicted individuals. Whether such inhibitory control (or lack thereof) can be found in animal models commonly used in addiction science is currently unknown. Here we report that most rats can exert strong proactive inhibitory control over cocaine intake, refraining from taking cocaine when otherwise free to do so and not presently engaged in other rewarding activities. Only few individuals lack this ability. These individuals provide a unique model for investigating how normal mechanisms of proactive inhibitory control of drug use dysfunction in addiction.

Most people who are using cocaine do not go on to develop addiction (1, 2). They eventually choose to stop taking cocaine, generally to avoid expected negative consequences on the pursuit of future competing goals (3). Abstinence from cocaine to avoid interference with future activities reflects humans' powerful ability for proactive inhibitory control as opposed to more reactive, situation-bound forms of inhibition (4-6). It is currently thought that this control ability is lacking or lost in individuals who become addicted to cocaine (7-9). A critical challenge for addiction science is to understand the mechanisms underlying this lack or loss of proactive inhibitory control function.

Much research in addiction science involves animal experiments, particularly in rats which are clearly capable to reactively inhibit cocaine self-administration under some circumstances (10-14). However, whether proactive inhibitory control and lack thereof in addicted individuals can be evidenced in rats is currently uncertain. To reveal such control, rats must, at the least, have the choice between cocaine self-administration and a different goal option – a condition that is rarely met in animal research on addiction (15). When this condition is satisfied, for instance, by allowing rats to choose between cocaine and a potent nondrug reward, many cocaine self-administering rats abstain for the nondrug pursuit, regardless of the dose available and even after a history of extended access to cocaine (16-18) which is known to induce drug intake escalation (19). Like in human cocaine addiction, only some individual rats continue to self-administer cocaine despite the opportunity to make a different, even more beneficial, choice (15, 16).

Preference for a nondrug pursuit is, however, not in itself sufficient evidence for proactive inhibitory control over cocaine intake in rats. It indicates that rats can reactively inhibit cocaine intake for a nondrug option that has a higher immediate value (16, 20). To demonstrate proactive inhibitory control, it must be shown that rats - that are otherwise free to take cocaine – refrain from it for an alternative activity that has currently no or little immediate value but that will predictably become

valuable in the future. Here we sought to reveal this control ability during satiety for sweet water – a potent nondrug option whose consumption can also be negatively impacted by cocaine (21). During satiety, consumption of sweet water has indeed no immediate value but predictably regains a high value over time, provided that rats refrain from taking cocaine.

Rats were progressively trained to choose between cocaine (0.25 mg per injection) and water sweetened with 0.2% saccharin (0.32 ml per access) under a novel self-paced choice procedure that promotes within-session saccharin satiation (22). Under this choice procedure, rats are free to control the rate of choice trials and thus the rate of reward consumption or level of drug intoxication. Briefly, before choice testing, rats were first trained on alternate daily no-choice sessions to self-administer cocaine or saccharin under an operant chain schedule of reinforcement (Fig. 1A). Rats had to poke their nose 10 times (fixed-ratio or FR10) in a central hole to extend one single lever (cocaine- or saccharin-paired lever depending on the training day). Then they had to press twice (FR2) on the extended lever to obtain the corresponding reward. Reward delivery was signaled by immediate retraction of the lever and illumination of a cue-light above it. Rats had to repeat this FR10-FR2 chain to obtain each next reward. The maximum number of saccharin or cocaine rewards was limited to 30 per session to ensure approximately equal exposure to both rewards before choice sessions. Rats successfully learned on alternate sessions to self-administer cocaine and saccharin under this chain schedule (Fig. 2A), though they obtained slightly less cocaine rewards than saccharin rewards per session (see also Fig. S1). Then, rats were allowed to choose for 5 daily sessions between cocaine or saccharin. During choice sessions, the operant chain schedule was the same as during no-choice sessions, except that completion of each FR10 nosepoke requirement was now immediately followed by the simultaneous presentation of the cocaine- and saccharin-paired levers (Fig. 1B), thereby allowing rats to choose between the two.

Choice sessions ended when rats completed 70 trials or 3h had elapsed. The number of trials per session was increased to 70 to allow for within-session occurrence of saccharin satiety (22).

As expected from previous research (15), rats showed a quasi-exclusive preference for saccharin from the first choice session onward (Fig. 2B). On 35 rats tested, only 5 rats preferred cocaine over saccharin as measured during the last 3 choice sessions (i.e., > 50% cocaine choices) (Fig. 2C). The remaining majority ($n = 30$) self-administered almost exclusively saccharin with few to no cocaine injections per 3-h session (mean: 1.5 ± 0.5 ; median: 0). Importantly, cocaine preference was not due to a lack of interest in or aversion to saccharin since cocaine-preferring rats responded as much for saccharin than saccharin-preferring rats during no-choice sessions of saccharin self-administration (mean rewards per session over last 3 sessions: 30.0 ± 0.0 versus 30.0 ± 0.0). Cocaine preference was rather associated with higher drug consumption during no-choice sessions of cocaine self-administration (mean injections per session over last 3 sessions: 30.0 ± 0.0 versus 22.7 ± 1.4). Finally, fitting the ordered distribution of individual preference scores with a 3-parameter sigmoid function revealed that cocaine preference was quasi-discontinuous from cocaine abstinence ($R^2 = 0.97$, $\beta = 1.63$) (Fig. 2C), showing that there was little overlap between these two phenotypes.

As predicted, saccharin-preferring rats become satiated and eventually lose interest in saccharin during the choice session (Fig. 3A). They initially consume saccharin rewards without pausing (first 30-60 min) but then begin to pause more often and longer before resuming consumption (Fig. 3A). During these satiety pauses, conservatively defined as lasting at least 5 min (22), rats were free to switch to cocaine self-administration but they refrained from doing so. For comparison, the same rats actively self-administered cocaine during no-choice sessions (Fig. 3B). To quantify lost opportunity to self-administer cocaine during saccharin satiety, we computed the total satiety pause

during the last choice session for each saccharin-preferring individual (22) and then multiplied this time by the individual's baseline rate of no-choice cocaine self-administration. On average, saccharin satiety time totaled 1.2 ± 0.1 h during which rats could have self-administered an average of 9.9 ± 1.6 injections but they self-administered none. Thus, though rats were free to self-administer cocaine when they were not immediately interested and engaged in saccharin consumption, they chose not to do so. In comparison, though most cocaine-preferring rats, like saccharin-preferring rats, first choose saccharin early in the session, they nevertheless rapidly switch to cocaine to almost never switch back to saccharin (Fig. S2). Cocaine-preferring rats are unable to refrain from taking cocaine for another activity that is not immediately engaging but that will predictably regain value soon.

To rule out possible non-specific effects of saccharin satiety and/or fatigue, a subgroup of saccharin-preferring rats ($n = 10$) was retested under a chain schedule of no-choice cocaine self-administration following different pre-session conditions (22). Fatigue was tested because before reaching saccharin satiety, rats typically produce a high number of nosepoke and lever press responses that may be exhausting. First, saccharin satiety alone (S) was induced by a 30-min pre-session access to free saccharin (i.e., no response requirement) during which rats drank a large volume of sweet water (18.6 ± 0.5 ml in 30 min). Pre-session access to free saccharin slightly decreased cocaine self-administration (Fig. 4A) but this effect was clearly not sufficient to explain cocaine abstinence during choice. This result shows that saccharin-satiated rats refrain from taking cocaine only when they have the opportunity to self-administer saccharin. Second, saccharin satiety plus fatigue (S+F) was induced by pre-session access to saccharin under a FR10-FR2 chain schedule during which rats produced several hundreds of nosepoke and lever press responses (424.1 ± 31.7). Pre-session access to effort-contingent saccharin did not interfere, however, with subsequent cocaine self-administration (Fig. 4A), ruling out a role of fatigue in

cocaine abstinence during choice. Finally, for comparison, pre-session access to free saccharin was also tested on choice between cocaine and saccharin. Pre-session access to free saccharin dramatically decreased subsequent saccharin choices (Fig. 4B) and increased total pause time (Fig. 4D) (for representative within-session reward distributions, see Fig. S3), thereby confirming that the rate and moment of saccharin choices are indeed influenced by satiety. However, though pre-session access to free saccharin considerably increased the opportunity time to take cocaine, there was no actual increase in absolute (Fig. 4B) or relative (Fig. 4C) cocaine choices, further demonstrating that rats are able to refrain from taking cocaine over long time periods.

We conclude that most cocaine self-administering rats possess the ability to abstain from taking cocaine when they are otherwise free to do so and when they are not immediately interested and engaged in a competing activity. Since nothing in the immediate situation (e.g., no physical barrier, no coercion, no immediately higher goal, no major interference from satiety alone or fatigue) explains cocaine abstinence in rats, we hypothesize that it results from the recruitment of proactive inhibitory control mechanisms. Accordingly, saccharin-satiated rats would choose to refrain from taking cocaine to avoid its expected negative effects on future saccharin consumption (21). This hypothesis uniquely predicts that rats should not refrain from taking cocaine when such interference is not expected (e.g., when there is no opportunity to self-administer saccharin) which is exactly what we found. More research is needed to determine whether and to what extent cocaine abstinence in rats depends on proactive inhibitory control comparable to that seen in humans (4-6). Nevertheless, the present study defines a unique and relevant animal model of voluntary cocaine abstinence for this endeavor. Like in human cocaine addiction (1), only few individual rats apparently lack or have lost this proactive control ability. The behavior of these deviant individuals during choice was clearly discontinuous from the majority, suggesting that it probably betrays an underlying dysfunction in control mechanisms (23). Such phenotypic discontinuity in choice

behavior should prove extremely useful for the objective and reliable identification of disordered individuals for future research in addiction science.

References and notes

1. L. Degenhardt, K. M. Bohnert, J. C. Anthony, *Drug Alcohol Depend* **93**, 227 (Mar 1, 2008).
2. C. P. Müller, G. Schumann, *Behavioral and Brain Sciences*, in press (2011).
3. N. D. Volkow, R. D. Baler, R. Z. Goldstein, *Neuron* **69**, 599 (Feb 24, 2011).
4. A. R. Aron, *Biol Psychiatry* **69**, e55 (Jun 15, 2011).
5. T. F. Heatherton, *Annu Rev Psychol* **62**, 363 (2011).
6. T. Suddendorf, M. C. Corballis, *Behav Brain Sci* **30**, 299 (Jun, 2007).
7. S. E. Hyman, *Am J Bioeth* **7**, 8 (Jan, 2007).
8. G. F. Koob, M. Le Moal, *Science* **278**, 52 (Oct 3, 1997).
9. A. I. Leshner, *Science* **278**, 45 (Oct 3, 1997).
10. D. Belin, A. C. Mar, J. W. Dalley, T. W. Robbins, B. J. Everitt, *Science* **320**, 1352 (Jun 6, 2008).
11. V. Deroche-Gamonet, D. Belin, P. V. Piazza, *Science* **305**, 1014 (Aug 13, 2004).
12. L. J. Vanderschuren, B. J. Everitt, *Science* **305**, 1017 (Aug 13, 2004).
13. J. J. Anker, N. E. Zlebnik, S. F. Navin, M. E. Carroll, *Psychopharmacology (Berl)* **215**, 785 (Jun, 2011).
14. D. N. Kearns, S. J. Weiss, C. W. Schindler, L. V. Panlilio, *J Exp Psychol Anim Behav Process* **31**, 247 (Apr, 2005).
15. S. H. Ahmed, *Neurosci Biobehav Rev* **35**, 172 (Nov, 2010).
16. L. Cantin *et al.*, *PLoS One* **5**, e11592 (2010).
17. M. E. Carroll, S. T. Lac, S. L. Nygaard, *Psychopharmacology (Berl)* **97**, 23 (1989).
18. M. Lenoir, F. Serre, L. Cantin, S. H. Ahmed, *PLoS One* **2**, e698 (2007).
19. S. H. Ahmed, G. F. Koob, *Science* **282**, 298 (Oct 9, 1998).
20. A. D. Redish, *Science* **306**, 1944 (Dec 10, 2004).
21. D. L. Wolgin, *Neurosci Biobehav Rev* **24**, 279 (May, 2000).

22. Detailed methods and additional data are presented in the supporting material on Science Online.
23. J. C. Wakefield, *Am Psychol* **47**, 373 (Mar, 1992).
24. We thank Anne Fayoux and Stephane Lelgouach for animal care, Pierre Gonzalez for technical assistance, Marie-Hélène Bruyères for administrative assistance, Christian Darrack for his help with data extraction and Alain Labarriere for house-keeping assistance. We thank Dr. Karyn Guillem for her insightful comments on a previous version of the manuscript. This work was supported by the French Research Council (CNRS), the Mission Interministerielle de Lutte contre les Drogues et la Toxicomanie (MILDT), the Université Victor Segalen-Bordeaux 2 and the Conseil Regional d'Aquitaine.

Figure captions

Fig. 1. Top view diagram illustrating no-choice sessions (**A**) and choice sessions (**B**). Rats are required to poke its nose 10 times (FR10) in the central hole (filled circle) on the back wall of the operant box to trigger the insertion of one single lever (**A**) or two levers (**B**). After lever(s) insertion (filled rectangles), the rat must respond twice (FR2) consecutively on one lever to obtain the corresponding reward. Reward delivery is signaled by immediate lever(s) retraction and illumination of the cue-light above the corresponding lever. The rat must repeat this FR10-FR2 chain to obtain each next trial (i.e., 30 per no-choice session or 70 per choice session).

Fig. 2. Chain responding for cocaine and saccharin. (**A**) Mean ($\pm$ s.e.m.) cocaine or saccharin rewards per session as measured during the last 3 no-choice sessions preceding choice sessions. The maximum number of rewards was limited to 30 per session. *, different from cocaine ($P < 0.01$, Wilcoxon test; this non-parametric test was used because variance in saccharin reward number was null). (**B**) Mean ($\pm$ s.e.m.) cocaine and saccharin rewards over 5 sessions of a chain schedule of choice. The maximum number of rewards was limited to 70 per session. *, different from cocaine ($P < 0.01$, Tukey's Honestly Significant Difference (HSD) post hoc test following a two-way ANOVA). (**C**) Ordered distribution of individual cocaine choices expressed in percent of total choices. This distribution was fitted with a 3-parameter sigmoid function to assess the sharpness of the transition from cocaine abstinence to cocaine preference.

Fig. 3. Within-session reward distributions in 5 representative saccharin-preferring rats. Each upward tick indicates a saccharin reward (S) while each downward tick indicates a cocaine reward (C). (**A**) Reward distributions during the last choice session. There was no downward tick during

choice because rats did not self-administer cocaine. **(B)** Reward distributions during a typical no-choice session of cocaine self-administration. During this session, there was no upward tick because rats had no physical access to the saccharin lever ($\emptyset$). The small box over the left reward distribution of rat AQP1_11 corresponds to an example of saccharin satiety pause (left) which lasted about 45 min. During this pause, the rat could but did not self-administer cocaine (i.e., 0 injections). For comparison, during a typical no-choice session of cocaine self-administration, the same rat self-administered 10 cocaine injections at the same moment and within the same interval (right).

Fig. 4. Saccharin-satiated rats refrain from cocaine self-administration only when they have the choice. **(A)** Effects of saccharin satiety alone (S) and satiety plus fatigue (S+F) on mean ($\pm$ s.e.m.) cocaine injections compared to baseline (BL). Baseline cocaine self-administration was averaged over 3 no-choice sessions which were preceded by a 30-min pre-session control period (22). #, different from baseline ($P < 0.05$, Tukey's HSD post hoc test following a one-way ANOVA). **(B,C)** Effects of saccharin satiety (S) on absolute **(B)** or relative **(C)** cocaine choices compared to baseline choice sessions (BL). *, different from cocaine; #, different from baseline ($P < 0.01$, Tukey's HSD post hoc test following a two-way ANOVA). **(D)** Satiety increased total pause time (mean $\pm$ s.e.m.) per session. #, different from baseline ($P < 0.05$, one-way ANOVA).

Figure 1

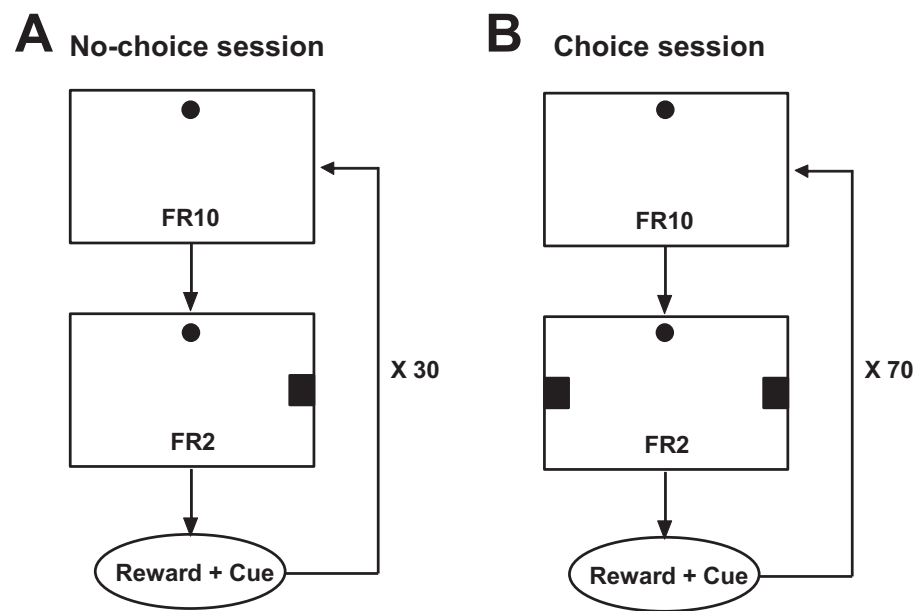


Figure 2

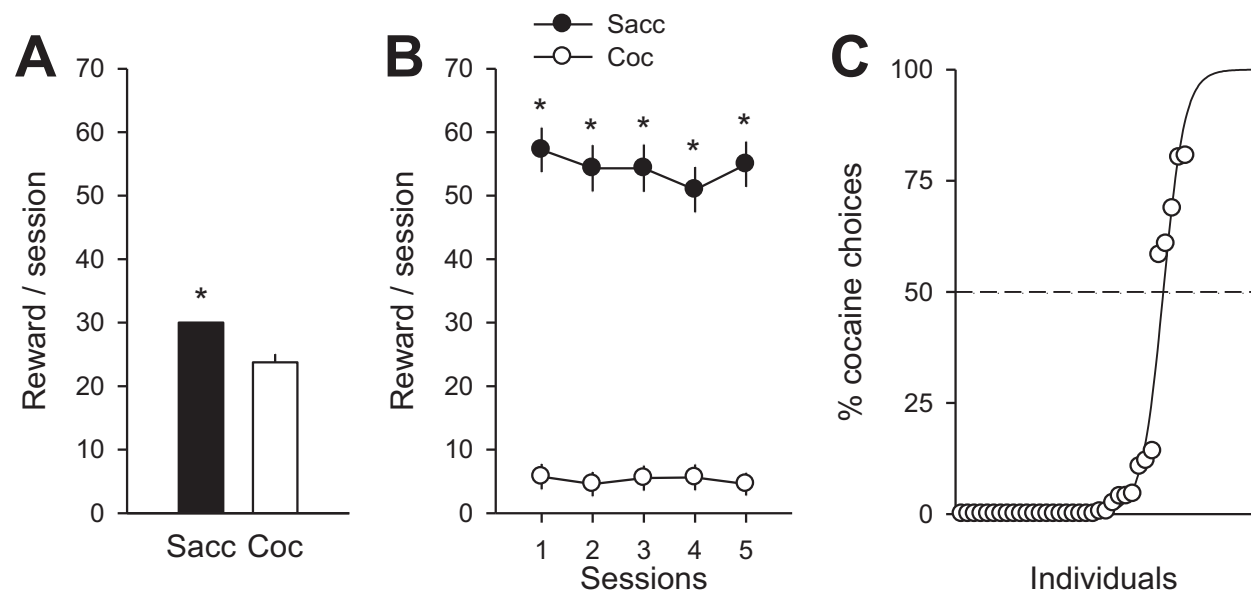


Figure 3

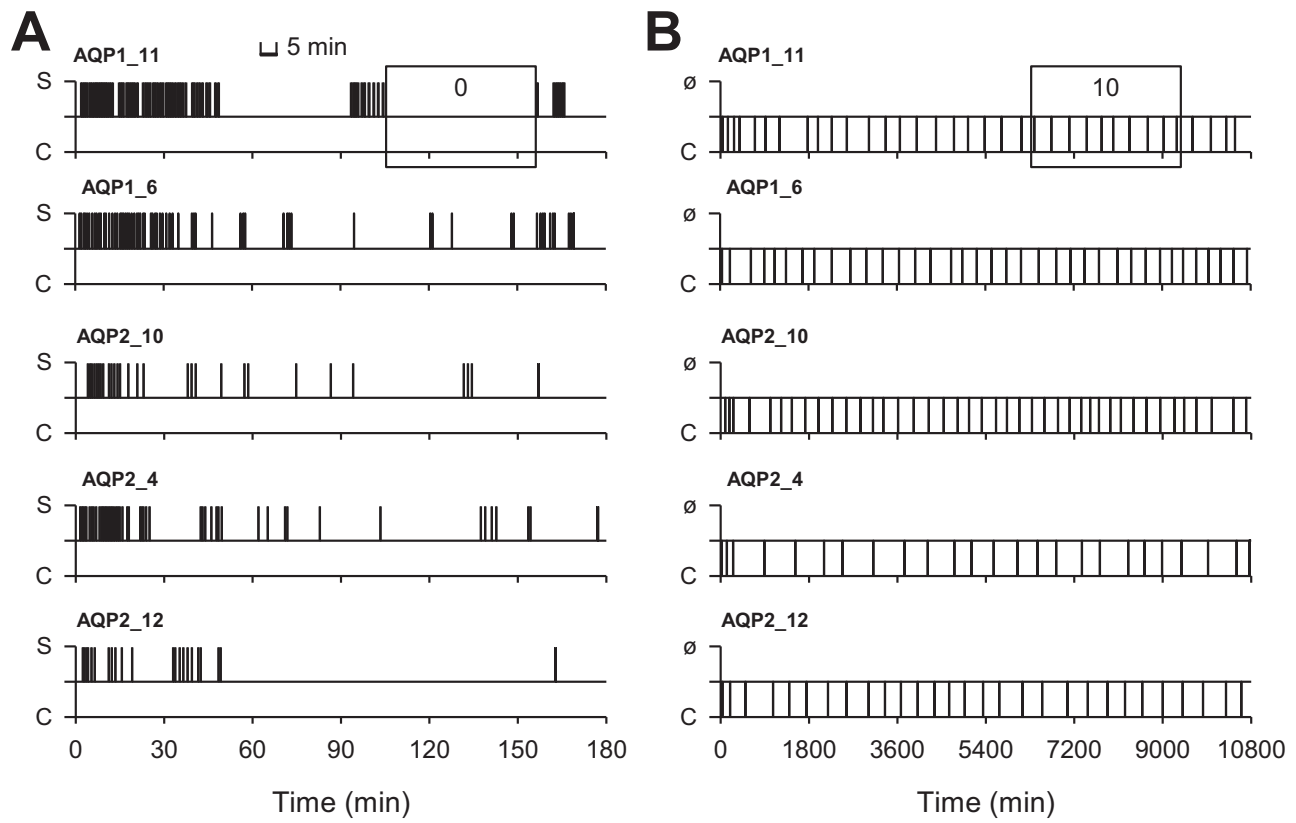
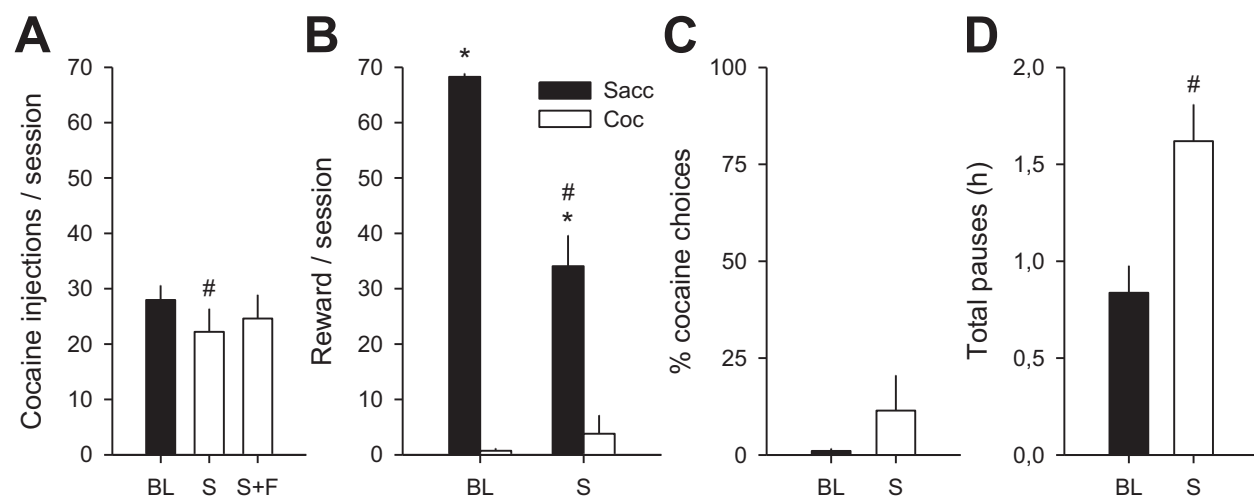


Figure 4



SUPPORTING ONLINE MATERIAL

Materials and methods

Subjects

A total of 35 male Wistar rats (Charles River, L'Arbresle, France, 270-323 g at the beginning of the experiment) were used in the present study. Rats were housed in groups of three and were maintained in a light- (12-h reverse light-dark cycle) and temperature-controlled vivarium (23° C). All behavioral testing occurred during the dark phase of the light-dark cycle. Food and water were freely available in the home cages throughout the duration of the experiment (i.e., rats were neither food- nor water-restricted) and consisted of standard rat chow A04 (SAFE, Scientific Animal Food and Engineering, Augy, France) that contained 60% of carbohydrates (largely corn starch), 16% of proteins, 12% of water, 5% of minerals, 3% of fat and 4% of cellulose. No synthetic or refined sugar was added. All experiments were carried out in accordance with institutional and international standards of care and use of laboratory animals [UK Animals (Scientific Procedures) Act, 1986; and associated guidelines; the European Communities Council Directive (86/609/EEC, 24 November 1986) and the French Directives concerning the use of laboratory animals (décret 87-848, 19 October 1987)]. All experiments have been approved by the Committee of the Veterinary Services Gironde, agreement number B-33-063-5, 13 June 2006.

Surgery

Anesthetized rats [mixture of xylazine (15 mg/kg, i.p., Merial, Lyon, France) and ketamine (110 mg/kg, i.p., Bayer Pharma, Lyon, France)] were surgically prepared with silastic catheters (Dow Corning Corporation, Michigan, USA) in the right jugular vein that exited the skin in the middle of the back about 2 cm below the scapulae. After surgery, catheters were flushed daily with 0.2 ml of a sterile antibiotic solution containing heparinized saline (280 IU / ml) and ampicilline (Panpharma, Fougères, France). When a catheter leakage was suspected, the patency of the catheter was checked by an intravenous administration of etomidate (1 mg/kg, Braun Medical, Boulogne-Billancourt, France), a short-acting non-barbiturate anesthetic. Behavioral testing began 7-10 days after surgery.

Apparatus

Twelve identical operant chambers (30 x 40 x 36 cm) were used for all behavioral training and testing (Imetronic, Pessac, France). All chambers were located away from the colony room in a dimly lit room. They were individually enclosed in wooden cubicles equipped with a white noise speaker (45 ± 6 dB) for sound-attenuation and an exhaust fan for ventilation. These chambers have been described in detail elsewhere (Augier et al. 2011; Cantin et al. 2010). Briefly, each chamber was equipped with 2 automatically retractable levers (Imetronic), a commercially-available lickometer circuit (Imetronic), two syringe pumps, a single-channel liquid swivel (Lomir biomedical Inc., Quebec, Canada), two pairs of infrared beams and, finally, a nosepoke hole equipped with an

infrared detector (Imetronic) and a sliding door. The hole (diameter: 2 cm) was located 5 cm above the grid floor in the back wall at equidistance between the two retractable levers.

Chain schedule of cocaine and saccharin reinforcement: no-choice sessions

Rats were first trained over 2-5 weeks to lever press to self-administer either water sweetened with 0.2% saccharin (0.32 ml delivered over 20 s) or intravenous cocaine (0.25 mg delivered over 5 s) under a simple fixed-ratio (FR) 1 or 2 (time-out 20 s) schedule, as described in detail elsewhere (1). One lever was associated with cocaine reward (lever C), the other with saccharin reward (lever S). The dose of cocaine tested in the present study (corresponding roughly to 0.75 mg/kg) has been extensively used in many previous studies on cocaine self-administration in rats (2, 3), including our own initial choice experiments (1, 4, 5). Note that higher doses of cocaine produced the same outcomes as this dose, even after extended access to cocaine for self-administration (5). Saccharin (a potent non-caloric sweetener) was selected as the nondrug option because it is an inessential reward with no direct advantageous effect on growth, survival and/or reproduction. The concentration of saccharin (i.e., 0.2%) used in the present study is within the range of maximally rewarding concentrations (0.1-1%) (1, 6, 7).

No-choice sessions of cocaine or saccharin self-administration were alternated between days and were run 6 days a week. Sessions began with extension of one single lever (C or S). If rats responded on the available lever, they were rewarded by the corresponding reward (cocaine or saccharin). Reward delivery was signaled by a 20-s illumination of the cue-light above the lever

during which time responses were not rewarded (i.e., time-out period). Sessions ended after rats had earned a maximum of 30 rewards or 3h had elapsed. The maximum number of saccharin or cocaine rewards was limited to 30 per session to ensure approximately equal exposure to both rewards before choice testing. The central nosepoke hole was closed (i.e., sliding door closed) throughout this initial training period.

After acquisition of lever pressing for cocaine and saccharin, rats were trained over 4 additional weeks to self-administer cocaine or saccharin under a FR10-FR2 chain schedule. Sessions of cocaine or saccharin self-administration were once again alternated between days and were run 6 days a week. Sessions began with the nosepoke hole open and with both levers retracted. Rats had to poke their nose in the hole to extend the lever available on that day (lever C or S). They then had to press the extended lever to obtain the corresponding reward. Reward delivery was signaled by retraction of the lever and illumination of the cue-light above it as described above. Rats had to repeat this behavioral chain (i.e., nose poking followed by lever pressing) to obtain each next reward. Rats were initially trained to perform one nose poke followed by two lever presses (i.e., FR1-FR2). Response requirements were then gradually increased to reach the final FR10-FR2 chain (i.e., 10 nosepokes followed by 2 lever presses). Rats were trained with a relatively high FR value for nosepokes to insure that they will have sufficient time and effort-based motivation to make their decision during subsequent choice sessions. The FR value for lever presses was set to 2 to avoid eventual accidental responding during choice sessions. Sessions ended when rats obtained a total of 30 rewards or 3h had elapsed. Rats were trained under this final schedule for at least 10 consecutive sessions until stabilization of chain responding (i.e., no increasing or decreasing trend over 3 consecutive sessions for each type of reward and between-session variation < 10%). Thus,

during operant chain training, rats had ample time and opportunity to learn the specific outcome and relative value of each behavioral chain before choice sessions.

Chain schedule of choice between cocaine and saccharin reinforcement: choice sessions

After operant chain training, rats were allowed to choose between cocaine and saccharin under the same chain schedule of reinforcement. Specifically, during choice sessions, nosepoke responses were followed by the simultaneous presentation of both levers S and C, allowing rats to choose between the two. To select one of the two levers, rats had to respond twice consecutively on it. A response on the alternate lever before satisfaction of this response requirement reset it. Response resetting occurred very rarely, however. Reward delivery was signaled by the simultaneous retraction of both levers and illumination of the cue-light above the selected lever. To obtain each next choice trial, rats had to repeat the same behavioral chain (i.e., 10 nosepoke responses followed by 2 consecutive responses on the selected lever). If rats failed to respond on either lever within 5 min, both levers retracted and no cue-light or reward was delivered. This almost never happened, however. Thus, under this chain schedule of choice, rats were free to control the rate of choice trials and thus the rate of reward consumption. In the case of cocaine reward, this allowed rats to attain their preferred level of intoxication. The number of trials per session was initially set to 30 but was rapidly increased to 70 to allow for saccharin satiation. Typically, rats begin to show signs of satiety after consumption of 30 saccharin rewards which they generally obtain within 30 min and which correspond to a volume of 9.6 ml. Sessions ended when rats completed all 70 trials or 3h had elapsed. Rats were tested in this self-paced discrete-trials choice procedure during 5 daily 70-trial sessions.

Pre-session access to saccharin

After choice testing, a subgroup of saccharin-preferring rats ($n = 10$) was also retested under a FR10-FR2 chain schedule of no-choice cocaine self-administration for 5 daily sessions as described above except that each no-choice session was now preceded by a nondrug 30-min period. During the pre-session period of the first 3 no-choice sessions, rats had no access to saccharin (baseline), the central nosepoke hole was closed and levers were retracted. On the 4th session, rats could continuously drink water sweetened with 0.2% saccharin with no nosepoke or lever press response requirements (free saccharin). During free access to saccharin, the central nosepoke hole was closed and levers were retracted. The drinking cup was initially filled with 0.08 ml of saccharin and rats could obtain additional volumes of saccharin by continuously licking the cup (i.e., 0.04 ml per 20 consecutive licks) which they did readily. Finally, on the 5th session, rats could drink saccharin according to a FR10-FR2 chain schedule of reinforcement (effort-contingent saccharin). During this pre-session period, the central nosepoke hole was open. Sessions of cocaine self-administration started immediately after the end of each 30-min pre-session period. For comparison, the effects of pre-session access to free saccharin were also measured on choice between cocaine and saccharin. Rats were first rebaselined under a self-paced choice schedule during 3 days (BL) and then were tested with pre-session access to free saccharin during 3 additional choice sessions.

Drugs

Cocaine hydrochloride (Coopération Pharmaceutique Française, Melun, France) was dissolved in a solution of NaCl (0.9%) which was filtered through a syringe filter (0.22 μ m) and kept at room temperature in a 500-ml sterile bag ($21 \pm 2^{\circ}\text{C}$). Drug doses were expressed as the weight of the salt. Sodium saccharin (Sigma-Aldrich, St Quentin-Fallavier, France) was dissolved in tap water at room temperature ($21 \pm 2^{\circ}\text{C}$). Sweet solutions were renewed each day.

Data Analysis

Relative cocaine choices were expressed as percent of total choices. Lost opportunity time for cocaine self-administration was individually computed by adding saccharin satiety pauses in the last session. A satiety pause was defined as a post-saccharin reward pause (i.e., duration between end of reward delivery and next initiation of nose poking) equal to or greater than 5 min. Typically, post-saccharin reward pauses are short (i.e., less than 20s) and regular early in the session (first 20-30 rewards) when rats begin to drink. Thus, a 5-min threshold allows one to conservatively identify among post-saccharin reward pauses those that are most likely due to satiety. In addition, a pause of 5 or more minutes would be largely sufficient to allow initiation of cocaine self-administration if a rat chose to do so. Statistical analyses were run using Statistica, version 7.1 (Statsoft Inc., Maisons-Alfort, France).

Figure S1

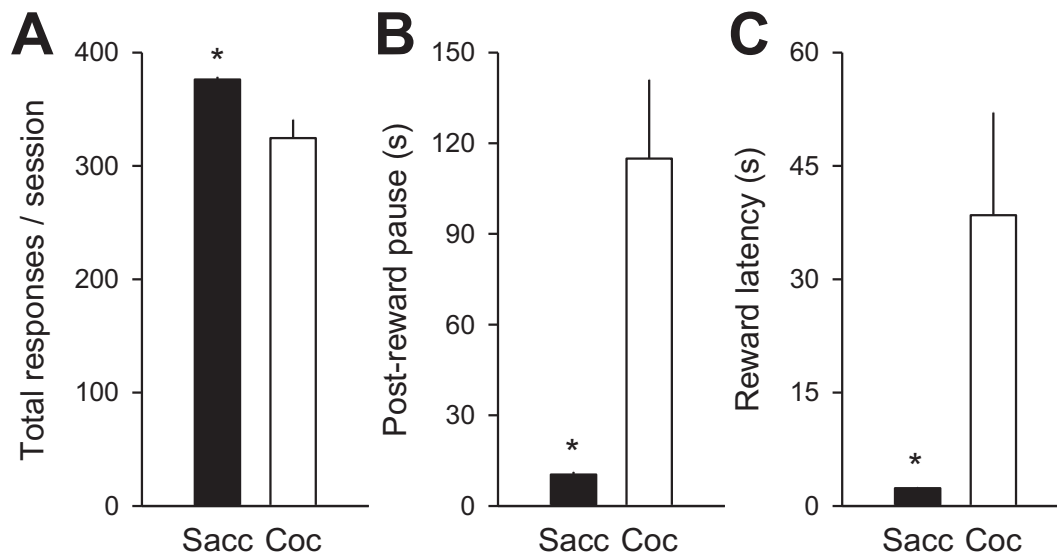


Fig. S1. Chain performance during no-choice training sessions. **(A)** Mean total ($\pm$ s.e.m.) nosepoke and lever press responses per session. Rats produced several hundreds of nosepoke and lever press responses to self-administer cocaine and saccharin under the FR10-FR2 chain schedule. Rats responded slightly less for cocaine than saccharin. **(B)** Mean latencies ($\pm$ s.e.m.) to complete the FR10 nosepoke requirement once initiated (i.e., nosepoke latency). Rats were much slower to complete the FR10 nosepoke requirement for cocaine than for saccharin. **(C)** Mean latencies ($\pm$ s.e.m.) to get rewards after lever presentation (i.e., reward latency). Rats were also apparently less eager to get cocaine rewards than saccharin rewards after lever presentation. These outcomes suggest that the incentive-motivational value of cocaine is lower than that of saccharin, an interpretation consistent with previous research (1, 2, 4) and with the findings and conclusions reported in the main text. *, different from cocaine ($P < 0.01$, one-way ANOVA)

Figure S2

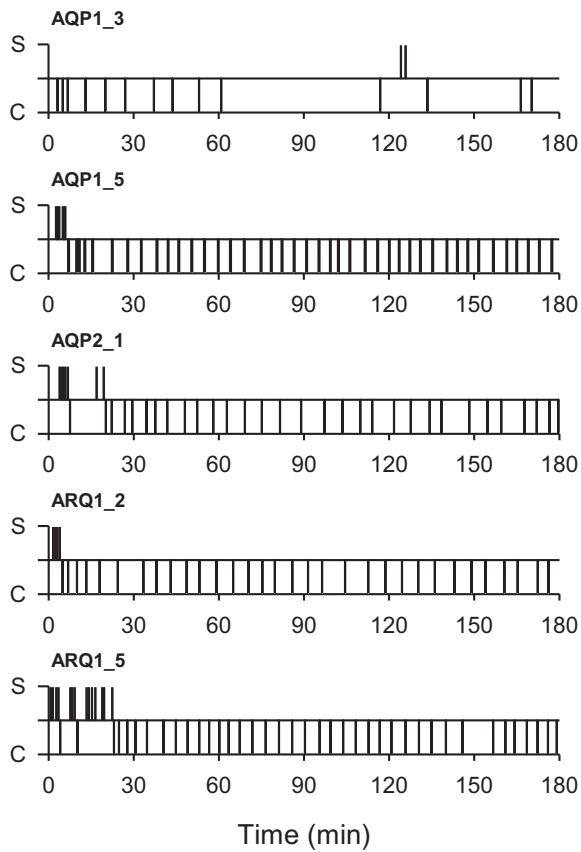


Fig. S2. Within-session reward distributions in all cocaine-preferring rats during the last 70-trial choice session. Each upward tick indicates a saccharin reward (S) while each downward tick indicates a cocaine reward (C). Note that in most cases (4 rats of 5), rats begin to self-administer saccharin but rapidly switch to cocaine self-administration to almost never switch back to saccharin.

Figure S3

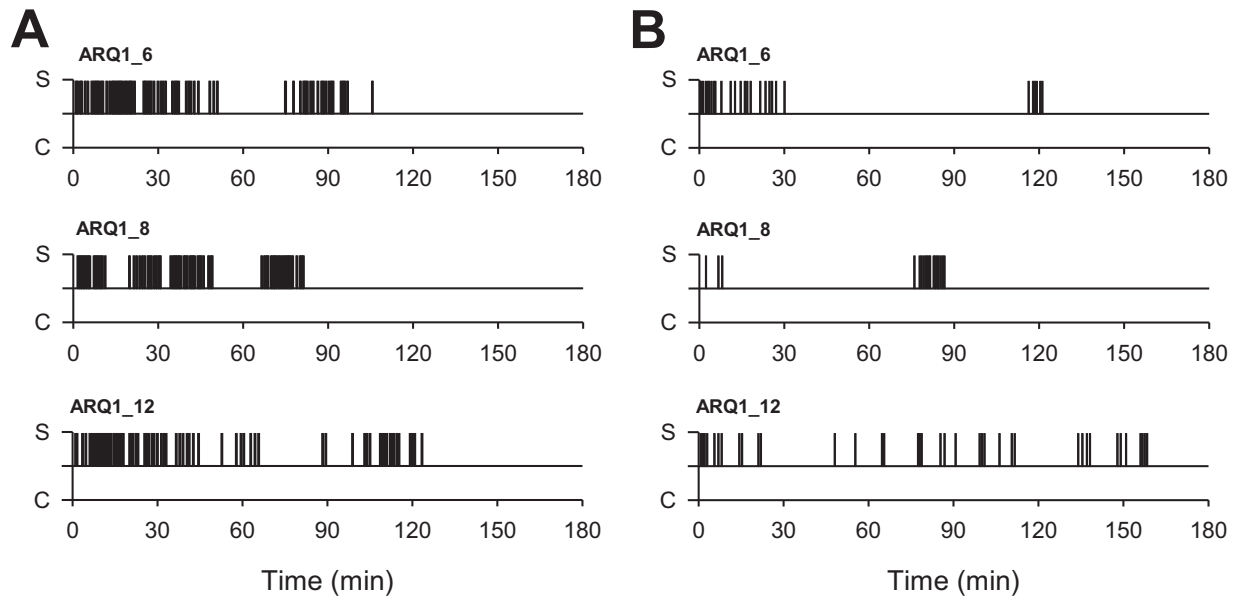


Fig. S3. Within-session reward distributions in 3 representative saccharin-preferring rats (of 10 tested) during baseline (**A**) or following pre-session access to free saccharin. Each upward tick indicates a saccharin reward (S) while each downward tick indicates a cocaine reward (C). Note that after pre-session access to free saccharin, rats drink less and pause longer between saccharin rewards.

References

1. L. Cantin *et al.*, *PLoS One* **5**, e11592 (2010).
2. S. H. Ahmed, *Neurosci Biobehav Rev* **35**, 172 (Nov, 2010).
3. S. H. Ahmed, in *Animal Models of Drug Addiction, Neuromethods*, vol.53 M. C. Olmstead, Ed. (Humana Press, New York, 2011) pp. 267-292.
4. E. Augier, C. Vouillac, S. H. Ahmed, *Addiction Biology* **in press** (2011).
5. M. Lenoir, F. Serre, L. Cantin, S. H. Ahmed, *PLoS One* **2**, e698 (2007).
6. L. F. Vendruscolo, A. B. Gueye, M. Darnaudery, S. H. Ahmed, M. Cador, *PLoS One* **5**, e9296 (2010).
7. J. C. Smith, A. Sclafani, *Appetite* **38**, 155 (Apr, 2002).

DISCUSSION



I. Synthèse et interprétation des principaux résultats obtenus

L'ensemble de nos résultats confirme très clairement l'observation initiale (Lenoir, et al. 2007) selon laquelle la cocaïne a un pouvoir récompensant relativement faible chez le rat. En fait, lorsque les animaux ont le choix entre s'auto-administrer de la drogue et de l'eau sucrée non-calorique (une récompense alternative biologiquement inessentielle), la grande majorité des animaux se détournent de la drogue au profit de la récompense alternative. Avant le test de choix, ces animaux auraient été considérés comme dépendants selon les critères classiquement utilisés dans la littérature. Pour la majorité des rats, la cocaïne est faible sur l'échelle de valeur, au niveau des plus faibles concentrations de saccharine. Seule une minorité d'animaux continue à s'injecter de la drogue malgré le choix, et ce quelle que soit la sévérité de leur exposition préalable à la cocaïne. De plus, même lorsque ces animaux sont en privation alimentaire, et qu'ils ont la possibilité de choisir entre la cocaïne et une solution sucrée calorique (contenant du saccharose) qui pourrait soulager leur besoin en calorie, ils continuent de préférer la cocaïne. Cette préférence persistante pour la cocaïne malgré ses conséquences négatives ressemble au comportement compulsif d'une personne dépendante (elle continue à utiliser de la drogue au détriment d'autres activités, et ce malgré les conséquences négatives qui peuvent en résulter). De plus, en utilisant le diazépam, une benzodiazépine couramment utilisée en particulier en raison de ses propriétés anxiolytiques puissantes, nous avons pu montrer que la préférence des animaux pour la récompense alternative ne pouvait s'expliquer par les propriétés ambivalentes de la cocaïne (à la fois récompensante et anxiogène). En effet, ce traitement anxiolytique avant le choix n'entraîne pas une diminution, mais au contraire une augmentation du choix de la solution sucrée. De façon encore plus intéressante, nous avons observé sur quelques rats préférant la cocaïne que le diazépam abolit également la préférence persistante pour la cocaïne en faveur de la solution sucrée. Bien que cette donnée mérite d'être confirmée sur un plus grand nombre de rats préférant la cocaïne, elle permet d'envisager l'utilisation des benzodiazépines dans le traitement de l'addiction à la cocaïne.

Enfin, nous avons pu montrer qu'une longue habitude au goût sucré avant ou pendant le choix n'impactait pas la préférence pour la solution sucrée. Ce résultat est important car il démontre que la préférence forte des animaux pour la récompense alternative dans notre

procédure de choix ne pouvait s'expliquer par l'attrait initial de la nouveauté. Cette interprétation est corroborée par le fait que la préférence pour le goût sucré persiste après plusieurs semaines de test de choix, même lorsque la dose de cocaïne disponible est très élevée (données non publiées).

Dans l'ensemble, les résultats obtenus avec le protocole de choix discret et en particulier la répartition particulière des scores individuels de préférence (abstinence chez la plupart des animaux, préférence pour la cocaïne chez quelques rats) pourraient être interprétés comme des preuves de l'existence d'une résilience et d'une vulnérabilité à la cocaïne chez le rat. La notion de résilience à l'addiction chez l'être humain est suspectée depuis longtemps (Robins 1993; Robins, et al. 1974), mais n'a toujours pas pu formellement être établie, en particulier à cause de la difficulté de contrôler rétrospectivement les différences d'exposition et de disponibilité de la drogue chez les consommateurs. Nos résultats montrant que la majorité des rats résiste à l'attrait de la drogue malgré une exposition prolongée pourraient ainsi constituer un des premiers indices en faveur de l'existence d'une résilience à l'addiction à la cocaïne dans un modèle animal. La minorité d'individus préférant la cocaïne malgré les conséquences négatives de cette préférence serait quant à elle vulnérable à l'addiction. Comme nous l'avons vu en détail dans l'introduction, avec le modèle d'auto-administration simple, les animaux n'ont d'autre option que de prendre de la drogue. Les rats résilients s'auto-administreraient ainsi de la cocaïne plus par défaut d'options alternatives valables que par compulsion et parce qu'ils seraient tombés dans l'addiction. Leur comportement représenterait alors plutôt une réaction « normale » à une situation anormale et non représentative (c'est-à-dire le manque total de choix ou d'options alternatives). Cette interprétation de nos résultats en terme de résilience et de vulnérabilité à l'addiction est d'ailleurs consistante avec l'étiologie humaine connue de l'addiction à la cocaïne et la proportion de consommateurs occasionnels qui bascule dans la dépendance. En effet, des études ont montré que parmi une population âgée entre 15 et 54 ans, seulement 12 à 16 % de personnes ayant testé la cocaïne ont développé une addiction (Anthony, et al. 1994; Degenhardt, et al. 2008). Une autre regroupant un échantillon de 927 utilisateurs récents de cocaïne a montré que seule une minorité de ces utilisateurs (entre 4 et 16 % selon le modèle de répartition choisi) tombait dans l'addiction deux ans après leur première expérience avec la cocaïne (Reboussin and Anthony 2006). Ces données épidémiologiques montrent donc que la grande majorité des utilisateurs de cocaïne ne deviennent pas obligatoirement dépendants de cette drogue, ce qui semble consistant avec la répartition des animaux que nous avons observée chez le rat. De plus, nos résultats semblent

en accord avec la littérature de plus en plus abondante sur la « gestion par contingence de renforcement » (contingency management en anglais), une méthode comportementale de traitements de la dépendance, qui prône une thérapie basée sur la substitution de la drogue par des bons d'achats ou des prix (Grabowski, et al. 1993; Higgins, et al. 2002; Higgins, et al. 1994; Higgins, et al. 1993; Higgins, et al. 1991; Lussier, et al. 2006; Petry, et al. 2005; Preston, et al. 2008; Rogers, et al. 2008b; Stitzer and Petry 2006; Stoops, et al. 2010; Walsh, et al. 2010). Concrètement, le patient se voit proposer une option alternative à sa prise de drogue, sous la forme de bons d'achats ou de prix utilisables dans sa vie de tous les jours (pour faire ses courses par exemple), en échange de montrer son abstinence de consommation de drogue (en acceptant par exemple de se soumettre à des tests de dépistage urinaires). Cette méthode s'est avérée être une des méthodes les plus efficaces pour maintenir une abstinence de longue durée et prévenir la rechute dans l'addiction à la cocaïne (Dutra, et al. 2008).

Bien que la translation de l'humain au modèle animal soit toujours délicate, le modèle de choix pourrait ainsi constituer un test permettant d'identifier les individus sensibles à l'addiction à la cocaïne. Cette conclusion pourrait avoir d'importantes implications pour la recherche préclinique sur la neurobiologie de l'addiction à la cocaïne ainsi que pour le développement de nouveaux traitements. Cela pourrait signifier que le modèle de choix serait peut être plus approprié que le modèle de l'auto-administration simple dans ce but. En effet, dans la grande majorité des études s'intéressant à la neurobiologie de l'addiction, il n'est fait aucune distinction parmi les animaux qui ont un accès prolongé à la cocaïne entre la minorité qui est vulnérable à l'addiction et cette majorité qui y serait résiliente. De ce fait, les modifications neuronales associées à un accès prolongé à la drogue deviennent difficiles à interpréter. Puisque les animaux résilients représentent la majorité, il est probable que beaucoup de ces modifications ne soient pas corrélées avec l'établissement d'une addiction à la cocaïne, mais plutôt une adaptation « normale et commune » à toute personne qui découvrirait la sensation nouvelle et unique de la consommation répétée de cocaïne. Dans l'optique de clarifier cette situation qui représente un enjeu majeur de la neurobiologie de l'addiction, il pourrait être important de comparer systématiquement les animaux résilients de la minorité considérée comme vulnérable à la cocaïne dans notre modèle. Les résultats malheureusement modestes jusqu'à présent dans la mise en place de traitements pharmacologiques de l'addiction à la cocaïne penchent en faveur de cette hypothèse (Koob, et al. 2009). En effet, malgré l'identification de nombreuses cibles pharmacologiques potentielles, les résultats obtenus sur des modèles animaux de l'addiction n'ont pour l'instant

eu qu'un impact translationnel limité (Koob, et al. 2009). Il est de ce fait indispensable d'améliorer la validité prédictive des modèles précliniques d'auto-administration pour le développement de traitements contre l'addiction. Dans ce contexte, nous pensons que tester une molécule pour sa capacité à diminuer le choix cocaïne chez la petite minorité de rats considérés comme vulnérables à l'addiction pourrait mieux prédire son efficacité thérapeutique sur des patients souffrant d'addiction à la cocaïne.

En utilisant un protocole novateur de choix, dans lequel pour la première fois l'animal est libre de décider du moment du choix, et peut ainsi contrôler son degré d'intoxication à la drogue, nous avons pu confirmer clairement que la préférence pour la saccharine observée dans notre modèle de choix discret ne pouvait être imputée au protocole particulier des expériences, qui ne permettait peut être pas aux animaux d'atteindre le degré d'intoxication souhaité. Lorsqu'ils sont maîtres de décider du moment du choix, la grande majorité des animaux préfèrent presque exclusivement la saccharine, alors qu'ils s'auto-administrent sans hésitation la drogue lorsque seul le levier associé à la cocaïne est présenté. Ce nouveau protocole de choix a par ailleurs eu l'avantage de nous permettre d'augmenter jusqu'à 70 le nombre d'essais. Nous avons alors pu observer un nouveau phénomène très intéressant : après avoir répondu vigoureusement pour la saccharine durant la première heure de l'expérience (et ainsi avoir consommé pratiquement 10 ml de solution), ressentant les effets de la satiété, les animaux ont commencé à marquer de longues pauses pendant lesquelles ils étaient libres de s'auto-administrer de la cocaïne mais ont choisi de ne pas le faire. En moyenne, ce temps de pause a duré 70 minutes (sur trois heures d'expérience) pendant lesquelles les rats auraient pu s'auto-administrer environ 10 doses de cocaïne, mais ont choisi de ne pas le faire. Cette étonnante observation pourrait constituer une des premières preuves de l'existence chez la majorité des rats d'une capacité de contrôle et d'inhibition de la prise de drogue, capacité qui, de façon très intéressante est absente chez les quelques rats qui préfèrent la cocaïne.

II. Discussion contradictoire

En première analyse, nos résultats semblent contredire l'abondante littérature sur le choix entre drogues et récompenses naturelles chez le singe. En effet, comme nous l'avons vu dans

l'introduction, la grande majorité de ces études a rapporté que la présence d'une récompense alternative pouvait réduire la prise de cocaïne, mais que pour des fortes doses de drogue, les animaux montrent un désintérêt pour l'alternative et expriment une préférence quasi exclusive pour la cocaïne. Cette différence pourrait refléter un fossé interspécifique, seuls les primates seraient particulièrement vulnérables face à l'addiction, le reste des mammifères, y compris les rongeurs, serait généralement résistant. Cependant, cette hypothèse colle mal avec l'évolution connue des capacités corticales de contrôle et d'inhibition des motivations et des émotions relativement peu développées chez les rongeurs et très développées chez les primates. De plus, les données chez le singe s'accordent mal aux données épidémiologiques humaines montrant que seuls quelques consommateurs développent éventuellement une addiction à la cocaïne. En fait, il est possible de réconcilier les données des expériences de choix chez le singe avec nos données chez le rat en prenant en compte certains biais expérimentaux inhérents aux premières.

Prenons l'exemple de l'étude initiale d'Aigner et Balster. Tout d'abord, au moment de l'expérience, les animaux ne sont pas naïfs et ont déjà une expérience avec la cocaïne dont l'ampleur et la durée n'est pas précisée (même si l'exposition prolongée n'affecte pas le choix chez le rat). D'autre part, les animaux n'ont pas eu accès à un apprentissage séparé de la récompense associée à chacun des leviers. De ce fait, les animaux n'ont pas eu un accès comparable à chacune des récompenses, ce qui pourrait entraîner un biais en faveur de la cocaïne. C'est par exemple pour cette raison que nous avons choisi de limiter dans nos expériences le nombre d'accès à chacune des récompenses à 30 maximum lors de la phase d'apprentissage afin de s'assurer que les animaux aient à peu près la même exposition aux deux récompenses proposées lors du choix. Ensuite, les animaux ont été mis en privation alimentaire 23 heures avant le début du test. Les propriétés anorexigènes de la cocaïne, déjà bien documentées à l'époque (Post, et al. 1976) pourraient ainsi causer un biais de préférence en faveur du choix cocaïne, dont les auteurs sont d'ailleurs conscients puisqu'ils mentionnent cette possibilité dans leur introduction. Enfin, la très longue durée de l'expérience, ainsi que la fréquence relativement rapprochée des essais (quinze minutes) entraînent une accumulation de la drogue qui ferait que les animaux seraient encore sous les effets pharmacologiques de la cocaïne au moment des essais de choix.

De nombreuses autres études utilisant un protocole de choix ont par la suite été réalisées avec pratiquement à chaque fois la même conclusion, un désintérêt des animaux pour la

récompense alternative et une préférence pour les fortes doses de cocaïne. Les animaux finissent par choisir pratiquement exclusivement la drogue aux fortes doses, ce qui semble être une contradiction flagrante avec nos données obtenues chez le rat (pour lequel, même une très forte dose ne suffit pas à le détourner de la récompense alternative).

Cependant, dans ces études antérieures, les conditions expérimentales ont été choisies de façon à favoriser la préférence des animaux pour la cocaïne dans le but d'en étudier les bases psychopharmacologiques. Par exemple, dans de nombreuses études, les animaux ont le choix entre des doses croissantes de cocaïne et une alternative peu récompensante (nourriture peu palatable en faible quantité) (Gasior, et al. 2004; Nader, et al. 1993; Nader and Woolverton 1990, 1991, 1992a, 1992b; Negus 2003, 2004, 2005a, 2005b, 2006; Negus and Mello 2004; Negus and Rice 2009; Paronis, et al. 2002; Woolverton and Balster 1979). Sans surprise, dans ces conditions, les animaux préfèrent la forte dose de cocaïne. De plus, dans plusieurs études récentes, l'effort requis pour obtenir la drogue ou son coût était très nettement inférieur au coût de la nourriture (10 versus 100 réponses), entraînant ainsi un biais majeur en faveur du choix cocaïne, et rendant impossible l'établissement de la valeur relative de chacune des deux récompenses (Banks and Negus 2010; Negus 2003, 2004, 2005a, 2005b; Negus and Mello 2004). De façon similaire chez le rat (voir [le deuxième article](#)), lorsque le coût économique de la nourriture est très supérieur à celui de la cocaïne, les animaux se détournent également de la récompense alternative en faveur de la cocaïne. Les résultats sur le singe, lorsqu'ils sont réinterprétés, sembleraient donc indiquer que lorsque les animaux ont accès à une option alternative modérément récompensante et à coût égal, une partie des animaux pourrait être capable de se détourner de la drogue, allant finalement dans le sens de nos observations chez le rat. L'étude réalisée par Nader et Woolverton en 1991 supporte d'ailleurs cette interprétation (Nader and Woolverton 1991). En effet, pour la première fois, des singes en privation alimentaire ont eu l'opportunité de choisir entre différentes doses de cocaïne et différentes quantités de nourriture. Les auteurs ont pu observer que la majorité des animaux (trois singes sur quatre) ont préféré la plus grande quantité de nourriture proposée (c'est-à-dire quatre pastilles de nourriture d'un gramme) à la dose maximale de cocaïne.

Il est également nécessaire d'être prudent dans l'interprétation de nos résultats en terme de notion de résilience et de vulnérabilité à l'addiction. La raison principale en est que cette notion de résilience n'a pour l'instant encore pu être clairement démontrée chez l'être humain. Il est par exemple possible que la majorité des consommateurs humains de cocaïne ne soit pas tombée dans l'addiction, non pas parce qu'ils y sont résilients comme nous en faisons

l'hypothèse, mais plutôt car ils n'ont pas eu une utilisation de la cocaïne suffisamment prolongée et importante. Même si nos données chez le rat montrant que le degré d'exposition n'impacte pas la proportion d'animaux préférant la drogue en choix sont en contradiction avec cette hypothèse, elle mérite d'être considérée.

Une autre limitation possible à notre interprétation des résultats se situe au niveau de l'importance des facteurs génétiques dans notre modèle. En effet, il apparaît de plus en plus évident que des facteurs génétiques contribuent aux différences individuelles devant la vulnérabilité à initier une consommation de produits addictifs et la transition d'une consommation récréative à une consommation compulsive (Crabbe 2002; Goldman, et al. 2005). L'influence de la génétique sur l'addiction est postulée depuis longtemps, et pourrait résulter de différences génétiques complexes, allant des allèles impliqués dans le contrôle du métabolisme des drogues jusqu'à un contrôle génétique (encore à l'état d'hypothèse) sur la sensibilité à la drogue et les influences environnementales. Cette vulnérabilité héritable à l'addiction serait donc due à des complexes multigéniques, et non pas à un effet d'un seul gène selon l'approche classique Mendélienne (Uhl and Grow 2004). Le caractère transmissible des addictions a été étudié par de nombreuses approches, comme par exemple des études de familles ou de personnes adoptées, mais la majorité des connaissances obtenues l'ont été par l'étude des corrélations entre jumeaux monozygotes et dizygotes. Les addictions seraient ainsi un des désordres psychiatriques présentant le pourcentage d'héritabilité le plus important (Goldman, et al. 2005), en particulier l'addiction à la cocaïne dont le degré d'héritabilité atteindrait 44 % chez l'homme et 65 % chez les femmes (Swendsen and Le Moal 2011).

De plus chez l'animal, il existe des données montrant que ces facteurs génétiques pouvaient considérablement influencer la sensibilité d'un individu aux effets comportementaux et biochimiques des drogues (Crabbe, et al. 1999; Cunningham, et al. 1992; Guitart, et al. 1993; Kosten, et al. 1997; Kosten, et al. 2007; Shoaib, et al. 1995). Les rats de souches Wistar sont par exemple moins sensibles aux effets récompensants conditionnés de la morphine que les rats Sprague-Dawley (Kosten, et al. 2007). De plus, la libération de dopamine induite par une injection d'une même dose de morphine est deux fois plus faible chez les rats Wistar que chez les Sprague-Dawley. Il a également été démontré qu'une fois le comportement d'auto-administration acquis, les rats de souche Fisher 344 consomment plus de cocaïne que les rats Lewis, eux-mêmes répondant plus que les rats Sprague-Dawley (Kosten, et al. 1997). Il existe également de plus en plus de données suggérant que les femelles seraient plus sensibles que

les mâles à la drogue (Roth, et al. 2004) : elles auraient une plus grande propension à acquérir le comportement d'auto-administration (Lynch and Carroll 1999), escaladeraient plus leur consommation de drogue après un accès prolongé à la cocaïne (Roth and Carroll 2004), auraient un point de rupture plus élevé en procédure de ratio progressif (Lynch and Taylor 2004) et seraient plus sensibles aux propriétés renforçantes de la cocaïne mesurées par CPP (Zakharova, et al. 2009). L'impact de la génétique sur la sensibilité aux drogues ne semble donc pas négligeable, et il serait intéressant de généraliser nos résultats à des souches de rats plus sensibles que celle utilisée dans nos expériences (la souche Wistar, qui est la plus couramment utilisée dans l'étude de l'addiction), voire également d'étudier la possible inégalité des rats femelles et des rats mâles face à l'addiction.

Enfin, il est possible que l'absence de préférence pour la cocaïne ne soit pas un critère absolu et suffisant pour écarter la possibilité d'addiction à la cocaïne. Par exemple, dans le cas d'une addiction à plusieurs drogues d'abus, telles que la cocaïne et l'héroïne, la préférence pour l'héroïne ne signifierait pas pour autant une absence d'addiction à la cocaïne. Il est ainsi possible d'envisager, au moins en théorie, qu'un individu préférant une récompense A à une récompense B puisse souffrir de co-addictions à A et B. Pour pouvoir conclure que les rats préférant la récompense alternative sont résilients à l'addiction à la cocaïne, il est donc nécessaire de montrer qu'ils ne sont pas dépendants à cette alternative, à savoir dans nos recherches à la solution sucrée de saccharine. La possible existence d'une addiction à la nourriture (et en particulier au sucre) a reçu de plus en plus de soutiens ces dernières années (Benton 2010; Kenny 2011), en particulier suite à l'observation de modifications neurobiologiques induites par le sucre ressemblant à celles observées avec les drogues d'abus. Nicole Avena, Bartley Hoebel et leurs collaborateurs ont par exemple montré dans une série d'expériences que des rats soumis à un régime sucré particulier montraient des signes comportementaux rappelant ceux induits par les drogues : ils consomment une grande quantité de saccharose durant la première heure de disponibilité (un comportement ressemblant aux phénomènes de chargement observé avec la cocaïne), de la dopamine est libérée dans le noyau accumbens (un phénomène commun à toutes les drogues d'abus) et les animaux montrent des signes d'anxiété lorsqu'ils sont privés de sucre (ressemblant aux signes de manque après un sevrage à une drogue). Cependant, malgré ces quelques similitudes avec les drogues d'abus, il apparaît encore prématuré de conclure à la démonstration de l'existence d'une addiction au sucre. En effet, l'ampleur de la libération de dopamine observée dans ces travaux est bien trop modeste (de l'ordre de 40 % comparée au groupe contrôle) pour pouvoir

être assimilée à celle induite par la plupart des drogues d'abus (Di Chiara and Imperato 1988) qui peuvent dépasser les 400 % d'augmentation pour la cocaïne par exemple (Carboni, et al. 1989; Di Chiara and Imperato 1988). De plus, des activités anodines telles qu'écouter de la musique (Blood and Zatorre 2001; Salimpoor, et al. 2011), l'humour (Mobbs, et al. 2003), gagner (Breiter, et al. 2001) ou espérer gagner à une loterie (Knutson, et al. 2001), une mère reconnaissant son enfant (Noriuchi, et al. 2008), être amoureux ou faire l'amour (Fisher, et al. 2006) entraînent également une activation du système dopaminergique. Cette observation, commune à la plupart des activités agréables que nous réalisons, ne permet donc pas de confirmer une addiction à une substance. De plus, les similitudes observées dans ces expériences n'ont pu l'être qu'en donnant aux animaux un accès au saccharose à travers un régime alimentaire très particulier, à savoir un accès de douze heures à une solution sucrée suivi d'une période de privation de douze heures, et ce pendant un mois. Il est ainsi possible que les signes comportementaux observés soient plus imputables au régime alimentaire en lui-même qu'à la substance utilisée.

Certaines données obtenues dans notre laboratoire contredisent également la notion d'addiction à une solution sucrée. Nous avons par exemple montré dans une précédente étude que des rats ayant eu un accès prolongé à la cocaïne abandonnaient la drogue au profit de l'eau sucrée après seulement deux jours, et en ayant bu moins de 5 ml de solution sucrée (Lenoir, et al. 2007). Il apparaît très improbable que la grande majorité des rats deviennent dépendants à la saccharine aussi rapidement et après une si faible exposition. Enfin, une co-addiction à la cocaïne et à la saccharine signifierait que dans nos expériences, au moins 80 % des animaux souffriraient d'addiction à la saccharine, un chiffre très élevé qui ferait de la saccharine la substance la plus addictive connue, loin devant le tabac. Cette prévalence ne serait d'ailleurs pas du tout en accord avec des récentes estimations chez l'être humain indiquant que l'addiction à la nourriture, comme l'addiction à la cocaïne, n'affecterait qu'une minorité d'individus.

III. Perspective et comparaison avec d'autres approches

Le but principal que nous avons cherché à atteindre avec notre modèle de choix a été d'identifier et de différencier les animaux au comportement de prise de drogue compulsif de ceux qui en consomment pour d'autres raisons plus triviales, comme par exemple l'absence d'autres alternatives valables. Une fois cette identification réalisée, nous pensons que notre modèle permettra un large éventail d'applications possibles, dont certaines sont détaillées ci-dessous.

Tout d'abord, en caractérisant les animaux avant d'identifier leur préférence avec le modèle de choix, il pourrait être possible de découvrir les prédispositions comportementales et biologiques qui permettent de prédire la vulnérabilité et la résilience à la consommation compulsive de drogue. Deuxièmement, en comparant et contrastant les utilisateurs compulsifs de drogue des autres animaux s'auto-administrant la drogue, il pourrait être possible d'identifier les corrélats neurobiologiques de l'utilisation compulsive de drogue à différents niveaux d'organisation neuronale, allant du circuit cérébral jusqu'au niveau moléculaire dans des régions spécifiques du cerveau. En combinant cette approche neurobiologique comparative avec l'approche prédictive détaillée plus haut, nous pourrions être en mesure de déterminer si et à quel point les corrélats neurobiologiques de l'utilisation compulsive de drogue sont antérieurs à la première consommation d'une substance et/ou s'ils résultent d'un effet de la consommation de la drogue sur des substrats neuronaux vulnérables. Après identification de ces corrélats, il serait alors possible de tester leur causalité en vérifiant s'il est possible de réverser la préférence des consommateurs compulsifs de drogue en faveur de la récompense alternative par diverses interventions neurobiologiques (comme par exemple l'inactivation d'une région cérébrale potentiellement impliquée).

Troisièmement, le modèle de choix pourrait donc servir à identifier les animaux vulnérables à l'addiction, mais également être utilisé pour le développement de traitements pharmacologiques efficaces. Plus précisément, en testant l'efficacité de médicaments à modifier la préférence des utilisateurs compulsifs de drogue, il pourrait être possible d'augmenter nos chances de découvrir de nouveaux traitements pharmacologiques efficaces pour la dépendance. Dans cette optique, nous avons par exemple testé la capacité du NAC, un anti-oxydant donnant des résultats prometteurs sur un modèle de prise de drogue simple, à modifier le comportement des animaux compulsifs (Eric Augier et Serge Ahmed, résultats

non publiés). Les résultats obtenus sont modestes et sont par ailleurs en accord avec ceux également peu prometteurs obtenus récemment chez l'être humain (LaRowe, et al. 2007).

Quatrièmement, le modèle de choix pourrait également être utilisé pour évaluer et classer objectivement le potentiel addictif de différentes drogues d'abus. Par exemple, en mesurant la fréquence d'utilisateurs compulsifs en fonction du type de drogues, il serait possible de générer une hiérarchie objective des drogues d'abus (plus la fréquence serait élevée, plus le potentiel addictif de la drogue d'intérêt serait important). Le protocole pourrait également être modifié (avec l'utilisation de cathéters à double lumen par exemple) pour étudier directement la préférence des animaux entre deux drogues d'abus.

Cinquièmement, le modèle de choix pourrait également être utilisé pour étudier la possible contribution de différents facteurs (génétiques, développementaux et environnementaux) à l'étiologie de la consommation compulsive de drogue. Un facteur qui augmenterait la proportion d'animaux se détournant de la récompense alternative pourrait ainsi être causalement impliqué dans l'étiologie de l'addiction. On peut également envisager d'utiliser ce protocole pour générer par sélection une souche de rat (ou de souris) particulièrement vulnérable à l'addiction. Enfin, de manière plus générale, notre protocole de choix est suffisamment modulable et polyvalent au niveau paramétrique pour envisager une application plus large à d'autres domaines et pour étudier d'autres questions scientifiques. Par exemple, la procédure de choix pourrait être profitable pour étudier plus généralement comment le cerveau met en place et utilise une échelle de valeur commune afin de se représenter et de comparer la valeur d'actions sensiblement différentes (qui diffèrent non seulement quantitativement, mais aussi qualitativement, comme c'est par exemple le cas pour le choix entre une drogue et une récompense naturelle).

D'un point de vue strict, il n'existe pas à l'heure actuelle de méthodes comparables pour l'identification et la sélection des utilisateurs compulsifs de drogue chez l'animal qui s'auto-administre. Le seul modèle s'en rapprochant est probablement le modèle des trois critères récemment développé chez le rat (Deroche-Gamonet, et al. 2004), mis en place pour identifier le comportement de type addictif. Cette méthode s'inspire directement de la méthode de diagnostic de l'addiction à la cocaïne proposée par le DSM-IV. Comme nous l'avons vu dans la troisième partie de l'introduction, les animaux qui présentent des scores hors normes (c'est-à-dire au dessus du 66^{ème} percentile) dans trois comportements liés à l'auto-administration de cocaïne sont considérés comme des consommateurs compulsifs de drogue. Bien que novatrice et intéressante, cette méthode d'identification se révèle, de part cette fréquence imposée,

circulaire. Elle limite en effet à priori et arbitrairement la proportion maximale de rats au comportement de type addictif à 33 %. En conséquence, l'utilisation de cette méthode ne peut que permettre d'observer la même gamme étroite et pré-définie de fréquences d'utilisateurs compulsifs de drogue, ce qui exclut la mise en place des diverses applications décrites plus haut. Il apparaît ainsi difficile d'envisager l'utilisation de cette méthode pour tenter de hiérarchiser objectivement le pouvoir addictif de différentes drogues. Le modèle des trois critères présente également le désavantage d'être long et fastidieux à mettre en place car il nécessite la mesure de plusieurs critères comportementaux, certains d'entre eux sur une longue période de temps qui plus est (c'est-à-dire un minimum de trois mois). A l'opposé, notre modèle de choix possède l'avantage de pouvoir donner une première estimation solide de la fréquence d'utilisateurs compulsifs après à peine plus d'un mois d'expérience.

En outre, la validité de chaque critère comportemental testé n'a pas été vérifiée séparément et peut être contestée sur des motifs empiriques. Par exemple, dans le cas du critère de résistance à la punition (l'animal continue de s'auto-administrer la drogue malgré un choc électrique), peu de recherches ont pu déterminer s'il reflète bien un comportement compulsif de prise de drogue ou simplement une sensibilité réduite à la douleur engendrée par un choc électrique.

Toutes ces limitations ne s'appliquent pas à notre modèle de choix. En particulier, et de façon fondamentale, notre protocole ne présuppose pas de la fréquence d'animaux identifiés comme consommateur compulsif. En théorie, cette fréquence peut parfaitement varier de 0 à 100 %. D'autre part, l'usage continu d'une drogue au détriment d'autres activités et comportements gratifiants, et ce en dépit d'un coût élevé, rappelle très clairement une des caractéristiques majeurs de la toxicomanie humaine. Enfin, la procédure de choix se révèle relativement facile et rapide à mettre en place. Une fois que les animaux sont formés à l'auto-administration, il ne faut pas plus de dix séances quotidiennes de choix pour observer une préférence stable. Tous ces avantages méthodologiques font du protocole de choix une méthode particulièrement bien adaptée pour des recherches futures sur la neurobiologie de l'addiction.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



- Ahmed, S. H.
2005 Imbalance between drug and non-drug reward availability: a major risk factor for addiction. *Eur J Pharmacol* 526(1-3):9-20.
2010 Validation crisis in animal models of drug addiction: beyond non-disordered drug use toward drug addiction. *Neurosci Biobehav Rev* 35(2):172-84.
- Ahmed, S. H.
2011 The science of making drug-addicted animals. *Neuroscience*.
- Ahmed, S. H., and M. Cador
2006 Dissociation of psychomotor sensitization from compulsive cocaine consumption. *Neuropsychopharmacology* 31(3):563-71.
- Ahmed, S. H., et al.
2002 Neurobiological evidence for hedonic allostasis associated with escalating cocaine use. *Nat Neurosci* 5(7):625-6.
- Ahmed, S. H., and G. F. Koob
1998 Transition from moderate to excessive drug intake: change in hedonic set point. *Science* 282(5387):298-300.
1999 Long-lasting increase in the set point for cocaine self-administration after escalation in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 146(3):303-12.
2004 Changes in response to a dopamine receptor antagonist in rats with escalating cocaine intake. *Psychopharmacology (Berl)* 172(4):450-4.
2005 Transition to drug addiction: a negative reinforcement model based on an allostatic decrease in reward function. *Psychopharmacology (Berl)* 180(3):473-90.
- Ahmed, S. H., et al.
2003 Escalation of cocaine self-administration does not depend on altered cocaine-induced nucleus accumbens dopamine levels. *J Neurochem* 86(1):102-13.
2005 Gene expression evidence for remodeling of lateral hypothalamic circuitry in cocaine addiction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102(32):11533-8.
1995 Social deprivation enhances the vulnerability of male Wistar rats to stressor- and amphetamine-induced behavioral sensitization. *Psychopharmacology (Berl)* 117(1):116-24.
- Ahmed, S. H., J. R. Walker, and G. F. Koob
2000 Persistent increase in the motivation to take heroin in rats with a history of drug escalation. *Neuropsychopharmacology* 22(4):413-21.
- Aigner, T. G., and R. L. Balster
1978 Choice behavior in rhesus monkeys: cocaine versus food. *Science* 201(4355):534-5.
- Ainslie, G.
2000 A research-based theory of addictive motivation. *Law Philos.* 19:77-115.
- Alexander, B. K.
2008 The globalisation of Addiction : A Study in Poverty of the Spirit. Oxford University Press, New York.
- Alexander, F.G. ; Selesnick, S.T.
1995 The history of Psychiatry : an evaluation of psychiatric thought and practice from prehistoric times to the present. Rowman & Littlefield Publishers, Inc.
- Allen, R. M., L. A. Dykstra, and R. M. Carelli
2007a Continuous exposure to the competitive N-methyl-D: -aspartate receptor antagonist, LY235959, facilitates escalation of cocaine consumption in Sprague-Dawley rats. *Psychopharmacology (Berl)* 191(2):341-51.
- Allen, R. M., et al.

- 2007b Continuous intracerebroventricular infusion of the competitive NMDA receptor antagonist, LY235959, facilitates escalation of cocaine self-administration and increases break point for cocaine in Sprague-Dawley rats. *Pharmacol Biochem Behav* 88(1):82-8.
- Anthony, J. C.
2002 Epidemiology of drug dependence. *Neuropsychopharmacology : the fifth generation of progress*. Philadelphia : Lippincott Williams and Wilkins:1557-1573.
- Anthony, J. C., L. A. Warner, and R. C. Kessler
1994 Comparative epidemiology of dependence on tobacco, alcohol, controlled substances, and inhalants : Basic findings from the National Comorbidity Survey. *Experimental and Clinical Psychopharmacology* 2:224-268.
- Arnold, J. M., and D. C. Roberts
1997 A critique of fixed and progressive ratio schedules used to examine the neural substrates of drug reinforcement. *Pharmacol Biochem Behav* 57(3):441-7.
- Aujla, H., R. Martin-Fardon, and F. Weiss
2008 Rats with extended access to cocaine exhibit increased stress reactivity and sensitivity to the anxiolytic-like effects of the mGluR 2/3 agonist LY379268 during abstinence. *Neuropsychopharmacology* 33(8):1818-26.
- Baker, D. A., H. Shen, and P. W. Kalivas
2002a Cystine/glutamate exchange serves as the source for extracellular glutamate: modifications by repeated cocaine administration. *Amino Acids* 23(1-3):161-2.
- Baker, D. A., et al.
2002b The origin and neuronal function of in vivo nonsynaptic glutamate. *J Neurosci* 22(20):9134-41.
- Banks, M. L., and S. S. Negus
2010 Effects of extended cocaine access and cocaine withdrawal on choice between cocaine and food in rhesus monkeys. *Neuropsychopharmacology* 35(2):493-504.
- Bardo, M. T., et al.
1995 Environmental enrichment attenuates locomotor sensitization, but not in vitro dopamine release, induced by amphetamine. *Pharmacol Biochem Behav* 51(2-3):397-405.
2001 Environmental enrichment decreases intravenous self-administration of amphetamine in female and male rats. *Psychopharmacology (Berl)* 155(3):278-84.
- Bari, A., J. W. Dalley, and T. W. Robbins
2008 The application of the 5-choice serial reaction time task for the assessment of visual attentional processes and impulse control in rats. *Nat Protoc* 3(5):759-67.
- Bechara, A.
2005 Decision making, impulse control and loss of willpower to resist drugs: a neurocognitive perspective. *Nat Neurosci* 8(11):1458-63.
- Becker, G.S. ; Murphy, K.M.
1988 A theory of rational addiction. *J. Polit. Econ.* 96:675-700.
- Belin, D., et al.
2008 High impulsivity predicts the switch to compulsive cocaine-taking. *Science* 320(5881):1352-5.
- Bell, S. M., et al.
1993 Water deprivation-induced oral self-administration of cocaine in the Lewis rat: evidence for locomotor effects but not reinforcement. *Pharmacol Biochem Behav* 45(3):749-54.
1995 The failure of cocaine to serve as an orally self-administered reinforcer in Lewis rats. *Behav Pharmacol* 6(4):366-374.

- Ben-Shahar, O., et al.
2004 The transition from controlled to compulsive drug use is associated with a loss of sensitization. *Brain Res* 995(1):46-54.
2007 Changes in levels of D1, D2, or NMDA receptors during withdrawal from brief or extended daily access to IV cocaine. *Brain Res* 1131(1):220-8.
- Ben-Shahar, O., J. M. Moscarello, and A. Ettenberg
2006 One hour, but not six hours, of daily access to self-administered cocaine results in elevated levels of the dopamine transporter. *Brain Res* 1095(1):148-53.
- Ben-Shahar, O., et al.
2005 Prolonged daily exposure to i.v. cocaine results in tolerance to its stimulant effects. *Pharmacol Biochem Behav* 82(2):411-6.
2008 Heightened drug-seeking motivation following extended daily access to self-administered cocaine. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 32(3):863-9.
- Benton, D.
2010 The plausibility of sugar addiction and its role in obesity and eating disorders. *Clin Nutr* 29(3):288-303.
- Bezard, E., et al.
2003 Enriched environment confers resistance to 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine and cocaine: involvement of dopamine transporter and trophic factors. *J Neurosci* 23(35):10999-1007.
- Bickel, W. K., R. J. DeGrandpre, and S. T. Higgins
1993 Behavioral economics: a novel experimental approach to the study of drug dependence. *Drug Alcohol Depend* 33(2):173-92.
1995 The behavioral economics of concurrent drug reinforcers: a review and reanalysis of drug self-administration research. *Psychopharmacology (Berl)* 118(3):250-9.
- Bickel, W. K., et al.
1990 Behavioral economics of drug self-administration. I. Functional equivalence of response requirement and drug dose. *Life Sci* 47(17):1501-10.
- Bingham, W. E., and W. J. Griffiths, Jr.
1952 The effect of different environments during infancy on adult behavior in the rat. *J Comp Physiol Psychol* 45(4):307-12.
- Blood, A. J., and R. J. Zatorre
2001 Intensely pleasurable responses to music correlate with activity in brain regions implicated in reward and emotion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98(20):11818-23.
- Bowling, S. L., J. K. Rowlett, and M. T. Bardo
1993 The effect of environmental enrichment on amphetamine-stimulated locomotor activity, dopamine synthesis and dopamine release. *Neuropharmacology* 32(9):885-93.
- Breiter, H. C., et al.
2001 Functional imaging of neural responses to expectancy and experience of monetary gains and losses. *Neuron* 30(2):619-39.
- Briand, L. A., et al.
2008a Persistent alterations in cognitive function and prefrontal dopamine D2 receptors following extended, but not limited, access to self-administered cocaine. *Neuropsychopharmacology* 33(12):2969-80.
- Briand, L. A., J. P. Gross, and T. E. Robinson
2008b Impaired object recognition following prolonged withdrawal from extended-access cocaine self-administration. *Neuroscience* 155(1):1-6.
- Buss, D. M.
1991 Evolutionary personality psychology. *Annu Rev Psychol* 42:459-91.

- Campbell, D. T., and D. W. Fiske
1959 Convergent and discriminant validation by the multitrait-multimethod matrix. *Psychol Bull* 56(2):81-105.
- Campbell, U. C., and M. E. Carroll
2000 Acquisition of drug self-administration: environmental and pharmacological interventions. *Exp Clin Psychopharmacol* 8(3):312-25.
- Cantin, L., et al.
2010 Cocaine is low on the value ladder of rats: possible evidence for resilience to addiction. *PLoS One* 5(7):e11592.
- Caprioli, D., et al.
2009 Ambience and drug choice: cocaine- and heroin-taking as a function of environmental context in humans and rats. *Biol Psychiatry* 65(10):893-9.
- Carboni, E., et al.
1989 Amphetamine, cocaine, phencyclidine and nomifensine increase extracellular dopamine concentrations preferentially in the nucleus accumbens of freely moving rats. *Neuroscience* 28(3):653-61.
- Carroll, M. E., and S. T. Lac
1993 Autoshaping i.v. cocaine self-administration in rats: effects of nondrug alternative reinforcers on acquisition. *Psychopharmacology (Berl)* 110(1-2):5-12.
- Carroll, M. E., S. T. Lac, and S. L. Nygaard
1989 A concurrently available nondrug reinforcer prevents the acquisition or decreases the maintenance of cocaine-reinforced behavior. *Psychopharmacology (Berl)* 97(1):23-9.
- Cartwright, S.A.
1851/1981 Report on the diseases and physical peculiarities of the Negro race. In A. L. Caplan, H. T. Engelhardt, Jr., & J. J. McCartney (Eds.), *Concepts of health and disease: Interdisciplinary perspectives* (pp. 305-326). Reading, MA: Addison-Wesley. (Original work published 1851).
- Chao, J., and E. J. Nestler
2004 Molecular neurobiology of drug addiction. *Annu Rev Med* 55:113-32.
- Chen, S. A., et al.
2006 Unlimited access to heroin self-administration: independent motivational markers of opiate dependence. *Neuropsychopharmacology* 31(12):2692-707.
- Christensen, C. J., et al.
2008 Demand for cocaine and food over time. *Pharmacol Biochem Behav* 91(2):209-16.
- Cohen, H.
1981 The evolution of the concept of disease. In A. L. Caplan, H. T. Engelhardt, Jr., & J. J. McCartney (Eds.), *Concepts of health and disease: Interdisciplinary perspectives* (pp. 209-220). Reading, MA: Addison-Wesley.
- Collins, R. J., et al.
1984 Prediction of abuse liability of drugs using IV self-administration by rats. *Psychopharmacology (Berl)* 82(1-2):6-13.
- Comer, S. D., et al.
1996 Combined effects of buprenorphine and a nondrug alternative reinforcer on i.v. cocaine self-administration in rats maintained under FR schedules. *Psychopharmacology (Berl)* 125(4):355-60.
- Cosgrove, K. P., R. G. Hunter, and M. E. Carroll

- 2002 Wheel-running attenuates intravenous cocaine self-administration in rats: sex differences. *Pharmacol Biochem Behav* 73(3):663-71.
- Crabbe, J. C.
2002 Genetic contributions to addiction. *Annu Rev Psychol* 53:435-62.
- Crabbe, J. C., D. Wahlsten, and B. C. Dudek
1999 Genetics of mouse behavior: interactions with laboratory environment. *Science* 284(5420):1670-2.
- Cronbach, L. J., and P. E. Meehl
1955 Construct validity in psychological tests. *Psychol Bull* 52(4):281-302.
- Cunningham, C. L., et al.
1992 Genetic differences in the rewarding and activating effects of morphine and ethanol. *Psychopharmacology (Berl)* 107(2-3):385-93.
- Dalrymple, T.
2006 *Romancing Opiates : Pharmacological lies and the Addiction Bureaucracy.* Encounter Books, New York.
- Degenhardt, L., K. M. Bohnert, and J. C. Anthony
2008 Assessment of cocaine and other drug dependence in the general population: "gated" versus "ungated" approaches. *Drug Alcohol Depend* 93(3):227-32.
- Deroche-Gamonet, V., D. Belin, and P. V. Piazza
2004 Evidence for addiction-like behavior in the rat. *Science* 305(5686):1014-7.
- Di Chiara, G., and A. Imperato
1988 Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proc Natl Acad Sci U S A* 85(14):5274-8.
- Doherty, J., et al.
2009 Age-dependent morphine intake and cue-induced reinstatement, but not escalation in intake, by adolescent and adult male rats. *Pharmacol Biochem Behav* 92(1):164-72.
- Dutra, L., et al.
2008 A meta-analytic review of psychosocial interventions for substance use disorders. *Am J Psychiatry* 165(2):179-87.
- Duvauchelle, C. L., T. Sapoznik, and C. Kornetsky
1998 The synergistic effects of combining cocaine and heroin ("speedball") using a progressive-ratio schedule of drug reinforcement. *Pharmacol Biochem Behav* 61(3):297-302.
- Dworkin, S. I., et al.
1987 The effects of 12-hour limited access to cocaine: reduction in drug intake and mortality. *NIDA Res Monogr* 76:221-5.
- Epstein, D. H., and K. L. Preston
2003 The reinstatement model and relapse prevention: a clinical perspective. *Psychopharmacology (Berl)* 168(1-2):31-41.
- Epstein, D. H., et al.
2006 Toward a model of drug relapse: an assessment of the validity of the reinstatement procedure. *Psychopharmacology (Berl)* 189(1):1-16.
- Ettenberg, A., and T. D. Geist
1991 Animal model for investigating the anxiogenic effects of self-administered cocaine. *Psychopharmacology (Berl)* 103(4):455-61.
- Ferrario, C. R., et al.
2005 Neural and behavioral plasticity associated with the transition from controlled to escalated cocaine use. *Biol Psychiatry* 58(9):751-9.

- Ferrario, C. R., and T. E. Robinson
2007 Amphetamine pretreatment accelerates the subsequent escalation of cocaine self-administration behavior. *Eur Neuropsychopharmacol* 17(5):352-7.
- Fisher, H. E., A. Aron, and L. L. Brown
2006 Romantic love: a mammalian brain system for mate choice. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 361(1476):2173-86.
- Forgays, D. G., and J. W. Forgays
1952 The nature of the effect of free-environmental experience in the rat. *J Comp Physiol Psychol* 45(4):322-8.
- Fowler, C. D., et al.
2011 Habenular alpha5 nicotinic receptor subunit signalling controls nicotine intake. *Nature* 471(7340):597-601.
- Gasior, M., C. A. Paronis, and J. Bergman
2004 Modification by dopaminergic drugs of choice behavior under concurrent schedules of intravenous saline and food delivery in monkeys. *J Pharmacol Exp Ther* 308(1):249-59.
- Gass, J. T., and M. F. Olive
2008 Glutamatergic substrates of drug addiction and alcoholism. *Biochem Pharmacol* 75(1):218-65.
- Geist, T. D., and A. Ettenberg
1990 A simple method for studying intravenous drug reinforcement in a runaway. *Pharmacol Biochem Behav* 36(3):703-6.
- George, F. R., et al.
1991 Orally delivered cocaine functions as a positive reinforcer in C57BL/6J mice. *Pharmacol Biochem Behav* 38(4):897-903.
- Gerber, G. J., and R. A. Wise
1989 Pharmacological regulation of intravenous cocaine and heroin self-administration in rats: a variable dose paradigm. *Pharmacol Biochem Behav* 32(2):527-31.
- Gipson, C. D., et al.
2011 Effect of environmental enrichment on escalation of cocaine self-administration in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 214(2):557-66.
- Goldman, D., G. Oroszi, and F. Ducci
2005 The genetics of addictions: uncovering the genes. *Nat Rev Genet* 6(7):521-32.
- Grabowski, J., S. T. Higgins, and K. C. Kirby
1993 Behavioral treatments of cocaine dependence. *NIDA Res Monogr* 135:133-49.
- Greenwald, M. K., and S. R. Hursh
2006 Behavioral economic analysis of opioid consumption in heroin-dependent individuals: effects of unit price and pre-session drug supply. *Drug Alcohol Depend* 85(1):35-48.
- Griffiths, R. R., R. M. Wurster, and J. V. Brady
1975 Discrete-trial choice procedure: effects of naloxone and methadone on choice between food and heroin. *Pharmacol Rev* 27(3):357-65.
- Grimm, J. W., et al.
2001 Neuroadaptation. Incubation of cocaine craving after withdrawal. *Nature* 412(6843):141-2.
- Guillem, K., et al.
2005 Monoamine oxidase inhibition dramatically increases the motivation to self-administer nicotine in rats. *J Neurosci* 25(38):8593-600.
- Guitart, X., et al.

- 1993 Lewis and Fischer rat strains display differences in biochemical, electrophysiological and behavioral parameters: studies in the nucleus accumbens and locus coeruleus of drug naive and morphine-treated animals. *Brain Res* 611(1):7-17.
- Hall, F. S., et al.
2002 Cocaine mechanisms: enhanced cocaine, fluoxetine and nisoxetine place preferences following monoamine transporter deletions. *Neuroscience* 115(1):153-61.
- Haney, M.
2009 Self-administration of cocaine, cannabis and heroin in the human laboratory: benefits and pitfalls. *Addict Biol* 14(1):9-21.
- Hansen, S. T., and G. P. Mark
2007 The nicotinic acetylcholine receptor antagonist mecamylamine prevents escalation of cocaine self-administration in rats with extended daily access. *Psychopharmacology (Berl)* 194(1):53-61.
- Heilig, M., et al.
Translating the neuroscience of alcoholism into clinical treatments: from blocking the buzz to curing the blues. *Neurosci Biobehav Rev* 35(2):334-44.
- Herrnstein, R.J. ; Prelec, D.
1991 Melioration : a theory of distributed choice. *J. Econ. Perspec.* 5:137-156.
- Heyman, G. M.
2009 Addiction : a disorder of choice. Cambridge : Harvard University Press.
- Heyman, G. M., K. Gendel, and J. Goodman
1999 Inelastic demand for alcohol in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 144(3):213-9.
- Heyman, G.M.
1996 Resolving the contradictions of addiction. *Behav. Brain Sci.* 19:561-610.
- Higgins, S. T., S. M. Alessi, and R. L. Dantona
2002 Voucher-based incentives. A substance abuse treatment innovation. *Addict Behav* 27(6):887-910.
- Higgins, S. T., et al.
1994 Incentives improve outcome in outpatient behavioral treatment of cocaine dependence. *Arch Gen Psychiatry* 51(7):568-76.
1993 Achieving cocaine abstinence with a behavioral approach. *Am J Psychiatry* 150(5):763-9.
1991 A behavioral approach to achieving initial cocaine abstinence. *Am J Psychiatry* 148(9):1218-24.
- Hodos, W.
1961 Progressive ratio as a measure of reward strength. *Science* 134:943-4.
- Hursh, S. R.
1980 Economic concepts for the analysis of behavior. *J Exp Anal Behav* 34(2):219-38.
1984 Behavioral economics. *J Exp Anal Behav* 42(3):435-52.
1991 Behavioral economics of drug self-administration and drug abuse policy. *J Exp Anal Behav* 56(2):377-93.
1993 Behavioral economics of drug self-administration: an introduction. *Drug Alcohol Depend* 33(2):165-72.
- Hursh, S. R., et al.
2005 The economics of drug abuse: a quantitative assessment of drug demand. *Mol Interv* 5(1):20-8.
- Hursh, S. R., and A. Silberberg
2008 Economic demand and essential value. *Psychol Rev* 115(1):186-98.
- Hyman, S. E.

- 2005 Addiction: a disease of learning and memory. *Am J Psychiatry* 162(8):1414-22.
- 2007a Can neuroscience be integrated into the DSM-V? *Nat Rev Neurosci* 8(9):725-32.
- 2007b The neurobiology of addiction: implications for voluntary control of behavior. *Am J Bioeth* 7(1):8-11.
- Hyman, S. E., and R. C. Malenka
- 2001 Addiction and the brain: the neurobiology of compulsion and its persistence. *Nat Rev Neurosci* 2(10):695-703.
- Jaber, M., et al.
- 1996 Dopamine receptors and brain function. *Neuropharmacology* 35(11):1503-19.
- Jaffe, J. H., et al.
- 1989 Cocaine-induced cocaine craving. *Psychopharmacology (Berl)* 97(1):59-64.
- Jellinek, E. M.
- 1952 Phases of alcohol addiction. *Q J Stud Alcohol* 13(4):673-84.
- Jin, X., et al.
- 2010 The mGluR2 positive allosteric modulator BINA decreases cocaine self-administration and cue-induced cocaine-seeking and counteracts cocaine-induced enhancement of brain reward function in rats. *Neuropsychopharmacology* 35(10):2021-36.
- Johanson, C. E., and R. L. Balster
- 1978 A summary of the results of a drug self-administration study using substitution procedures in rhesus monkeys. *Bull Narc* 30(3):43-54.
- Johanson, C. E., and C. R. Schuster
- 1975 A choice procedure for drug reinforcers: cocaine and methylphenidate in the rhesus monkey. *J Pharmacol Exp Ther* 193(2):676-88.
- Kable, J. W., and P. W. Glimcher
- 2009 The neurobiology of decision: consensus and controversy. *Neuron* 63(6):733-45.
- Kalivas, P. W.
- 2009 The glutamate homeostasis hypothesis of addiction. *Nat Rev Neurosci* 10(8):561-72.
- Kalivas, P. W., and K. McFarland
- 2003 Brain circuitry and the reinstatement of cocaine-seeking behavior. *Psychopharmacology (Berl)* 168(1-2):44-56.
- Kalivas, P. W., and C. O'Brien
- 2008 Drug addiction as a pathology of staged neuroplasticity. *Neuropsychopharmacology* 33(1):166-80.
- Kanarek, R. B., et al.
- 1995 Exercise attenuates oral intake of amphetamine in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 51(4):725-9.
- Kendell, R. E.
- 1975 The concept of disease and its implications for psychiatry. *Br J Psychiatry* 127:305-15.
- Kendell, R.E.
- 1986 What are mental disorders? In A. M. Freedman, R. Brotman, I. Silverman, & D. Hutson (Eds.), *Issues in psychiatric classification: Science, practice and social policy* (pp. 23-45). New York: Human Sciences Press.
- Kenny, P. J.

- 2011 Reward mechanisms in obesity: new insights and future directions. *Neuron* 69(4):664-79.
- Kenny, P. J., et al.
2005 Metabotropic glutamate 5 receptor blockade may attenuate cocaine self-administration by decreasing brain reward function in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 179(1):247-54.
- Kerstetter, K.A., et al.
2009 Selecting Between Food and Cocaine Reinforcement. *In* 39th annual meeting of the Society for Neuroscience. Chicago, IL, USA.
- Kippin, T. E., R. A. Fuchs, and R. E. See
2006 Contributions of prolonged contingent and noncontingent cocaine exposure to enhanced reinstatement of cocaine seeking in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 187(1):60-7.
- Klebaaur, J. E., et al.
2001 Exposure to novel environmental stimuli decreases amphetamine self-administration in rats. *Exp Clin Psychopharmacol* 9(4):372-9.
- Knackstedt, L. A., and A. Ettenberg
2005 Ethanol consumption reduces the adverse consequences of self-administered intravenous cocaine in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 178(2-3):143-50.
- Knackstedt, L. A., and P. W. Kalivas
2007 Extended access to cocaine self-administration enhances drug-primed reinstatement but not behavioral sensitization. *J Pharmacol Exp Ther* 322(3):1103-9.
- Knutson, B., et al.
2001 Anticipation of increasing monetary reward selectively recruits nucleus accumbens. *J Neurosci* 21(16):RC159.
- Koob, G. F., G. Kenneth Lloyd, and B. J. Mason
2009 Development of pharmacotherapies for drug addiction: a Rosetta stone approach. *Nat Rev Drug Discov* 8(6):500-15.
- Koob, G. F., Le Moal, M
2006 *Neurobiology of Addiction*. Academic Press, San Diego.
- Kosten, T. A., et al.
1997 Acquisition and maintenance of intravenous cocaine self-administration in Lewis and Fischer inbred rat strains. *Brain Res* 778(2):418-29.
- Kosten, T. A., X. Y. Zhang, and C. N. Haile
2007 Strain differences in maintenance of cocaine self-administration and their relationship to novelty activity responses. *Behav Neurosci* 121(2):380-8.
- Krech, D., M. R. Rosenzweig, and E. L. Bennett
1960 Effects of environmental complexity and training on brain chemistry. *J Comp Physiol Psychol* 53:509-19.
- 1962 Relations between chemistry and problem-solving among rats raised in enriched and impoverished environments. *J Comp Physiol Psychol* 55:801-7.
- LaRowe, S. D., et al.
2007 Is cocaine desire reduced by N-acetylcysteine? *Am J Psychiatry* 164(7):1115-7.
- Larson, E. B., et al.
2007 Effects of estrogen and progesterone on the escalation of cocaine self-administration in female rats during extended access. *Exp Clin Psychopharmacol* 15(5):461-71.
- Lenoir, M., and S. H. Ahmed

- 2007 Heroin-induced reinstatement is specific to compulsive heroin use and dissociable from heroin reward and sensitization. *Neuropsychopharmacology* 32(3):616-24.
- 2008 Supply of a nondrug substitute reduces escalated heroin consumption. *Neuropsychopharmacology* 33(9):2272-82.
- Lenoir, M., et al.
2007 Intense sweetness surpasses cocaine reward. *PLoS One* 2(1):e698.
- Lenoir, M., Guillem, K., Koob, G.F., S.H. Ahmed
2011 Drug specificity in extended access cocaine and heroin self-administration *Addiction Biology*, sous presse
- Li, D. H., R. Y. Depoortere, and M. W. Emmett-Oglesby
1994 Tolerance to the reinforcing effects of cocaine in a progressive ratio paradigm. *Psychopharmacology (Berl)* 116(3):326-32.
- Liu, Y., D. C. Roberts, and D. Morgan
2005 Effects of extended-access self-administration and deprivation on breakpoints maintained by cocaine in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 179(3):644-51.
- Lu, L., et al.
2003 Effect of environmental stressors on opiate and psychostimulant reinforcement, reinstatement and discrimination in rats: a review. *Neurosci Biobehav Rev* 27(5):457-91.
- Lussier, J. P., et al.
2006 A meta-analysis of voucher-based reinforcement therapy for substance use disorders. *Addiction* 101(2):192-203.
- Lynch, W. J., and M. E. Carroll
1999 Sex differences in the acquisition of intravenously self-administered cocaine and heroin in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 144(1):77-82.
- 2001 Regulation of drug intake. *Exp Clin Psychopharmacol* 9(2):131-43.
- Lynch, W. J., et al.
2006 A paradigm to investigate the regulation of cocaine self-administration in human cocaine users: a randomized trial. *Psychopharmacology (Berl)* 185(3):306-14.
- Lynch, W. J., and J. R. Taylor
2004 Sex differences in the behavioral effects of 24-h/day access to cocaine under a discrete trial procedure. *Neuropsychopharmacology* 29(5):943-51.
- Lyvers, M.
2000 "Loss of control" in alcoholism and drug addiction: a neuroscientific interpretation. *Exp Clin Psychopharmacol* 8(2):225-49.
- Madayag, A., et al.
2010 Drug-induced plasticity contributing to heightened relapse susceptibility: neurochemical changes and augmented reinstatement in high-intake rats. *J Neurosci* 30(1):210-7.
- 2007 Repeated N-acetylcysteine administration alters plasticity-dependent effects of cocaine. *J Neurosci* 27(51):13968-76.
- Maddux, J. F., and D. P. Desmond
2000 Addiction or dependence? *Addiction* 95(5):661-5.
- Mandyam, C. D., et al.
2007 Methamphetamine self-administration and voluntary exercise have opposing effects on medial prefrontal cortex gliogenesis. *J Neurosci* 27(42):11442-50.
- Mantsch, J. R., et al.

- 2008a Stressor- and corticotropin releasing factor-induced reinstatement and active stress-related behavioral responses are augmented following long-access cocaine self-administration by rats. *Psychopharmacology (Berl)* 195(4):591-603.
- 2008b Surgical adrenalectomy with diurnal corticosterone replacement slows escalation and prevents the augmentation of cocaine-induced reinstatement in rats self-administering cocaine under long-access conditions. *Neuropsychopharmacology* 33(4):814-26.
- 2007 Daily cocaine self-administration under long-access conditions augments restraint-induced increases in plasma corticosterone and impairs glucocorticoid receptor-mediated negative feedback in rats. *Brain Res* 1167:101-11.
- 2004 Effects of extended access to high versus low cocaine doses on self-administration, cocaine-induced reinstatement and brain mRNA levels in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 175(1):26-36.
- Marinelli, M., and P. V. Piazza
- 2002 Interaction between glucocorticoid hormones, stress and psychostimulant drugs. *Eur J Neurosci* 16(3):387-94.
- Markou, A., et al.
- 1993 Animal models of drug craving. *Psychopharmacology (Berl)* 112(2-3):163-82.
- Martin, C. S., T. Chung, and J. W. Langenbucher
- 2008 How should we revise diagnostic criteria for substance use disorders in the DSM-V? *J Abnorm Psychol* 117(3):561-75.
- Matthysse, S.
- 1986 Animal models in psychiatric research. *Prog Brain Res* 65:259-70.
- Mattson, B. J., et al.
- 2001 Comparison of two positive reinforcing stimuli: pups and cocaine throughout the postpartum period. *Behav Neurosci* 115(3):683-94.
- McBean, G. J.
- 2002 Cerebral cystine uptake: a tale of two transporters. *Trends Pharmacol Sci* 23(7):299-302.
- McKinney, W. T., Jr., and W. E. Bunney, Jr.
- 1969 Animal model of depression. I. Review of evidence: implications for research. *Arch Gen Psychiatry* 21(2):240-8.
- McLellan, A. T., et al.
- 2000 Drug dependence, a chronic medical illness: implications for treatment, insurance, and outcomes evaluation. *JAMA* 284(13):1689-95.
- Meisch, R. A., F. R. George, and G. A. Lemaire
- 1990 Orally delivered cocaine as a reinforcer for rhesus monkeys. *Pharmacol Biochem Behav* 35(1):245-9.
- Miles, F. J., B. J. Everitt, and A. Dickinson
- 2003 Oral cocaine seeking by rats: action or habit? *Behav Neurosci* 117(5):927-38.
- Miller, G., and C. Holden
- 2010 Psychiatry. Proposed revisions to psychiatry's canon unveiled. *Science* 327(5967):770-1.
- Millon, T.
- 2004 *Masters of the mind*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- Missale, C., et al.
- 1998 Dopamine receptors: from structure to function. *Physiol Rev* 78(1):189-225.
- Mobbs, D., et al.
- 2003 Humor modulates the mesolimbic reward centers. *Neuron* 40(5):1041-8.
- Mosier, C. I.

- 1947 A critical examination of the concepts of face validity. *Educ Psychol Meas* 7(2):191-205.
- Nader, M. A., D. Hedeker, and W. L. Woolverton
1993 Behavioral economics and drug choice: effects of unit price on cocaine self-administration by monkeys. *Drug Alcohol Depend* 33(2):193-9.
- Nader, M. A., and W. L. Woolverton
1990 Cocaine vs. food choice in rhesus monkeys: effects of increasing the response cost for cocaine. *NIDA Res Monogr* 105:621.
1991 Effects of increasing the magnitude of an alternative reinforcer on drug choice in a discrete-trials choice procedure. *Psychopharmacology (Berl)* 105(2):169-74.
1992a Choice between cocaine and food by rhesus monkeys: effects of conditions of food availability. *Behav Pharmacol* 3(6):635-638.
1992b Effects of increasing response requirement on choice between cocaine and food in rhesus monkeys. *Psychopharmacology (Berl)* 108(3):295-300.
- Negus, S. S.
2003 Rapid assessment of choice between cocaine and food in rhesus monkeys: effects of environmental manipulations and treatment with d-amphetamine and flupenthixol. *Neuropsychopharmacology* 28(5):919-31.
2004 Effects of the kappa opioid agonist U50,488 and the kappa opioid antagonist nor-binaltorphimine on choice between cocaine and food in rhesus monkeys. *Psychopharmacology (Berl)* 176(2):204-13.
2005a Effects of punishment on choice between cocaine and food in rhesus monkeys. *Psychopharmacology (Berl)* 181(2):244-52.
2005b Interactions between the reinforcing effects of cocaine and heroin in a drug-vs-food choice procedure in rhesus monkeys: a dose-addition analysis. *Psychopharmacology (Berl)* 180(1):115-24.
2006 Choice between heroin and food in nondependent and heroin-dependent rhesus monkeys: effects of naloxone, buprenorphine, and methadone. *J Pharmacol Exp Ther* 317(2):711-23.
- Negus, S. S., and N. K. Mello
2004 Effects of chronic methadone treatment on cocaine- and food-maintained responding under second-order, progressive-ratio and concurrent-choice schedules in rhesus monkeys. *Drug Alcohol Depend* 74(3):297-309.
- Negus, S. S., and K. C. Rice
2009 Mechanisms of withdrawal-associated increases in heroin self-administration: pharmacologic modulation of heroin vs food choice in heroin-dependent rhesus monkeys. *Neuropsychopharmacology* 34(4):899-911.
- Nestler, E. J.
2001 Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. *Nat Rev Neurosci* 2(2):119-28.
2005 The neurobiology of cocaine addiction. *Sci Pract Perspect* 3(1):4-10.
2008 Review. Transcriptional mechanisms of addiction: role of DeltaFosB. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 363(1507):3245-55.
- Nestler, E. J., M. Barrot, and D. W. Self
2001 DeltaFosB: a sustained molecular switch for addiction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98(20):11042-6.
- Noble, F.
2008 [Current preclinical knowledge of the neurobiology of cocaine]. *Presse Med* 37(12):1767-72.
- Noriuchi, M., Y. Kikuchi, and A. Senoo

- 2008 The functional neuroanatomy of maternal love: mother's response to infant's attachment behaviors. *Biol Psychiatry* 63(4):415-23.
- Nutt, D., et al.
2007 Development of a rational scale to assess the harm of drugs of potential misuse. *Lancet* 369(9566):1047-53.
- O'Brien, C. P., N. Volkow, and T. K. Li
2006 What's in a word? Addiction versus dependence in DSM-V. *Am J Psychiatry* 163(5):764-5.
- O'Connor, E. C., et al.
2010 The predictive validity of the rat self-administration model for abuse liability. *Neurosci Biobehav Rev* 35(3):912-38.
- OFDT
2010 Les niveaux d'usage de drogue en France en 2010. *Tendances* n°76, Juin 2011.
- Olds, J., and P. Milner
1954 Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *J Comp Physiol Psychol* 47(6):419-27.
- Oleson, E. B., and D. C. Roberts
2009 Behavioral economic assessment of price and cocaine consumption following self-administration histories that produce escalation of either final ratios or intake. *Neuropsychopharmacology* 34(3):796-804.
- ONUDC
2010 Rapport mondial sur les drogues 2010. Office des Nations unies contre la drogue et le crime, Vienne.
- Panlilio, L. V., E. B. Thorndike, and C. W. Schindler
2003 Reinstatement of punishment-suppressed opioid self-administration in rats: an alternative model of relapse to drug abuse. *Psychopharmacology (Berl)* 168(1-2):229-35.
- Paronis, C. A., M. Gasior, and J. Bergman
2002 Effects of cocaine under concurrent fixed ratio schedules of food and IV drug availability: a novel choice procedure in monkeys. *Psychopharmacology (Berl)* 163(3-4):283-91.
- Paterson, N. E., and A. Markou
2003 Increased motivation for self-administered cocaine after escalated cocaine intake. *Neuroreport* 14(17):2229-32.
2004 Prolonged nicotine dependence associated with extended access to nicotine self-administration in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 173(1-2):64-72.
- Paulus, M. P.
2007 Decision-making dysfunctions in psychiatry--altered homeostatic processing? *Science* 318(5850):602-6.
- Pelloux, Y., B. J. Everitt, and A. Dickinson
2007 Compulsive drug seeking by rats under punishment: effects of drug taking history. *Psychopharmacology (Berl)* 194(1):127-37.
- Pendyam, S., et al.
2009 Computational model of extracellular glutamate in the nucleus accumbens incorporates neuroadaptations by chronic cocaine. *Neuroscience* 158(4):1266-76.
- Perry, J. L., et al.
2006 Escalation of i.v. cocaine self-administration and reinstatement of cocaine-seeking behavior in rats bred for high and low saccharin intake. *Psychopharmacology (Berl)* 186(2):235-45.
- Peterson, G. B.

- 2004 A day of great illumination: B. F. Skinner's discovery of shaping. *J Exp Anal Behav* 82(3):317-28.
- Petry, N. M., et al.
2005 Vouchers versus prizes: contingency management treatment of substance abusers in community settings. *J Consult Clin Psychol* 73(6):1005-14.
- Piazza, P. V., et al.
1989 Factors that predict individual vulnerability to amphetamine self-administration. *Science* 245(4925):1511-3.
- Pickens, R., and T. Thompson
1968 Cocaine-reinforced behavior in rats: effects of reinforcement magnitude and fixed-ratio size. *J Pharmacol Exp Ther* 161(1):122-9.
- Poncelet, M., et al.
1983 The progressive ratio schedule as a model for studying the psychomotor stimulant activity of drugs in the rat. *Psychopharmacology (Berl)* 80(2):184-9.
- Post, R. M., R. T. Kopanda, and K. E. Black
1976 Progressive effects of cocaine on behavior and central amine metabolism in rhesus monkeys: relationship to kindling and psychosis. *Biol Psychiatry* 11(4):403-19.
- Preston, K. L., et al.
2008 Randomized trial comparing two treatment strategies using prize-based reinforcement of abstinence in cocaine and opiate users. *J Appl Behav Anal* 41(4):551-63.
- Rangel, A., C. Camerer, and P. R. Montague
2008 A framework for studying the neurobiology of value-based decision making. *Nat Rev Neurosci* 9(7):545-56.
- Reboussin, B. A., and J. C. Anthony
2006 Is there epidemiological evidence to support the idea that a cocaine dependence syndrome emerges soon after onset of cocaine use? *Neuropsychopharmacology* 31(9):2055-64.
- Redish, A. D., S. Jensen, and A. Johnson
2008 A unified framework for addiction: vulnerabilities in the decision process. *Behav Brain Sci* 31(4):415-37; discussion 437-87.
- Richardson, N. R., and D. C. Roberts
1996 Progressive ratio schedules in drug self-administration studies in rats: a method to evaluate reinforcing efficacy. *J Neurosci Methods* 66(1):1-11.
- Roberts, D. C., and S. A. Bennett
1993 Heroin self-administration in rats under a progressive ratio schedule of reinforcement. *Psychopharmacology (Berl)* 111(2):215-8.
- Robins, L. N.
1993 The sixth Thomas James Okey Memorial Lecture. Vietnam veterans' rapid recovery from heroin addiction: a fluke or normal expectation? *Addiction* 88(8):1041-54.
- Robins, L. N., D. H. Davis, and D. W. Goodwin
1974 Drug use by U.S. Army enlisted men in Vietnam: a follow-up on their return home. *Am J Epidemiol* 99(4):235-49.
- Rogers, J. L., S. De Santis, and R. E. See
2008a Extended methamphetamine self-administration enhances reinstatement of drug seeking and impairs novel object recognition in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 199(4):615-24.
- Rogers, R. E., et al.

- 2008b Abstinence-contingent reinforcement and engagement in non-drug-related activities among illicit drug abusers. *Psychol Addict Behav* 22(4):544-50.
- Rosenzweig, M. R.
1966 Environmental complexity, cerebral change, and behavior. *Am Psychol* 21(4):321-32.
- Rosenzweig, M. R., et al.
1962 Effects of environmental complexity and training on brain chemistry and anatomy: a replication and extension. *J Comp Physiol Psychol* 55:429-37.
- Roth, M. E., and M. E. Carroll
2004 Sex differences in the escalation of intravenous cocaine intake following long- or short-access to cocaine self-administration. *Pharmacol Biochem Behav* 78(2):199-207.
- Roth, M. E., K. P. Cosgrove, and M. E. Carroll
2004 Sex differences in the vulnerability to drug abuse: a review of preclinical studies. *Neurosci Biobehav Rev* 28(6):533-46.
- Salimpoor, V. N., et al.
2011 Anatomically distinct dopamine release during anticipation and experience of peak emotion to music. *Nat Neurosci* 14(2):257-62.
- Sarbin, T. R.
1967 On the futility of the proposition that some people be labeled "mentally ill". *J Consult Psychol* 31(5):447-53.
- Scadding, J. G.
1967 Diagnosis: the clinician and the computer. *Lancet* 2(7521):877-82.
- Schaler, J.A.
2000 *Addiction is a Choice*. Open Court, Chicago.
- Schelling, T.C.
1980 The intimate contest for self-command. *Public Interest* 60:94 - 118.
- Schultz, W.
1997 Dopamine neurons and their role in reward mechanisms. *Curr Opin Neurobiol* 7(2):191-7.
1998 Predictive reward signal of dopamine neurons. *J Neurophysiol* 80(1):1-27.
2001 Reward signaling by dopamine neurons. *Neuroscientist* 7(4):293-302.
- Schuster, C. R., and T. Thompson
1969 Self administration of and behavioral dependence on drugs. *Annu Rev Pharmacol* 9:483-502.
- Schwendt, M., et al.
2009 Extended methamphetamine self-administration in rats results in a selective reduction of dopamine transporter levels in the prefrontal cortex and dorsal striatum not accompanied by marked monoaminergic depletion. *J Pharmacol Exp Ther* 331(2):555-62.
- Sedgwick, P.
1982 *Psycho politics*. New York : Harper & Row.
- See, R. E., et al.
2003 Drug addiction, relapse, and the amygdala. *Ann N Y Acad Sci* 985:294-307.
- Shaham, Y., et al.
2003 The reinstatement model of drug relapse: history, methodology and major findings. *Psychopharmacology (Berl)* 168(1-2):3-20.
- Shoaib, M., et al.
1995 Strain differences in the rewarding and dopamine-releasing effects of morphine in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 117(2):240-7.

- Shorter, E.
1997 A history of psychiatry : from the era of the asylum to the age of prozac. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, New Jersey.
- Solinas, M., et al.
2008 Reversal of cocaine addiction by environmental enrichment. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105(44):17145-50.
- Solinas, M., L. V. Panlilio, and S. R. Goldberg
2004 Exposure to delta-9-tetrahydrocannabinol (THC) increases subsequent heroin taking but not heroin's reinforcing efficacy: a self-administration study in rats. *Neuropsychopharmacology* 29(7):1301-11.
- Solinas, M., et al.
2006 Using drug-discrimination techniques to study the abuse-related effects of psychoactive drugs in rats. *Nat Protoc* 1(3):1194-206.
- Sorge, R. E., and J. Stewart
2005 The contribution of drug history and time since termination of drug taking to footshock stress-induced cocaine seeking in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 183(2):210-7.
- Spealman, R. D., and S. R. Goldberg
1978 Drug self-administration by laboratory animals: control by schedules of reinforcement. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 18:313-39.
- Specio, S. E., et al.
2008 CRF(1) receptor antagonists attenuate escalated cocaine self-administration in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 196(3):473-82.
- Spragg, S. D. S.
1940a Morphine addiction in chimpanzees. *Comparative Psychology Monographs* 15(7):1-132.
- Spragg, S.D.S.
1940b Morphine addiction in chimpanzees. *Comparative Psychology Monographs* 15:1-132.
- Stafford, D., M. G. LeSage, and J. R. Glowa
1998 Progressive-ratio schedules of drug delivery in the analysis of drug self-administration: a review. *Psychopharmacology (Berl)* 139(3):169-84.
- Stein, D. J., et al.
What is a mental/psychiatric disorder? From DSM-IV to DSM-V. *Psychol Med* 40(11):1759-65.
- Stitzer, M., and N. Petry
2006 Contingency management for treatment of substance abuse. *Annu Rev Clin Psychol* 2:411-34.
- Stoops, W. W., J. A. Lile, and C. R. Rush
2010 Monetary alternative reinforcers more effectively decrease intranasal cocaine choice than food alternative reinforcers. *Pharmacol Biochem Behav* 95(2):187-91.
- Sughondhabirom, A., et al.
2005 A paradigm to investigate the self-regulation of cocaine administration in humans. *Psychopharmacology (Berl)* 180(3):436-46.
- Swendsen, J., and M. Le Moal
2011 Individual vulnerability to addiction. *Ann N Y Acad Sci* 1216:73-85.
- Szasz, T. S.
1974 The myth of psychotherapy. *Am J Psychother* 28(4):517-26.
- Taylor, F. K.

- 1971 1. A logical analysis of the medico-psychological concept of disease. *Psychol Med* 1(5):356-64.
- 1976 The medical model of the disease concept. *Br J Psychiatry* 128:588-94.
- Thaler, R.H. ; Shefrin, H.M.
- 1981 An economic theory of self-control. *J. Polit. Econ.* 89:392-406.
- Thiel, K. J., et al.
- 2009 Anti-craving effects of environmental enrichment. *Int J Neuropsychopharmacol* 12(9):1151-6.
- Thompson, T., and C. R. Schuster
- 1964 Morphine Self-Administration, Food-Reinforced, and Avoidance Behaviors in Rhesus Monkeys. *Psychopharmacologia* 5:87-94.
- Thomsen, M., and S. B. Caine
- 2005 Chronic intravenous drug self-administration in rats and mice. *Curr Protoc Neurosci Chapter 9:Unit 9* 20.
- Uhl, G. R., and R. W. Grow
- 2004 The burden of complex genetics in brain disorders. *Arch Gen Psychiatry* 61(3):223-9.
- Vanderschuren, L. J., and B. J. Everitt
- 2004 Drug seeking becomes compulsive after prolonged cocaine self-administration. *Science* 305(5686):1017-9.
- Volkow, N. D., et al.
- 2005 Activation of orbital and medial prefrontal cortex by methylphenidate in cocaine-addicted subjects but not in controls: relevance to addiction. *J Neurosci* 25(15):3932-9.
- Vosburg, S. K., et al.
- 2010 Using a novel alternative to drug choice in a human laboratory model of a cocaine binge: a game of chance. *Drug Alcohol Depend* 110(1-2):144-50.
- Wakefield, J. C.
- 1992 The concept of mental disorder. On the boundary between biological facts and social values. *Am Psychol* 47(3):373-88.
- 2007 The concept of mental disorder: diagnostic implications of the harmful dysfunction analysis. *World Psychiatry* 6(3):149-56.
- Walsh, S. L., et al.
- 2010 Cocaine abuse versus cocaine dependence: cocaine self-administration and pharmacodynamic response in the human laboratory. *Drug Alcohol Depend* 106(1):28-37.
- Wee, S., et al.
- 2008 Alpha 1-noradrenergic system role in increased motivation for cocaine intake in rats with prolonged access. *Eur Neuropsychopharmacol* 18(4):303-11.
- Wee, S., S. E. Specio, and G. F. Koob
- 2007a Effects of dose and session duration on cocaine self-administration in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 320(3):1134-43.
- Wee, S., et al.
- 2007b Effect of aripiprazole, a partial dopamine D2 receptor agonist, on increased rate of methamphetamine self-administration in rats with prolonged session duration. *Neuropsychopharmacology* 32(10):2238-47.
- Weeks, J. R.
- 1962 Experimental morphine addiction: method for automatic intravenous injections in unrestrained rats. *Science* 138:143-4.
- Weeks, J. R., and J. D. Davis

- 1964 Chronic Intravenous Cannulas for Rats. *J Appl Physiol* 19:540-1.
- Weiss, F., et al.
2001 Compulsive drug-seeking behavior and relapse. Neuroadaptation, stress, and conditioning factors. *Ann N Y Acad Sci* 937:1-26.
- Willner, P.
1984 The validity of animal models of depression. *Psychopharmacology (Berl)* 83(1):1-16.
- Wolffgramm, J.
1991 An ethopharmacological approach to the development of drug addiction. *Neurosci Biobehav Rev* 15(4):515-9.
- Wolffgramm, J., and A. Heyne
1995 From controlled drug intake to loss of control: the irreversible development of drug addiction in the rat. *Behav Brain Res* 70(1):77-94.
- Woolverton, W. L.
2003 A novel choice method for studying drugs as punishers. *Pharmacol Biochem Behav* 76(1):125-31.
- Woolverton, W. L., and K. Alling
1999 Choice under concurrent VI schedules: comparison of behavior maintained by cocaine or food. *Psychopharmacology (Berl)* 141(1):47-56.
- Woolverton, W. L., and K. G. Anderson
2006 Effects of delay to reinforcement on the choice between cocaine and food in rhesus monkeys. *Psychopharmacology (Berl)* 186(1):99-106.
- Woolverton, W. L., and R. L. Balster
1979 The effects of lithium on choice between cocaine and food in the rhesus monkey. *Commun Psychopharmacol* 3(5):309-18.
1981 Effects of antipsychotic compounds in rhesus monkeys given a choice between cocaine and food. *Drug Alcohol Depend* 8(1):69-78.
- Woolverton, W. L., and J. A. English
1997 Further analysis of choice between cocaine and food using the unit price model of behavioral economics. *Drug Alcohol Depend* 49(1):71-8.
- Yokel, R. A., and R. Pickens
1973 Self-administration of optical isomers of amphetamine and methylamphetamine by rats. *J Pharmacol Exp Ther* 187(1):27-33.
- Zachariou, V., et al.
2006 An essential role for DeltaFosB in the nucleus accumbens in morphine action. *Nat Neurosci* 9(2):205-11.
- Zakharova, E., D. Wade, and S. Izenwasser
2009 Sensitivity to cocaine conditioned reward depends on sex and age. *Pharmacol Biochem Behav* 92(1):131-4.
- Zhou, W., et al.
2009 Effects of training and withdrawal periods on heroin seeking induced by conditioned cue in an animal model of relapse. *Psychopharmacology (Berl)* 203(4):677-84.
- Zittel-Lazarini, A., M. Cador, and S. H. Ahmed
2007 A critical transition in cocaine self-administration: behavioral and neurobiological implications. *Psychopharmacology (Berl)* 192(3):337-46.