THESE

Pour l'obtention du Grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE POITIERS

(Faculté des Sciences Fondamentales et Appliquées)
(Diplôme National - Arrêté du 25 mai 2016)

Ecole Doctorale « *Sciences Biologiques & Santé* »

Secteur de Recherche : Neurosciences

Présentée par :

DESMERCIERES Stevenson

****

ÉTUDE DE L'IMPACT D'UN RÉGIME HYPERPALATABLE ET DE LA MODULATION DU MÉTABOLISME CÉRÉBRAL DU CHOLESTÉROL SUR DES PHÉNOMÈNES D'ADDICTION CHEZ LE RAT

Directeur de Thèse :
Dr. SOLINAS Marcello et Dr. THIRIET Nathalie

****

Soutenue le 17 octobre 2022

devant la Commission d'Examen

****

JURY

Dr. CADOR Martine	DR1 CNRS (Bordeaux – France)	Rapporteur
Dr. VANHOUTTE Peter	DR2 CNRS (Paris – France)	Rapporteur
Dr. SOLINAS Marcello	DR2 CNRS (Poitiers – France)	Directeur de thèse
Dr. THIRIET Nathalie	MCU (Poitiers – France)	Directrice de thèse

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier le Dr. Martine Cador ainsi que le Dr. Peter Vanhoutte pour avoir accepté d'évaluer mon travail de thèse.

Je remercie le Pr. Mohamed Jaber, directeur du laboratoire, de m'avoir accueilli dans son laboratoire pour la réalisation de ma thèse. Merci pour les divers échanges que l'on a pu avoir durant ces années.

À mes directeurs de thèse, le Dr Nathalie Thiriet et le Dr Marcello Solinas, je tiens à vous exprimer ma profonde gratitude. Merci pour le suivi que vous m'avez accordé tout au long de ma thèse. Merci de m'avoir offert votre expertise, votre expérience ainsi que votre confiance durant ces 3 années. Il serait trop long de vous remercier pour tous ces moments et la patience que vous avez dû avoir à mon égard. Il est certain que sans vous, je n'aurais pas cet esprit critique et cette autonomie. Merci de m'avoir ouvert la voie, je tâcherai de faire de mon mieux pour continuer de me perfectionner et d'avancer selon les principes que vous m'avez enseignés.

Au Dr Pauline Belujon, une fois encore, les mots me manquent pour exprimer toute ma gratitude. Merci d'avoir été présente depuis mes premiers pas en licence jusqu'à aujourd'hui. Merci d'avoir cru en moi et en mes capacités. J'espère sincèrement que nos chemins se recroiseront dans un projet de recherche commun.

Comme il me faudrait une seconde thèse pour résumer l'ensemble des bons moments que j'ai passé avec vous, je préfère faire des remerciements généraux à l'ensemble des membres de l'équipe dans laquelle j'ai passé ces années.
Virginie, Emilie, Myriam, Jean-Emmanuel, Youna, merci pour tout. Merci d'avoir été présents aussi bien scientifiquement que personnellement, de m'avoir tant appris, d'avoir été à l'écoute et de m'avoir encouragé. Sans votre soutien, cette thèse n'aurait pas été possible.

Bien entendu, je remercie les anciens et nouveaux étudiants en thèse qui ont ou sont en train de traverser cette équipe. À Mejda, merci pour les discussions et tes conseils pour les auto-administrations lors de mon stage, ils m'auront été d'une grande aide. À Adélie, merci pour cette année et demie passée avec toi dans l'équipe, pour ton soutien et tes conseils, l'ECNP, c'est aussi grâce à toi !
En ce qui concerne les plus récents, Thomas et Manon, merci pour ces moments passés au bureau et surtout votre écoute. Cette thèse n'aurait pas la même saveur sans vous ! Je tiens à vous souhaiter une très bonne thèse à tous les 2. Je ne m'inquiète pas, elles seront super !

Bien entendu, je remercie l'ensemble des doctorants de ce laboratoire avec une mention spéciale pour Éloise, Sarah et Alexandre qui m'ont beaucoup supporté durant ma période d'écriture. À charge de revanche.

J’aimerais aussi remercier les personnes qui ont, de près ou de loin, participé à ce projet de thèse :

- À Laure, pour tous tes conseils d’immuno, pour le comptage et ta bienveillance.
- À Éric, pour tes conseils en comportements et tes retours au laboratoire lorsque j’avais un problème.
- À Sébastien, pour l’aide à la microscopie.
- À Catherine, pour ton aide aux préparations de divers matériels et solutions.
- Et bien sûr, à l’ensemble de l’équipe de PREBIOS pour leurs aides à l’animalerie.

Plus largement, je remercie l’ensemble des membres du laboratoire pour ces années à vos côtés que je n’oublierai pas.

De façon plus personnelle, je remercie ma mère, ma sœur, mon frère ainsi que le reste de ma famille pour avoir été présent dans les moments les plus durs. Merci pour votre soutien et vos encouragements quotidiens. Plus spécialement, merci à mon Tonton et Nanou’ d’avoir autant pris soin de moi dans les moments compliqués, merci d’avoir endossé ce rôle qui n’était pas une obligation, j’espère continuer à vous rendre la pareille.

Merci à mes amis qui ont été présents autour de moi. Je ne l’oublierai pas. Mention spéciale à Anaïs et Louis pour tout ce qu’ils ont pu faire. Merci, Louis, grâce à toi, j’ai un super ordinateur qui m’a beaucoup servi lors de l’écriture ! À Anaïs, il serait trop long de te remercier pour tout ce que tu as fait alors juste merci pour tout. Sache que je suis très fier des illustrations que tu as pu faire pour moi ! Je remercie aussi Guillaume et Sarah qui m’ont accompagné pendant un grand nombre d’années durant mes études. Merci d’avoir pris soin de moi pendant tout ce temps, je compte bien vous rendre la pareille.

Merci à mes petits chimistes, Anaelle, Quentin et Chad, merci pour ces moments de joie et de répits. J’espère que nous serons de nouveau réunis dans la même ville.

Je profite de ce moment pour remercier la personne que j’ai rencontré et qui m’a épaulé du début à la fin de cette thèse. Merci à Isaline pour ces 3 années, je trouve qu’on s’en est bien sortis ! Il me tarde de changer de chapitre et de voir où cela nous mène, nous avons beaucoup de voyages à rattraper toi et moi.

Enfin, j’aimerais finir ces remerciements et les dédier à ceux qui ne sont plus autour de moi. Tout au long de mon parcours, j’ai pu rencontrer, partager et évoluer avec un grand nombre de personnes. Chacune d’entre elles m’a, d’une manière ou d’une autre, appris quelque chose qui m’est utile aujourd’hui. Toutes ces leçons ont forgé la personne et le scientifique que je suis aujourd’hui. Malheureusement, il arrive que ces personnes ne soient plus présentes aux moments où j’écris ces lignes. En revanche, cela ne veut pas pour autant dire que les souvenirs à leurs côtés ont disparu. De ce fait, si, par hasard, tu te reconnais à travers ces lignes : Merci pour tout ce que tu as fait pour moi.

Comme je me l’étais promis il y a longtemps, je terminerai cette page par une citation de Robert Louis Stevenson, l’auteur grâce auquel je porte ce prénom. Je trouve qu’elle résume très bien la vie en science et celle que j’ai pu mener.

« Ne juge pas chaque jour à la récolte que tu fais, mais aux graines que tu sèmes »
R. L. Stevenson

DESMERCIERES Stevenson
PhD student
Date de naissance : 03/04/1995
Université de Poitiers - France
stevenson.desmercieres@univ-poitiers.fr

Expériences professionnelles

2019 – 2022 Doctorat en Neurosciences : École Doctorale Biologie Santé de l'Université de Poitiers
Étude de l'implication du métabolisme du cholestérol cérébral dans un modèle d'addiction chez le rat et de l'impact de la nourriture hyperpalatable sur l'addiction à la nourriture. Sous la direction du Dr SOLINAS et du Dr THIRIET

2017 – 2019 Master de Neurosciences : Université de Poitiers - France
Mention "Bien". Appréhension moléculaire, cellulaire, intégrée et cognitive des neurosciences vers la clinique. Planification, Organisation, Réalisation communication d'un travail de recherche.

2016 – 2017 Licence Physiologie Animale et Neurosciences : Université de Poitiers – France
Mention "Assez bien". Acquisition de connaissances en physiologie, en neurosciences, en biologie cellulaire, moléculaire, génétique, en expérimentation animale similaire à la méthodologie de la recherche fondamentale et préclinique en biologie-santé.

2014 – 2016 Diplôme Universitaire et Technologique : IUT génie biologique La Rochelle - France
Spécialité : Analyses biologiques et biochimiques Acquisition théorique et pratique appliquées aux sciences et technologies du génie biologique. Apprentissage de techniques d'analyses médicales, industrielles et dans l'organisation du travail et de la gestion de la qualité.

Publications scientifiques

- Stevenson Desmercieres, Virginie Lardeux, Jean-Emmanuel Longueville, Myriam Hanna, Leigh V. Panlilio, Nathalie Thiriet, Marcello Solinas (2022): A self-adjusting, progressive shock magnitudeprocedure to investigate resistance to punishment: characterization in male and female rats. BioRxiv doi : https://doi.org/10.1101/2022.03.12.481595

- Stevenson Desmercieres, Emilie Dugast, Virginie Lardeux, Sandine Betuing, Nicolas Heck, Josette Alseebaly, Marcello Solinas, Nathalie Thiriet: Manipulation of cholesterol metabolism in the dorsal striatum decreases risks of relapse to cocaine addiction **(in preparation)**

- Stevenson Desmercieres, Virginie Lardeux, Jean-Emmanuel Longueville, Emilie Dugast, Nathalie Thiriet, Marcello Solinas: Effects of high fat, high sugar diet on motivation and compulsivity in rats: role of sex and age of exposure **(in preparation)**

Communications scientifiques

- Juillet 2022 : Présentation d'un poster à la FENS (Federation of European Neuroscience Societies) à Paris - France
- Juin 2022 : Participation à la SFR-FED4226 (Structure Fédérative de Recherche) à Tours – France comme intervenant
- Octobre 2021 : Participation au 34ème congrès ECNP (European college of neuropsychopharmacology) à Lisbonne – Portugal comme intervenant dans la catégorie "ECNP's got talent".
- Mars 2021 : Participation à ECNP Workshop et lauréat dans la catégorie "Early Career Scientists" - Distanciel

Compétences scientifiques

- In vitro :
    - Culture cellulaire
    - Hybridation in situ et immunohistochimie
    - Southern, Northern et Western Blot
- In vivo :
    - Expérimentation animale (Concepteur)
    - Chirurgie Anesthésie et chirurgie chez le rongeur
        - Technique d'implantation de cathéter
        - Perfusion trans-cardiaque et extraction du cerveau
        - Techniques d'injection stéréotaxiques
- Utilisation de matériels de mesures comportementales
    - Utilisation de chambre opérante (Coulbourn, Imetronic et MedAssociates)
    - Utilisation « Open field », labyrinthe en croix surélevée, « hot plate », actimétrie,
- Dosages biologiques et biochimiques

Autres activités scientifiques

- Enseignement : 2020 – 2021 : Réalisation des travaux pratiques des L3 Biologie moléculaire et cellulaire (section 65 : 61h) et Neuroanatomie fonctionnelle (section 69 : 26h)
- Participation à la supervision des stagiaires (Licence et Master)
- Membre de la société des neurosciences 2021-2022
- Organisation d'évènement de vulgarisation scientifique « Pint Of Science »

Langue

Français : Langue natale
Anglais : Fluent

Sommaire

Introduction 15

Chapitre 1. L'addiction aux drogues 17

I. Les généralités de l'addiction 17

A. Définitions et caractéristiques 17

B. Le cycle de l'addiction 17

C. Les critères diagnostiques de l'addiction 18

II. L'addiction, un problème de santé publique 19

III. Étudier l'addiction par la modélisation animale 20

A. La préférence de place conditionnée 20

B. La sensibilisation comportementale 22

C. L'auto-administration de drogue 23

1. Étude de la prise 23

2. Étude de la recherche compulsive de drogue 25

3. Étude de la motivation pour la drogue 26

4. Étude de la rechute 26

5. Autres modèles d'addiction aux drogues 27

a. Modèle d'accès prolongé 27

b. Modèle des trois critères 28

Chapitre 2 : Le phénomène de l'addiction à la nourriture 30

I. Généralités sur l'addiction à la nourriture 30

A. Historique 30

B. Outils diagnostics de l'addiction à la nourriture 30

C. Prévalence de l'addiction à la nourriture selon l'YFAS 32

II. Similarités ou divergences comportementales entre l'addiction aux drogues et l'addiction à la nourriture 32

A. Perturbation de la sensation hédonique induite par la récompense 32

B. Impact sur la motivation de recherche 33

C. Difficulté à limiter la prise 34

D. Persistance de la consommation malgré des conséquences négatives 35

E. Sevrage par des aliments palatables et persistance des perturbations observées 36

Chapitre 3 : Neurobiologie de l'addiction 38

I. Les voies dopaminergiques 38

A. Les différents rôles de la dopamine 39

1. Rôle de la dopamine dans l'hédonie et dans l'attribution de la saillance incitative 39

2. Rôle de la dopamine dans l'apprentissage par récompense 40

3. Rôle de la dopamine dans la formation d'habitude 40
B. Les principaux circuits dopaminergiques 41
1. La voie nigrostriée 41
a. Description de la voie nigrostriatale 41
b. Structures cibles de la voie nigrostriée : le striatum dorsal (StD) 41
2. Le système mésocorticolimbique 45
3. Les structures cibles du système mésocorticolimbique 46
a. Le noyau accumbens (NAc) 46
b. Le cortex préfrontal médian (CPFm) 50
c. Le cortex orbitofrontale (COF) 54
II. La plasticité neuronale induite par les drogues d'abus 57
A. Plasticité structurale induite par la cocaïne 57
B. Plasticité synaptique induite par la cocaïne 58
1. Plasticité synaptique du NAc induite par la cocaïne 59
2. Plasticité synaptique du StD induite par la cocaïne 61
C. Neuroadaptations moléculaires induites par les drogues 61
1. Modulation de l'expression du transporteur de la dopamine (DAT) 62
2. Modulation de la voie de l'AMPc et du facteur de transcription CREB 63
a. Les gènes de la famille Fos : Cible de CREB 65
b. Les gènes cibles de la protéine ΔFosB 67
III. Similarités neurobiologiques entre l'addiction aux drogues et l'addiction à la nourriture 69
A. Perturbations du système DAergique 69
B. Similarités neurobiologiques observées lors d'un sevrage 71
C. Similarités neurobiologiques observées lors du craving 71
Chapitre 4 : Le cholestérol 74
I. Généralités sur le cholestérol 74
A. Le cholestérol périphérique 74
1. Origine exogène 74
2. Origine endogène 75
a. Synthèse du cholestérol périphérique 75
b. Transport du cholestérol périphérique 77
c. Régulation de la synthèse du cholestérol systémique 77
d. Élimination du cholestérol périphérique 77
B. Le cholestérol cérébral 78
1. Synthèse cérébrale du cholestérol 78
a. La synthèse à proprement dite 78

b. La régulation de la synthèse du cholestérol 79
2. Transport du cholestérol des astrocytes vers les neurones 82
3. Internalisation, adressage et stockage du cholestérol 83
4. Élimination du cholestérol 84
II. Rôle du cholestérol dans diverses fonctions cérébrales 85
A. Le cholestérol est le constituant principal de la myéline 85
B. Le rôle du cholestérol dans la fluidité et la rigidité membranaire 86
C. Le rôle du cholestérol dans la communication neuronale 86
1. Contrôle de la communication neuronale en présynaptique par les radeaux lipidiques 86
2. Contrôle de la communication neuronale en postsynaptique 88
III. Implication du métabolisme du cholestérol dans le vieillissement et les neuropathologies 89
A. Implication du cholestérol dans le vieillissement 90
B. Le syndrome de Smith Lemli-Optiz (SLOS) 90
C. La maladie de Niemann Pick de type C 91
D. La maladie de Parkinson 92
E. La maladie d'Alzheimer 93
F. La maladie de Huntington 94
G. L'addiction 95
Objectif de la thèse 978
Résultats 99
Article 1 100
Article 2 125
Article 3 164
Discussion générale 205
I. Mise en place d'une nouvelle procédure à magnitude de choc progressive et auto-ajustable . 206
A. Rappel de l'objectif 206
B. Résumé des principaux résultats obtenus 206
C. Utilisation de la procédure de PSS dans l'étude de l'addiction 207
D.Transposition de la procédure de PSS dans des procédures de conflit opérant dans les études sur l'anxiété 208
II. Effets de l'exposition à un régime riche en graisse et en sucre sur la motivation et la compulsivité pour la nourriture 210
A. Rappel de l'objectif 210
B. Résumé des principaux résultats obtenus 210
C. Une potentielle absence de neuroadaptations durables après une exposition à un régime hyperpalatable 211

D. Étude de l'impact de la souche de rat utilisé dans les expériences sur les comportements induits par un régime hyperpalatable 212

III. Rôle du métabolisme du cholestérol cérébral dans l'addiction aux drogues 214

A. Rappel de l'objectif 214

B. Résumé des résultats obtenus 214

C. Rôle du métabolisme du cholestérol du striatum dorsal dans la rechute 215

1. Modulation de l'expression génique du métabolisme du cholestérol cérébral par la cocaïne 215

2. Effets bénéfiques de la CYP46A1 spécifiquement dans le striatum dorsal 216

3. Les mécanismes impliqués dans les effets bénéfiques de la surexpression CYP46A1 dans le striatum dorsal 217

D. Perspectives d'études du métabolisme du cholestérol cérébral dans l'addiction 219

1. Étude des effets de la surexpression de la CYP46A1 sur la plasticité cérébrale induite par la cocaïne. 219

2. Étude du potentiel rôle différentiel du métabolisme du cholestérol dans les neurones D1 et D2 du striatum dorsal. 220

3. Étude d'approches pharmacologiques plus translationnelles pour modifier le métabolisme du cholestérol cérébral 221

a. Cibler l'enzyme de dégradation du cholestérol cérébral : la CYP46A1 222

b. Cibler le régulateur de la synthèse du cholestérol cérébral : le LXR 223

Conclusion 224

Références bibliographiques 228

Sommaire des figures

Figure 1 : Représentation des étapes de l'addiction 18
Figure 2 : Représentation de l'appareil de préférence de place conditionnée. 21
Figure 3 : Cathéter et matériaux utilisés pour les procédures d'auto-administration 23
Figure 4 : Schématisation du mécanisme d'action de différentes drogues. 38
Figure 5 : Projections dopaminergiques dans le cerveau humain. 39
Figure 6 : Schématisation de la voie directe et indirecte du striatum 42
Figure 7 : Schématisation du système mésocorticolimbique 46
Figure 8 : Représentation de coupes coronales à différents niveaux du noyau accumbens. . 46
Figure 9 : Représentation anatomique du cortex préfrontal 51
Figure 10 : Représentation du cortex préfrontal de rat 54
Figure 11 : Connectivités du cortex orbitofrontal. 55
Figure 12 : Schématisation de la LTP et de la LTD au niveau post synaptique. 59
Figure 13 : Mécanismes cellulaires des récepteurs dopaminergiques D1 et D2 64
Figure 14 : Cinétique des facteurs de transcription de la famille Fos par la cocaïne. 66
Figure 15 : Schématisation des neuroadaptations induites par la cocaïne sur l'arborisation dendritique des neurones 68
Figure 16 : Formule topologique de la molécule de cholestérol 74
Figure 17 : Schématisation des différentes étapes pré-lanostérol et post-lanostérols conduisant à la synthèse de nouveau cholestérol 76
Figure 18 : La régulation de la synthèse par les protéines SCAP et SREBP. 80
Figure 19 : Régulation par les récepteurs LXR. 81
Figure 20 : Régulation post-traductionnelle de l'HMGCoA réductase par INSIG et le protéasome 82
Figure 21 : Schématisation du transport intracellulaire du cholestérol de l'astrocyte au neurone. 83
Figure 22 : Schématisation d'un radeau lipidique 87

Sommaire des tableaux

Tableau 1 : Tableau représentatif des critères diagnostiques de l'addiction du DSM-5 19
Tableau 2 : Tableau représentatif des symptômes de l'addiction à la nourriture 31

Liste des abréviations

α-synucléine : alpha synucléine
24-OHC : 24-S-Hydroxycholesterol
5-HT : 5-hydroxytryptamine
6-OHDA : 6-hydroxydopamine
7-DHC : 7-déhydrocholestérol
7-DHCR : 7-déhydrocholestérol réductase
ABCA1 : Transporteur ATP binding cassette 1
AC : Adénylate cyclase
ADN : Acide désoxyribonucléique
AMG : Amygdale
AMPA : Acide α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionique
AMPAR : Récepteur à l'acide α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionique
AMPc : Adénosine monophosphate cyclique
APA : Société américaine de psychiatrie
APO-E : Apoprotéine E
ARNm : Acide ribonucléique messager
ATV : Aire tegmentale ventrale
Aβ : Peptide bêta-amyloïde extracellulaire
BHE : Barrière hématoencéphalique
BLA : Amygdale basolatérale
CBP : Protéine de liaison à CREB
CCA : Cortex cingulaire antérieur
CDK5 : Kinase 5 dépendante de la cycline
CFR : Corticotrophine
ChAT : Interneurone cholinergique
COF : Cortex orbitofrontal
COPII : Complexe protéique de revêtement II
CPF : Cortex préfrontal
CPFm : Cortex préfrontal médian
CREB : Protéine de liaison à l'élément de réponse AMPc
CRF : Facteur de libération des corticotrophines ou corticolibérines
CSAPA : Centres de soins, d'accompagnement et de prévention en addictologie
CYP46A1 : Cytochrome P450 famille 46 sous-famille A membre 1 ou Cholesterol 24-hydroxylase
DA : Dopamine
DAergique : Dopaminergique
DAT : Transporteur à la dopamine
DSM : Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux
DSM-5 : Cinquième version du Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux
DSM-IV : Quatrième version du Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux
ERK : Kinases régulées par le signal extracellulaire
FR : Ratio fixe
GABA : Acide gamma-aminobutyrique
GPe : Globus pallidus externe
GPi : Globus pallidus interne
HDL : Lipoprotéine de haute densité
HFSD : Régime riche en graisse et en sucre
HMGCoA : 3-hydroxy-3methyl-glutaryl coenzymeA
HMGCoAR : 3-hydroxy-3methyl-glutaryl coenzymeA reductase
IL : Cortex infralimbique
INSIG : Gène induit par l'insuline
IRMf : Imagerie par résonance magnétique fonctionnelle
LCR : Liquide céphalo-rachidien
LDL : Lipoprotéines de faible densité
LTD : Dépression à long terme
LTP : Potentialisation à long terme
LXR : Récepteur nucléaire des oxystérols
MSN : Neurones moyens épineux
NA : Noradrénaline
NAc : Noyau accumbens
NAcc : Partie « core » du noyau accumbens
NAcsh : Partie « envelope » du noyau accumbens
NMDA : Acide N-méthyl-D-aspartique
NMDAR : Récepteur à acide N-méthyl-D-aspartique
NPC-1 : Protéines Niemann Pick 1
NPC-2 : Protéines Niemann Pick 2
OEDT : Observatoire Européen des Drogues et Toxicomanies

OFDT : Observatoire français des drogues et des tendances addictives
PKA : Protéine kinase A
PPC : Préférence de place conditionnée
PR : Ratio progressif
PrL : Cortex prélimbique
PSS : Procédure à force de choc progressive
SCAP : Protéine activatrice du clivage de SREBP
SHH : Sonic hedgehog
SLOS : Syndrome de Smith Lemli-Optiz
SN : Substance noire
SNc : Substance noire compacte
SNr : Substance noire réticulée
SRE : Promoteur des gènes de synthèse des stérols
SREBP : Protéine de liaison des éléments de régulation des stérols
StD : Striatum dorsal
StDl : Striatum dorsolatéral
StDm : Striatum dorsomédial

Introduction

Chapitre 1. L'addiction aux drogues

I. Les généralités de l'addiction

A. Définitions et caractéristiques

L'addiction peut être définie comme une pathologie cérébrale chronique (Leshner, 1997) qui se caractérise par 1) une recherche de la substance de manière compulsive (Dackis and O'Brien, 2001; Leshner, 1997) ; 2) par une perte de contrôle pour limiter sa consommation (Koob et al., 2004) ; 3) par l'émergence d'un état émotionnel négatif, lorsque la consommation de drogue est arrêtée, associée à des symptômes de sevrage (Koob and Moal, 1997) et enfin, 4) par un aspect récidivant qui est caractérisé par un fort taux de rechute qui peut subvenir même après une longue période d'abstinence (Kreek et al., 2002).

B. Le cycle de l'addiction

L'addiction peut être conceptualisée comme un cycle divisé en 3 phases, qui correspondent aux 3 étapes majeures de la pathologie (Koob and Moal, 1997) : 1) la phase de consommation et d'intoxication ; 2) la phase de sevrage et d'apparition d'états émotionnels négatifs et 3) la phase de préoccupation et d'anticipation aboutissant en général à une rechute et au retour à la phase 1 du cycle.

Le début du cycle commence par une **période de développement de l'addiction**. C'est à ce moment que l'individu réalise ses premières expositions à la drogue. Cette consommation va ensuite perdurer provoquant une transition entre une consommation sporadique et intermittente vers une consommation régulière et plus importante. À ce stade, la consommation régulière reste contrôlée, mais dérive vers une consommation non contrôlée pour arriver à **des périodes de consommation pathologique** que l'on connaît dans l'addiction. L'étape de consommation régulière et contrôlée s'accompagne de la perception de l'individu des effets renforçants positifs de la drogue qui induisent la sensation de plaisir que recherche le consommateur (Koob, 2001).

Entre les phases de consommations, il existe des **phases d'abstinence.** Elles correspondent aux périodes où les individus arrêtent, volontairement ou non, de consommer la drogue. C'est dans ces périodes que l'on peut voir apparaître les symptômes de sevrage physique

comme une hypothermie, une hyperventilation, des paralysies musculaires et des diarrhées (Gupta et al., 2022) ou des symptômes de sevrage psychologique avec l'émergence d'états émotionnels négatifs comme l'anxiété, l'irritabilité et l'anhédonie (Koob and Moal, 1997).

Les phases de préoccupation correspondent aux périodes pendant lesquelles l'individu est préoccupé par la recherche de la drogue. Ces phases sont associées à la sensation de « craving », un facteur clé qui participe au déclenchement de la rechute. Le terme « craving » est difficile à traduire, mais il pourrait être représenté comme un désir impérieux, profond et viscéral de consommer la substance d'abus (Fowler and Fowler, 1964). Il est considéré qu'environ 80 % des individus abstinents rechutent (Kreek et al., 2002) et retournent à la phase de consommation plus ou moins incontrôlée (Figure 1) (Koob and Moal, 1997). Trois facteurs ont été identifiés, chez l'Homme et dans les modèles animaux, comme déclenchant le craving, la préoccupation et pour finir la recherche de drogue. Il s'agit de : 1) l'exposition à un stress ; 2) la drogue elle-même et 3) l'exposition à des stimuli contextuels associés à la consommation.

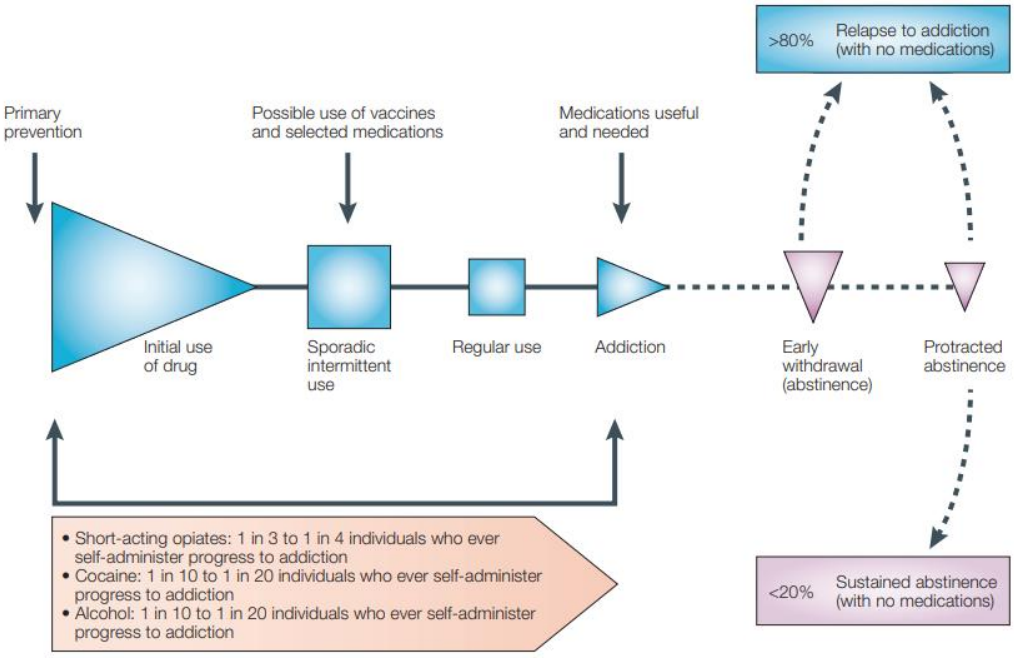


Figure 1 : Représentation des étapes de l'addiction (Kreek et al., 2002)

C. Les critères diagnostiques de l'addiction

L'association américaine de psychiatrie (APA pour « American Psychology Association ») a élaboré un manuel diagnostique des troubles mentaux, le DSM (pour « Diagnostic and

Statistical Manual of Mental Disorders »). Le DSM décrit l'ensemble des troubles mentaux et définit, grâce à des critères précis, les différentes pathologies psychiatriques pour faciliter leurs diagnostics. À ce jour, nous sommes à la cinquième version du DSM (DSM-5). Dans cette version, on ne parle pas d'addiction, mais de « troubles liés à l'usage de la substance ». Ce trouble est mesuré par 11 critères cliniques dont le nombre de critères présents va informer de l'existence et de la sévérité du trouble chez le patient (DSM-5). La présence d'au moins 2 de ces critères caractérise un patient comme souffrant d'un trouble lié à l'usage de substances addictives. Si la présence de 2 ou 3 critères est confirmée par le patient, le trouble est considéré comme léger. Si la présence de 4 ou 5 critères est confirmée, le trouble est considéré comme modéré et au-delà de 6, le trouble est considéré comme sévère. Par rapport aux précédentes versions, le DSM-5 inclut le « craving » comme un nouveau critère de diagnostic de l'addiction (Tableau 1).

Tableau 1 : Tableau représentatif des critères diagnostiques de l'addiction du DSM-5

L'addiction aux drogues est caractérisée par la présence de deux (ou plus) des manifestations suivantes, à un moment quelconque d'une période continue de douze mois :
1. *Le produit est souvent pris en quantité plus importante ou pendant une période plus prolongée que prévu*
2. *Il existe un désir persistant ou des efforts infructueux, pour diminuer ou contrôler l'utilisation du produit*
3. *Beaucoup de temps consacré à des activités nécessaires pour obtenir le produit, utiliser le produit ou récupérer son effet*
4. *Craving ou une envie intense de consommer le produit*
5. *Utilisation répétée du produit conduisant à l'incapacité de remplir des obligations majeures, au travail, à l'école ou à la maison*
6. *Utilisation du produit malgré les problèmes interpersonnels ou sociaux, persistants ou récurrents, causés ou exacerbés par les effets du produit*
7. *Des activités sociales, occupationnelles ou récréatives importantes sont abandonnées ou réduites à cause de l'utilisation du produit*
8. *Utilisation répétée du produit dans des situations où cela peut être physiquement dangereux*
9. *L'utilisation du produit est poursuivie bien que la personne sache avoir un problème psychologique ou physique persistant ou récurrent susceptible d'avoir été causé ou exacerbé par cette substance*
10. Tolérance, définie par l'un des symptômes suivants :
1. *Besoin de quantités notablement plus fortes du produit pour obtenir une intoxication ou l'effet désiré*
2. *Effet notablement diminué en cas d'utilisation continue d'une même quantité du produit*
11. Sevrage, caractérisé par l'une ou l'autre des manifestations suivantes :
1. *Syndrome de sevrage du produit caractérisé (cf diagnostic du syndrome de sevrage du produit).*
2. *Le produit (ou une substance proche) sont pris pour soulager ou éviter les symptômes de sevrage.*

II. L'addiction, un problème de santé publique

L'addiction aux drogues représente un problème de santé publique au sein de nos sociétés. En Europe, les données collectées sur les drogues, la toxicomanie et leurs impacts sont rapportées par l'Observatoire Européen des Drogues et Toxicomanies (OEDT) avec l'aide d'Europol, une agence européenne de police criminelle. Le rapport de 2019 montre une

rapide évolution du marché de la drogue dont les bénéfices sont estimés à 30 milliards d'euros par an (OEDT, EU Drug Markets report 2019).

En France, la cocaïne est le produit illicite le plus consommé après le cannabis. En 2017, le nombre d'expérimentateurs de cocaïne entre 11-75 ans est estimé à environ 2,1 millions. Ce nombre de consommateurs a été multiplié par 4 en vingt ans et représente environ 6 % de la population globale (Spilka et al., 2018). L'Observatoire français des drogues et des tendances addictives (OFDT) a rapporté que, à l'âge adulte, les hommes consomment plus que les femmes, mais chez les jeunes, les proportions sont équivalentes (garçons (3,9 %) et filles (3,7 %) (Spilka et al., 2018). Enfin, en 2018, environ 11 % des individus pris en charge par les centres de soins, d'accompagnement et de prévention en addictologie (CSAPA) déclarent que la cocaïne est le produit qui pose le plus de problèmes pour rester abstinent et environ 6 % d'individus citent le « crack », un dérivé bas de gamme de la cocaïne mélangé à du bicarbonate de soude et/ou de l'ammoniac (Palle, 2019).

III. Étudier l'addiction par la modélisation animale

Pour aider à la compréhension des mécanismes neurobiologiques de l'addiction, des modèles animaux spécifiques à l'addiction ont été développés. Ces modèles ont été développés surtout chez le rongeur en raison de fortes homologies physiologiques et comportementales inter-espèces. Dans cette partie, nous détaillerons les principaux modèles d'addictions utilisés chez l'animal.

A. La préférence de place conditionnée

Le test de préférence de place conditionnée (PPC ou CPP en anglais pour « Conditioned Place Preference ») a été utilisé pour évaluer les effets récompensants ou aversifs d'une substance (Bardo et al., 1995; Tzschentke, 1998). Il s'agit d'une procédure qui repose sur un conditionnement de type pavlovien dans lequel l'animal associe les effets induits par la substance (stimulus non conditionné) à un environnement spécifique initialement neutre (stimulus conditionné) (Bardo and Bevins, 2000).

Dans ce test, l'animal est placé dans un appareil constitué de deux compartiments séparés par un couloir. Chacun de ces compartiments peut être différencié par des indices contextuels comme des motifs sur les murs, des lumières, des textures, etc. (Cunningham et

al., 2006; Tzschentke, 1998) (Figure 2). Classiquement, le test de PPC est réalisé en 3 phases : la phase de préconditionnement, la phase de conditionnement et la phase de test.

La **phase de préconditionnement** est une séance où l'animal va pouvoir circuler librement dans les 2 compartiments afin d'évaluer si l'animal possède une préférence spontanée pour l'un des environnements, ce qui pourrait perturber le test.

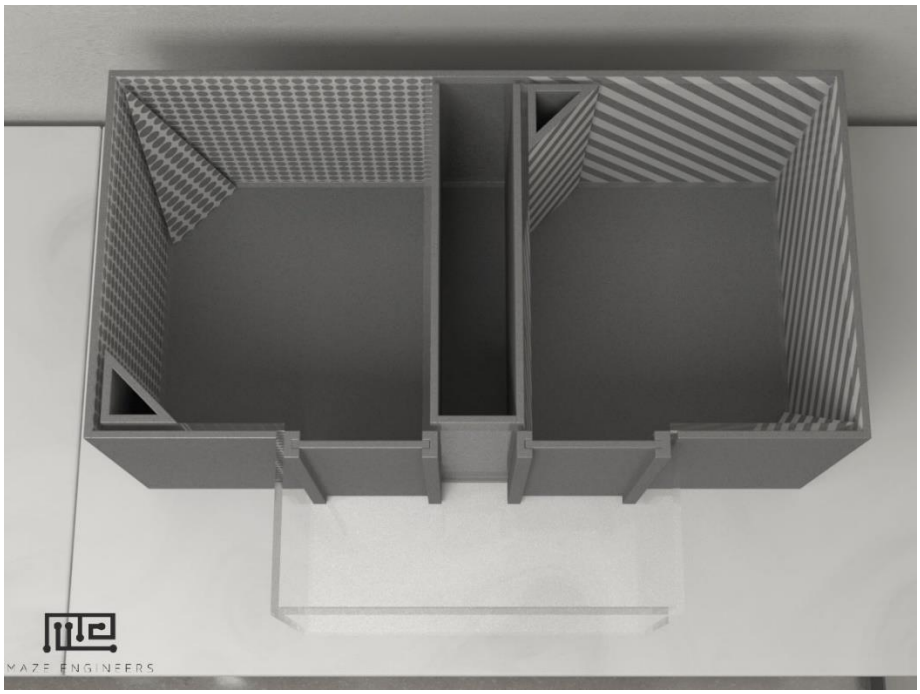


Figure 2 : Représentation de l'appareil de préférence de place conditionnée.

Les deux compartiments sont de la même taille, mais ils sont différenciables par des indices contextuels. La zone neutre se trouve en bas des 2 portes-guillotines. Source : conductscience.com

Pendant la **phase de conditionnement**, l'animal est placé dans un des compartiments de manière alternée sans la possibilité d'accéder au second compartiment. En fonction du compartiment dans lequel l'animal est placé, il recevra une injection passive de la substance étudiée ou une injection de solution saline neutre. Cette phase a pour but de permettre à l'animal d'associer les effets de la substance à un environnement spécifique.

Pendant la **phase de test**, l'animal est à nouveau placé dans l'appareil avec un accès libre aux deux compartiments sans qu'il ne reçoive d'injection. Le temps passé dans chaque compartiment permet d'estimer la valeur appétitive de la substance. En effet, si le temps

passé dans le compartiment associé à la substance est supérieur à celui passé dans le compartiment associé à la saline, l'animal présente ce qu'on appelle une préférence de place conditionnée : la substance est alors considérée comme récompensante (Bardo et al., 1995). Si, à l'inverse, le temps passé dans le compartiment associé à la substance est inférieur au comportement associé à la saline, la substance est considérée comme aversive (Bardo et al., 1995).

Cette procédure est couramment utilisée pour évaluer les propriétés récompensantes des drogues d'abus, car elle ne nécessite pas de chirurgie ou d'équipements complexes (Bardo et al., 1995). Avec cette procédure, les effets récompensants des drogues telles que la cocaïne, l'héroïne, l'amphétamine, la nicotine, la morphine, le Δ9-THC (delta-9-tetrahydrocannabinol, substance active du cannabis) et la caféine (Tzschentke, 1998) ont pu être mis en évidence. De plus, il a été montré que la préférence de place associée à la drogue pouvait durer plusieurs mois après la dernière injection, soulignant l'intensité des effets et du souvenir généré par la drogue (Mueller and Stewart, 2000).

B. La sensibilisation comportementale

Dans l'étude des substances d'abus, une autre procédure a été mise en place afin d'évaluer les neuroadaptations moléculaires et cellulaires à long terme induites par la drogue : la sensibilisation comportementale (Bartoletti et al., 1983, Kalivas and Stewart, 1991 ; Pierce and Kalivas, 1997). La sensibilisation comportementale se caractérise par une augmentation progressive de l'activité locomotrice induite par des administrations répétées d'une même dose de drogue (Bartoletti et al., 1983; Kalivas and Stewart, 1991).

Le protocole de sensibilisation comportementale comprend 2 phases : une phase de développement et une phase d'expression (Bartoletti et al., 1983; Kalivas and Stewart, 1991).

La **phase de développement** correspond à la phase d'injections répétées de la drogue. Pendant cette phase, l'activité locomotrice de l'animal peut être évaluée après chaque administration (Bartoletti et al., 1983; Kalivas and Stewart, 1991). Durant cette phase, une augmentation progressive de l'activité motrice de l'animal est observée (Bartoletti et al., 1983; Kalivas and Stewart, 1991). Il s'agit de la phase qui est associée aux neuroadaptations moléculaires et cellulaires induites par l'injection de la drogue (Bartoletti et al., 1983; Pierce and Kalivas, 1997).

La **phase d'expression** a lieu en général après une période durant laquelle l'animal ne reçoit pas d'injection (Kalivas and Stewart, 1991). Cette phase consiste à évaluer l'activité locomotrice induite par une nouvelle administration de la substance. Les animaux qui ont développé une sensibilisation comportementale vont présenter une activité locomotrice significativement supérieure à celle observée à la suite de la première injection (Bartoletti et al., 1983; Salomon et al., 2006). Cette étape permet de mettre en évidence des altérations durables induites par la drogue (Anderson and Pierce, 2005).

La sensibilisation comportementale a été montrée en réponse à diverses drogues (El Rawas et al., 2009; Salomon et al., 2006; Solinas et al., 2009), elle peut persister pendant plusieurs mois (Castner and Goldman-Rakic, 1999; Salomon et al., 2006) et est associée à une potentialisation de la libération de dopamine dans le noyau accumbens (Robinson and Berridge, 2000) et plus particulièrement dans le core du noyau accumbens (Di Chiara, 2002).

C. L'auto-administration de drogue

1. Étude de la prise

Contrairement aux procédures précédemment décrites, qui nécessitent une injection passive de drogue, la procédure d'auto-administration permet à l'animal de consommer de manière volontaire la substance d'abus (Schuster and Thompson, 1969; Thompson and Schuster, 1964; Weeks, 1962). Dans ce type de procédure, les animaux doivent subir au préalable une chirurgie afin d'implanter un cathéter dans une de leur veine (Thomsen and Caine, 2005) (Figure 3).

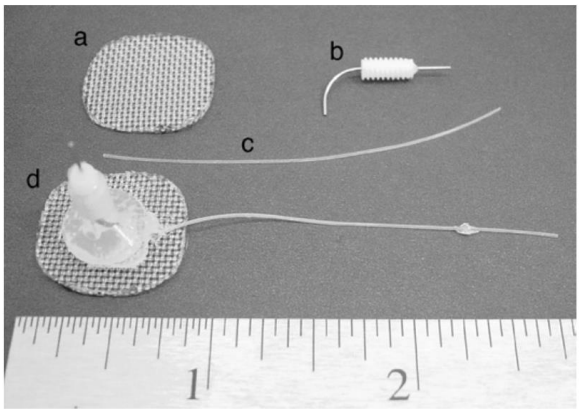


Figure 3 : Cathéter et matériaux utilisés pour les procédures d'auto-administration de substances chez le rongeur.

(a) Disque en maille de nylon ; (b) guide de canule ; (c) tube du cathéter en silicone ; (d) cathéter implantable avec une perle d'ancrage en silicone. La règle est en pouce (Thomsen and Caine, 2005).

Ce cathéter est ensuite connecté à une seringue contenant la substance que l'on souhaite administrer et cette dernière sera délivrée après l'exécution du comportement opérant. Dans la grande majorité des cas, le comportement opérant consiste à appuyer sur un levier afin de recevoir de la drogue, mais il existe une variante avec un trou muni d'un détecteur (« nose poke » en anglais) dans lequel l'animal peut placer son museau afin de déclencher la délivrance de la drogue. Grâce à l'auto-administration intraveineuse, les propriétés renforçantes des drogues à haut potentiel addictif chez l'Homme ont pu être mises en évidence (Schuster and Thompson, 1969; Thompson and Schuster, 1964; Weeks, 1962). Ce modèle d'auto-administration est considéré comme un modèle prédictif du pouvoir addictif de nouvelles substances d'abus (Johanson and Balster, 1978).

Classiquement, les sessions d'auto-administrations utilisent un ratio fixe (FR). En FR, le nombre de comportements opérants (exemple : appui sur un levier) nécessaire pour obtenir la drogue est fixé par l'expérimentateur (FR1 = 1 appui pour 1 dose de drogue) (Johanson and Schuster, 1975). L'auto-administration en FR a permis de montrer que les animaux ont une fréquence d'injection relativement stable et régulière au cours du temps avec des sessions d'auto-administrations qui sont limitées à quelques heures maximums (Johanson and Schuster, 1975; Lynch and Carroll, 2001). Elle a aussi permis de montrer que le nombre d'injections réalisé par les animaux est dépendant de la concentration de la drogue (Gerber and Wise, 1989).

De nombreux chercheurs ont souligné le fait qu'une auto-administration simple ne permet pas de conclure à une manifestation des phénomènes d'addiction observés chez l'Homme (Ahmed and Koob, 1998; Deroche-Gamonet, 2004; Vanderschuren and Everitt, 2004). Par exemple, Ahmed et Koob soulignent le fait que la durée de l'accès à la drogue influence considérablement la consommation du rongeur (Ahmed and Koob, 1998). Avec un accès court (1 heure), la consommation de cocaïne est restée stable dans le temps, alors qu'avec un accès long (6 heures), la consommation de cocaïne a augmenté progressivement (Ahmed and Koob, 1998). Cette observation montre les limites de l'interprétation du développement de l'addiction uniquement expliqué par les effets de renforcement positif d'une drogue (Ahmed and Koob, 1998). De plus, Deroche-Gamonet souligne le fait qu'il est nécessaire de caractériser plusieurs comportements face à la drogue pour définir un comportement

d'addiction (Deroche-Gamonet, 2004). Enfin, Vanderschuren et Everitt soulignent le fait qu'une auto-administration en FR1 seule ne permet pas d'étudier la consommation compulsive de drogues face à des conséquences négatives (Vanderschuren and Everitt, 2004).

La procédure d'auto-administration a donc connu plusieurs déclinaisons. Dans cette partie, nous détaillerons certaines des procédures qui ont permis d'évaluer la prise et la recherche compulsive de drogue, l'augmentation de motivation pour rechercher la drogue ainsi que la rechute.

2. Étude de la recherche compulsive de drogue

Un critère de l'addiction décrit dans le DSM-5 et ses anciennes versions est une prise répétée de la substance d'abus malgré les conséquences négatives associées, soulignant le caractère compulsif du trouble (DSM-5).

Plusieurs chercheurs ont proposé de modéliser les aspects compulsifs de l'addiction en mesurant la résistance à la punition dans l'auto-administration de drogue. Dans ce type de procédure, la prise de drogue est associée à une punition (c'est-à-dire une conséquence aversive susceptible de supprimer le comportement opérant), souvent représentée par une décharge électrique au niveau de la voûte plantaire de l'animal (Deroche-Gamonet, 2004; Pelloux et al., 2007; Vanderschuren and Everitt, 2004). Avec ce type de procédure, il a pu être montré que des animaux avec un accès à la cocaïne plus prolongé (14 sessions de plus), étaient plus résistants à la punition que ceux ayant un accès modéré à la cocaïne (Pelloux et al., 2007). Vanderschuren et Everitt ont montré que la présentation d'un stimulus conditionné aversif (associé à une décharge électrique) pouvait supprimer la recherche de saccharose ainsi que la recherche de drogue chez des rats ayant une expérience limitée de l'auto-administration de cocaïne (Vanderschuren and Everitt, 2004). En revanche, ce stimulus n'avait plus cet effet après une longue période de consommation de cocaïne (Vanderschuren and Everitt, 2004). Enfin, Deroche-Gamonet a montré qu'avec un accès prolongé à la cocaïne, une minorité d'animaux persistait dans la prise de drogue malgré les effets négatifs et était plus sensible à la rechute (Deroche-Gamonet, 2004).

3. Étude de la motivation pour la drogue

Dans de nombreux laboratoires, la motivation à rechercher la drogue est mesurée en utilisant une procédure opérante à ratio progressif (PR). Il s'agit d'une procédure où le nombre de comportements opérants nécessaire pour obtenir la récompense augmente après chaque délivrance (Hodos 1961). L'effort réalisé par l'animal afin d'obtenir la récompense augmente jusqu'à ce qu'il devienne trop élevé et que l'animal arrête son comportement. L'effort maximal que l'animal aura fourni (appelé point de rupture ou « break point » en anglais) est considéré comme le reflet de sa motivation pour rechercher et consommer la récompense (Hodos 1961). Cette procédure a été utilisée sur les rongeurs comme un outil efficace pour étudier les propriétés de renforcement des stimulants psychomoteurs (French et al., 1995; McGregor and Roberts, 1993; Roberts and Bennett, 1993) et des opiacés (Roberts and Bennett, 1993; Shaham and Stewart, 1994). Cette procédure est considérée comme une procédure standard dans l'étude de la motivation anormale qui est provoquée par l'exposition à une substance d'abus (Richardson and Roberts, 1996; Solinas et al., 2003; Stafford et al., 1998).

4. Étude de la rechute

Pour modéliser la rechute dans des modèles animaux, les procédures de réinstallation du comportement de recherche de drogue (ou « reinstatement » en anglais) sont utilisées (de Wit and Stewart, 1981; Shaham et al., 2003; Shalev et al., 2002; Stewart, 2008)

Dans ce type de procédure, les animaux sont soumis à des sessions d'auto-administrations puis à une période d'abstinence (Shaham et al., 2003). À la fin de cette période, une ou plusieurs sessions dites « d'extinction » sont réalisées. Dans ces sessions, les animaux sont réintroduits dans les chambres opérantes sans accès à la drogue. L'appui sur levier n'étant plus associé à une injection de drogue, les animaux vont stopper leurs comportements d'appuis. Une fois le comportement de recherche éteint, la réinstallation du comportement de recherche de drogues peut être induite par une administration non contingente de la drogue (Gerber and Stretch, 1975; Stretch et al., 1971), par les indices contextuels (O'Brien et al., 1992) ainsi que par le stress (Bremner et al., 1996a; Shaham et al., 2003).

Le stress chez l'animal peut être induit physiquement par une répétition de décharges électriques au niveau de la voûte plantaire (Shaham et al., 2003) ou pharmacologiquement

par l'injection de la yohimbine ou d'un facteur de libération de la corticotrophine (CFR) (Bremner et al., 1996a, 1996b; Brown et al., 2012; Mantsch et al., 2016)

Ce type de procédure pour évaluer la rechute a permis à Grimm de montrer que le comportement de recherche de cocaïne, induit par les indices contextuels, augmentait avec le temps de sevrage (Grimm et al., 2001). Avec ces observations, ils ont émis l'hypothèse que le « craving », essentiel à la rechute, augmente avec le temps d'abstinence et ils nommèrent ce phénomène « l'incubation du craving » (Grimm et al., 2001).

5. Autres modèles d'addiction aux drogues

Au cours des dernières années, d'autres modèles d'addiction aux drogues ont été mis en place dans des procédures d'auto-administrations (Ahmed and Koob, 1998; Deroche-Gamonet, 2004). Dans cette partie, deux modèles seront détaillés : le modèle d'accès prolongé et le modèle des trois critères.

a. Modèle d'accès prolongé

Chez l'animal, il reste compliqué de distinguer une consommation pathologique compulsive et incontrôlée d'une consommation récréative et contrôlée. Un phénomène pouvant indiquer une prise incontrôlée, en plus de l'association de l'usage de la drogue avec une conséquence négative, est l'escalade de la consommation de la drogue. L'escalade de consommation de la drogue correspond à une progression de la consommation de l'individu avec le temps (Ahmed and Koob, 1998).

Il a été montré qu'une auto-administration restreinte d'une substance (1 heure par jour) génère des prises relativement stables (Ahmed and Koob, 1998). En revanche, lorsque les rats ont un accès prolongé à la drogue d'environs 6 heures par jour, leurs consommations de drogue augmentent progressivement au fil des semaines (Ahmed and Koob, 1998).

L'augmentation de la consommation de cocaïne a entraîné une augmentation de la dose de drogue administrée et un déplacement vers le haut de la courbe dose-effet de la cocaïne (Ahmed and Koob, 1998). Ce déplacement de la courbe suggère une augmentation du seuil récompensant de la drogue comme mécanisme potentiel d'augmentation de la consommation de drogue (Ahmed and Koob, 1998).

L'accès prolongé à la substance semble faciliter le développement de l'addiction et va impacter les comportements associés comme la motivation pour la drogue (Paterson and

Markou, 2003) ou la résistance à la punition (Vanderschuren and Everitt, 2004). En effet, avec un accès prolongé à la cocaïne, les animaux présentent un plus haut niveau de motivation, démontré par des points de ruptures plus élevés en PR (Paterson and Markou, 2003) et une résistance à la punition plus grande (Vanderschuren and Everitt, 2004) par rapport à des animaux ayant reçu un accès restreint à la cocaïne. L'utilisation de ce modèle à accès prolongé semble donc être un modèle intéressant dans l'étude des phénomènes d'addiction (Ahmed and Cador, 2006).

b. **Modèle des trois critères**

Deroche-Gamonet et ses collaborateurs ont, en 2004, mis en place un modèle qui est basé sur 3 critères mesurés à la suite de séances d'auto-administrations de drogue en accès prolongé (Deroche-Gamonet, 2004). Les 3 critères retenus et tirés du DSM-IV sont : 1) des difficultés à contrôler et limiter sa prise ; 2) une haute motivation pour la recherche et la consommation de drogue et 3) la persistance de consommation malgré la connaissance des conséquences néfastes. Si l'animal valide ces trois critères, alors il est considéré comme ayant développé une addiction. Au contraire, si l'animal ne présente que deux, un, ou aucun de ces critères, il est considéré comme présentant une addiction (Deroche-Gamonet, 2004).
Dans la procédure de Deroche-Gamonet, les animaux suivent environ 80 sessions (1 session journalière) d'auto-administration de cocaïne. Ensuite, le comportement de recherche de drogue a été estimé avec un protocole de ratio progressif, un protocole avec des périodes d'accès au levier, mais sans drogue, et avec un protocole où la drogue était associée à une décharge électrique au niveau de la voûte plantaire des animaux.
Les résultats ont montré que dans la population totale des animaux, 17 % des animaux présentaient une haute motivation pour la drogue, un maintien de la recherche quand la drogue n'était pas disponible, et une persistance de recherche malgré que la drogue soit associée à une décharge électrique (Deroche-Gamonet, 2004). Ce pourcentage observé est similaire au pourcentage d'Homme présentant une addcition à la cocaïne (Deroche-Gamonet, 2004).
Ce modèle des trois critères est l'un des premiers modèles suggérant qu'il existe, comme chez l'Homme, une minorité d'individus sensibles (ou vulnérables) à l'addiction aux drogues (Deroche-Gamonet, 2004).

Chapitre 2 : Le phénomène de l'addiction à la nourriture

I. Généralités sur l'addiction à la nourriture

A. Historique

Dans les années 60, Theron Randolph, médecin et chercheur, emploie le terme addiction à la nourriture dans un journal scientifique (Randolph, 1956). Dans cette revue, il expliquait l'existence chez certaines personnes d'une vulnérabilité à certains types d'aliments pouvant conduire à des symptômes ressemblant à ceux observés dans l'addiction (Randolph, 1956). Avec l'utilisation de l'imagerie fonctionnelle par résonnance magnétique (IRMf), des études commencent à paraître décrivant des mécanismes neurobiologiques qui suggèrent l'existence d'une addiction à la nourriture (Brooks et al., 2013; Gearhardt et al., 2012; Stice et al., 2010). Néanmoins, le phénomène de l'addiction à la nourriture reste controversé et un débat sur sa réelle existence continue d'être alimenté (Gordon et al, 2018). De nos jours, une des questions est de savoir si la nourriture peut être sujet à une dépendance alors qu'elle est nécessaire à notre survie (Ziauddeen et al., 2012). De manière générale, la communauté scientifique s'accorde à dire qu'il est nécessaire de réaliser plus d'études afin de confirmer la validité de l'addiction à la nourriture (Corwin and Hayes, 2014; Pursey et al., 2017). Dans le phénomène de l'addiction à la nourriture, un type d'aliments hypercaloriques et palatables, des aliments riches en sucre et en graisse, semble présenter des similarités aux drogues d'abus, car leurs consommations peuvent induire le même type de perturbations comportementales et neuronales (Gordon et al., 2018).

Dans ce chapitre, nous détaillerons le phénomène de l'addiction à la nourriture de manière générale, en expliquant comment son diagnostic est réalisé ainsi que la prévalence observée. Par la suite, nous détaillerons des similarités et des divergences observées entre une exposition aux drogues et une exposition à de la nourriture hyperpalatable.

B. Outils diagnostics de l'addiction à la nourriture

N'étant pas reconnue par l'APA, et ne faisant pas partie du DSM-5, l'addiction à la nourriture est diagnostiquée par un autre questionnaire : la Yale Food Addiction Scale (YFAS) (Gearhardt et al., 2009). La première version de ce questionnaire, la YFAS 1.0, est parue en

2009 (Gearhardt et al., 2009). Ce questionnaire était basé sur les critères de ceux retrouvés dans l'addiction aux substances de la quatrième version du DSM (Gearhardt et al., 2009). Un second questionnaire, l'YFAS 2.0, a été développé en 2016 (Gearhardt et al., 2016). Comme pour le DSM, l'YFAS évalue la présence de critères pendant les 12 derniers mois. L'YFAS 2.0 rassemble 35 questions qui englobent 12 symptômes de l'addiction à la nourriture comme la perte de contrôle, la notion de tolérance, le « craving », etc. (Tableau 2). Chaque item est évalué par l'individu sur une échelle de 0 (jamais) à 7 (tous les jours) et la présence du symptôme est confirmée selon des seuils établis par Gearhardt et ses collègues (Gearhardt et al., 2016). Selon le même principe que le DSM, l'YFAS confirme la présence d'une addiction à la nourriture lorsqu'un certain nombre de critères est validé. L'YFAS 2.0 indique la présence d'une addiction à la nourriture lorsque l'individu confirme la présence d'au moins 2 symptômes au cours des 12 derniers mois avec la présence d'une détresse émotionnelle (Gearhardt et al., 2016). De la même manière que le DSM-5, l'addiction est considérée comme faible s'il y a 2 ou 3 symptômes présents, modérée s'il y a 4 ou 5 symptômes et sévère s'il en confirme 6 symptômes ou plus (Gearhardt et al., 2016). Enfin, il existe une version plus courte de ce questionnaire (YFAS-modifié), ainsi qu'une version adaptée pour les enfants (YFAS-C) (Gearhardt et al., 2013).

Tableau 2 : Tableau représentatif des symptômes de l'addiction à la nourriture et exemples de questions de l'YFAS 2.0 associées au symptôme étudié.

Perte de contrôle	Quand j'ai commencé à manger certains aliments, j'en mange beaucoup plus que prévu.
Découpage infructueux	Je m'inquiète beaucoup de devoir réduire certains types d'aliments, mais je les mange quand même.
Temps passé	Je passe beaucoup de temps à me sentir léthargique ou fatigué parce que je mange trop.
Activités abandonnées	J'évite le travail, l'école ou les activités sociales parce que j'ai peur de trop y manger.
Conséquences aversives	Je continue à manger de la même façon, même si mon alimentation me cause des problèmes émotionnels.
Tolérance	Manger la même quantité de nourriture ne me procure plus autant de plaisir qu'avant.
Sevrage	Lorsque je réduis ou arrête de manger certains aliments, je me sens irritable, nerveux ou triste.
Problèmes interpersonnels	J'ai des problèmes avec ma famille ou mes amis parce que je mange trop.
Altération du fonctionnement quotidien	Mes excès alimentaires m'empêchent de m'occuper de ma famille ou de faire des travaux ménagers.
Situations dangereuses	Je suis tellement distrait par le repas que je pourrais me blesser (par exemple, en conduisant une voiture, en traversant la rue, en utilisant une machine).
« Craving »	J'ai des envies si fortes de manger certains aliments que je ne peux penser à rien d'autre.
Problèmes cliniques	Mon comportement alimentaire me cause beaucoup de détresse.

C. Prévalence de l'addiction à la nourriture selon l'YFAS

À ce jour, l'addiction à la nourriture n'est pas reconnue comme une maladie. De ce fait, il n'existe pas de données épidémiologiques claires sur sa prévalence comme pour l'addiction aux drogues. Malgré ça, la prévalence peut être estimée à partir de l'YFAS. Dans une méta-analyse de 2022, regroupant 272 études utilisant l'YFAS et ses différentes versions, la prévalence de l'addiction à la nourriture a été estimée à 20 % (Praxedes et al., 2022). En comparant ce pourcentage avec la prévalence des addictions aux drogues, elle est légèrement supérieure à celle de la consommation de tabac (19,2 %) et d'alcool (18,2 %) (WHO report 2019). Cette similarité semble indiquer que l'addiction à la nourriture touche une proportion de personnes similaires à l'addiction aux substances d'abus.

Quant à la prévalence chez les enfants et adolescents, elle varie entre 13 et 18 % (Praxedes et al., 2022). On constate aussi une augmentation de la prévalence en fonction de l'âge (Praxedes et al., 2022). Le développement de la pathologie pourrait être favorisé par la prolongation de l'exposition à de la nourriture hyperpalatable, ou ultra-transformée, sur de longues durées (Praxedes et al., 2022). Cette exposition à un régime hyperpalatable entraînerait au fur et à mesure du temps, comme pour l'utilisation de drogues d'abus, des adaptations neurocomportementales et favoriserait le développement de la pathologie (Ulrich-Lai et al., 2015). Cette idée expliquerait l'augmentation de l'addiction à la nourriture avec l'âge.

II. Similarités ou divergences comportementales entre l'addiction aux drogues et l'addiction à la nourriture

Dans cette partie, nous détaillerons des similitudes comportementales et des divergences observées entre l'addiction aux drogues et l'addiction à la nourriture dans des modèles animaux. Nous y détaillerons plus particulièrement les comportements observés qui sont proches de notre étude, à savoir dans la motivation de recherche d'aliments palatables, la résistance à la punition ainsi que l'impact durable de ce type de régime.

A. Perturbation de la sensation hédonique induite par la récompense

La perturbation de la sensation récompensante induite par un accès prolongé aux drogues est un axe de recherche pouvant expliquer certains comportements observés dans

l'addiction comme la transition d'une recherche occasionnelle à une recherche compulsive ou une augmentation de la quantité de substance consommée avec le temps (Ahmed et al., 2002; Kenny, 2007).

Une étude réalisée par Johnson et Kenny a reporté qu'un accès d'environ 6 semaines à un régime hyperpalatable a augmenté le seuil d'autostimulation des rats en procédure d'autostimulation intracrânienne (Johnson and Kenny, 2010). Cette procédure permet d'évaluer le niveau du seuil de récompense, et cette augmentation de seuil indique que la sensibilité aux effets gratifiants d'une récompense a diminué (Johnson and Kenny, 2010). Ces chercheurs indiquent que la diminution de la sensation plaisante induite par la récompense peut provoquer une augmentation de la motivation de consommer des aliments hyperpalatable hautement gratifiants (Johnson and Kenny, 2010). La perturbation de la sensation de récompense a aussi été observée chez des rats qui ont reçu un accès prolongé à de la cocaïne ou à de l'héroïne en auto-administration (Ahmed et al., 2002; Kenny et al., 2006). De plus, les perturbations de la récompense induites par les drogues sont supposées conduire le sujet d'une recherche occasionnelle à une recherche compulsive afin de s'adapter à cette récompense diminuée (Ahmed et al., 2002; Kenny, 2007). De ce fait, les données indiquent que l'exposition prolongée à un régime hyperpalatable peut partager des mécanismes hédoniques communs avec l'exposition prolongée des drogues et conduire à une recherche compulsive de nourriture.

B. Impact sur la motivation de recherche

La motivation anormale afin d'obtenir la substance d'intérêt est une composante clé dans les modèles animaux mimant l'addiction aux drogues (Richardson and Roberts, 1996; Roberts and Bennett, 1993; Stafford et al., 1998). L'exposition à une substance d'abus provoque une augmentation de la motivation pour la substance (Richardson and Roberts, 1996; Roberts and Bennett, 1993; Stafford et al., 1998). Avec la nourriture, il a été observé une motivation exacerbée à obtenir des granules de sucre dans une procédure de PR chez des rats ayant subi une exposition à des régimes d'aliments hyperpalatable (Figlewicz et al., 2013; Garman et al., 2021; la Fleur et al., 2007; Wojnicki et al., 2006). En revanche, d'autres études ont reporté qu'une exposition à ce type de régime provoquait une diminution de la motivation des animaux pour la récompense alimentaire ou, au contraire, n'a montré aucun

effet (Blaisdell et al., 2014; Davis et al., 2008; Finger et al., 2012; Rossetti et al., 2014; Tracy et al., 2015).

Lorsque l'on s'intéresse au sexe des animaux utilisés dans ces études, celles utilisant des rats mâles ont reporté une augmentation de motivation pour les récompenses alimentaires (Figlewicz et al., 2013; Garman et al., 2021; la Fleur et al., 2007; Wojnicki et al., 2006) ou une diminution de motivation (Davis et al., 2008; Finger et al., 2012; Tracy et al., 2015). Quant aux études utilisant des femelles, elles ont reporté une diminution ou une absence d'effet sur la motivation (Davis et al., 2008; Finger et al., 2012; Tracy et al., 2015).

De la même façon, lorsque l'on s'intéresse à l'âge d'exposition, les études utilisant des rats exposés à l'âge adulte reportent une augmentation de motivation (Garman et al., 2021; Wojnicki et al., 2006) ou une diminution (Finger et al., 2012; Tracy et al., 2015). Les animaux exposés à l'adolescence présentaient soit une augmentation de motivation (Figlewicz et al., 2013) soit une motivation similaire aux rats contrôles (Rossetti et al., 2014). D'autres études ont reporté que des rats ayant accès 2 heures par jour pendant 28 jours à un régime riche en saccharose pendant l'adolescence, mais pas à l'âge adulte, étaient moins motivés à appuyer sur un levier pour obtenir des récompenses alimentaires palatables à l'âge adulte (Reichelt et al., 2016). Les mêmes résultats ont été trouvés chez des rats adolescents après une exposition à du saccharose pendant 2 semaines (Vendruscolo et al., 2010) ou après une exposition intermittente à du saccharose de 4 semaines (Wong et al., 2017).

Au vu des résultats obtenus dans la littérature, il est difficile d'indiquer si un régime hyperpalatable peut avoir un impact sur les processus motivationnels ou de tirer des conclusions sur l'impact du sexe ou de l'âge d'exposition.

C. Difficulté à limiter la prise

La difficulté à limiter sa prise de drogue est un aspect de l'addiction pouvant être étudié avec des sessions d'auto-administration dans lesquelles on mesure la persistance de recherche pendant des périodes, signalées à l'animal, où la récompense n'est pas disponible (Deroche-Gamonet, 2004). Dans ce type de procédure, il a été observé qu'un accès prolongé à la cocaïne induit, chez le rat, une persistance de la recherche pendant les périodes sans drogue. Ce comportement était considéré comme une caractéristique de la recherche compulsive de drogue pouvant être observée dans l'addiction (Deroche-Gamonet, 2004).

Dans une étude s'intéressant à l'impact de la nourriture hyperpalatable, il a été observé qu'un accès intermittent à des aliments hyperpalatables induit une persistance de la recherche pendant des périodes où la récompense n'est pas disponible (Ghitza et al., 2006). Les auteurs interprètent cette persistance comme une forme de recherche compulsive de nourriture (Ghitza et al., 2006).

Ces observations indiquent que l'exposition intermittente à de la nourriture hyperpalatable peut provoquer une forme de recherche compulsive de nourriture similaire à celle observée lors d'une exposition à une drogue.

D. Persistance de la consommation malgré des conséquences négatives

Certains aspects du comportement compulsif observés dans l'addiction peuvent être mesurés dans des procédures qui associent la prise de drogue à une punition, en général représentée par une décharge électrique (Pelloux et al., 2007; Vanderschuren and Everitt, 2004). Ce type de procédure a permis de montrer qu'un accès prolongé à la cocaïne rendait plus résistants les animaux à la punition (Pelloux et al., 2007) ou qu'ils persistaient dans leurs recherches de drogue malgré la présentation d'un stimulus conditionné aversif (Vanderschuren and Everitt, 2004).

Dans les études s'intéressant à l'impact d'une exposition à un régime riche en graisse et en sucre, les résultats sont variés (Johnson and Kenny, 2010; Jong et al., 2013; Oswald et al., 2011; Rossetti et al., 2014). Pendant un accès prolongé à un régime hyperpalatable chez le rat, Johnson et Kenny ont observé que les rongeurs développaient une résistance à un conditionnement aversif similaire (Johnson and Kenny, 2010). Dans une autre procédure, où l'animal avait le choix entre de la nourriture classique et de la nourriture hyperpalatable associée à une décharge électrique, Oswald a observé une corrélation positive entre la quantité d'aliments hyperpalatables consommés et le niveau de punition qu'ils étaient prêts à recevoir (Oswald et al., 2011). De plus, Rossetti a observé qu'une exposition chronique à un régime hyperpalatable rendait les animaux persistant à la recherche de nourriture lorsque l'appui sur le levier, afin de recevoir la récompense, était associé à une décharge électrique (Rossetti et al., 2014). En revanche, De Jong a observé que l'accès à ce même type de régime n'induisait pas de changement sur le contrôle de la prise alimentaire (Jong et al., 2013).

Une fois encore, lorsque l'on s'intéresse au sexe des animaux ainsi qu'à leurs âges, on remarque que Oswald et Rossetti (Oswald et al., 2011; Rossetti et al., 2014) ont utilisé des rats femelles adolescentes et De Jong des rats mâles adultes (Jong et al., 2013).

En prenant en compte l'ensemble des résultats, il est difficile de conclure à un impact d'un régime hyperpalatable sur la résistance à la punition des animaux. En revanche, il est possible que le sexe ou l'âge d'exposition soit un facteur important dans le développement d'une consommation compulsive. En effet, il semblerait que les femelles ou les adolescents soient plus vulnérables au développement d'une résistance à la punition par un régime hyperpalatable. Il semble donc nécessaire de réaliser plus d'études comparatives à ce sujet.

E. Sevrage par des aliments palatables et persistance des perturbations observées

La seconde période du cycle de l'addiction fait référence à l'abstinence et à l'émergence de symptômes de sevrage. Dans ces symptômes de sevrage, il a été observé chez l'animal des signes physiques comme des tremblements du corps, de la tête, des claquements de dents et des signes comportementaux comme l'apparition et l'expression d'une anxiété (File et al., 1993; Koob, 1999). Dans les études, le sevrage aux opiacés peut être provoqué, chez l'Homme et l'animal, par l'injection d'un antagoniste des récepteurs opioïdes (naloxone) (Jones, 1979; Schnur, 1991).

Dans l'étude du sevrage dans l'addiction à la nourriture, Avena a observé qu'une privation du sucre chez des animaux ayant reçu un accès intermittent à une solution sucrée provoquait des signes physiques de sevrage comme des tremblements, des claquements de dents, etc., à la suite d'une injection de naloxone (Avena et al., 2009). Le Magnen a aussi indiqué que le sevrage pouvait être induit par une injection de naloxone chez des rats qui ont été exposés à un régime hyperpalable (Le Magnen, 1990). D'autres études ont aussi reporté qu'un arrêt d'un régime hyperpalatable peut provoquer, chez la souris, des signes d'anxiété et une augmentation des taux systémiques de cortisone (Sharma et al., 2013; Teegarden and Bale, 2007). Ces observations indiquent qu'une exposition à de la nourriture hyperpalatable peut, à son arrêt, provoquer des symptômes de sevrage similaires à ceux observés dans le sevrage de l'addiction aux drogues.

En ce qui concerne la persistance des perturbations induites par un régime hyperpalatable, la littérature actuelle ne permet pas de conclure sur l'existence d'un effet durable. Dans certain cas, il a été montré que des perturbations de la motivation des animaux persistaient 1 mois après l'arrêt d'un régime hyperpalatable (Arcego et al., 2020), ou des dysfonctionnements synaptiques dans l'hippocampe plusieurs mois après l'arrêt (Wang et al., 2015). Dans d'autres études, il a été observé un retour à la normale des comportements alimentaires des rats ou des altérations neurobiologiques 1 mois après l'arrêt du régime (Boitard et al., 2016; Carlin et al., 2016; Rabasa et al., 2016). De ce fait, la question de la persistance d'un effet par la nourriture hyperpalatable n'a pas encore été résolue.

Pour terminer ce chapitre, même si certaines preuves dans la littérature mettent en avant des similarités entre l'addiction aux drogues et à la nourriture, d'autres études indiquent qu'une exposition à un régime hyperpalatable ne perturbe pas des comportements clés de l'addiction. En effet, certaines manifestations comportementales observées après une exposition à une drogue, comme une motivation anormalement élevée ou une résistance à la punition plus élevée pour la récompense, ne sont pas toujours observées avec une exposition à un régime hyperpalatable. De ce fait il est nécessaire de réaliser plus d'études s'intéressant aux impacts comportementaux observés après un accès à un régime hyperpalatable, en particulier sur les phénomènes motivationnels compulsifs des animaux et la persistance d'effet.

Chapitre 3 : Neurobiologie de l'addiction

Bien que les cibles moléculaires des diverses classes de drogues d'abus soient différentes, elles augmentent toutes les transmissions monoaminergiques (Di Chiara and Imperato, 1988; Robinson and Berridge, 2003). Ainsi, la cocaïne se fixe sur les transporteurs membranaires présynaptiques et inhibe la recapture de la dopamine (DA), de la sérotonine (5-HT) et de la noradrénaline (NA), ce qui a pour conséquence d'augmenter les concentrations de ces neurotransmetteurs dans les fentes synaptiques et les neurotransmissions associées (Figure 4) (Broderick et al., 2003; Pettit and Justice, 1989; Rothman et al., 2001).

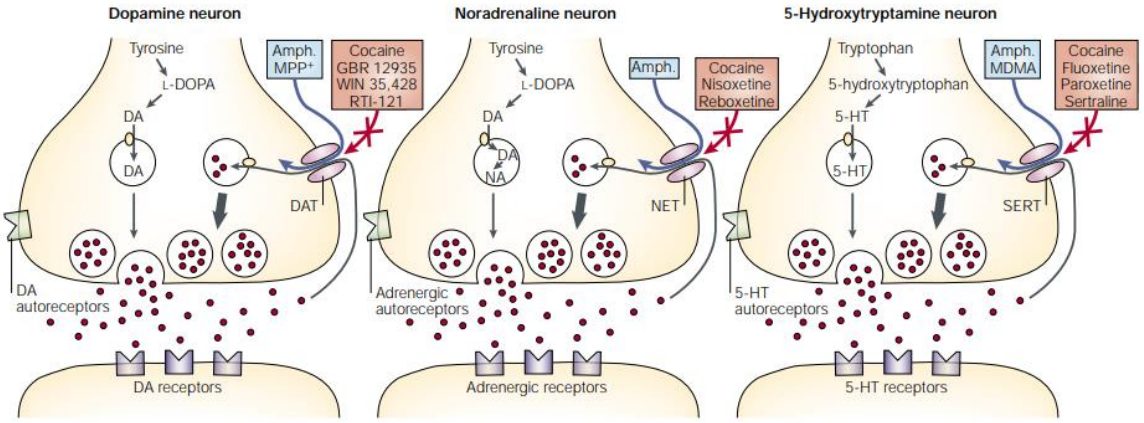


Figure 4 : Schématisation du mécanisme d'action de différentes drogues, dont la cocaïne, sur les neurones dopaminergiques, noradrénergiques et sérotoninergiques (Gonzal et al., 2003).

DA : dopamine ; DAT : transporteur de la dopamine ; NA : noradrénaline ; NET : transporteur de la noradrénaline ; 5-HT : 5-hydroxytryptamine ; SERT : transporteur de la 5-hydroxytryptamine ; MPP 1-méthyl-4-phénylpyridinium ; Amph : amphétamine ; MDMA : 3 ,4-méthylenedioxyméthanphétamine

Dans ce chapitre, nous nous intéresserons plus particulièrement aux rôles des voies DAergiques dans l'addiction, car il s'agit du neurotransmetteur principalement impliqué dans les effets renforçants et psychomoteurs déclenchés par les drogues (Hall et al., 2004).

I. Les voies dopaminergiques

Dans le cerveau, les 2 sources de DA principales sont la substance noire *pars compacta* (SNc) et l'aire tegmentale ventrale (ATV) (van Domburg and ten Donkelaar, 1991). Ces 2 régions sont à l'origine de voies DAergiques distinctes : 1) le système mésocorticolimbique qui provient de l'ATV et projette vers plusieurs structures limbiques et corticales et 2), la voie

nigrostriale qui provient de la SNc et projette vers le striatum dorsal (StD) (van Domburg and ten Donkelaar, 1991) (Figure 5).

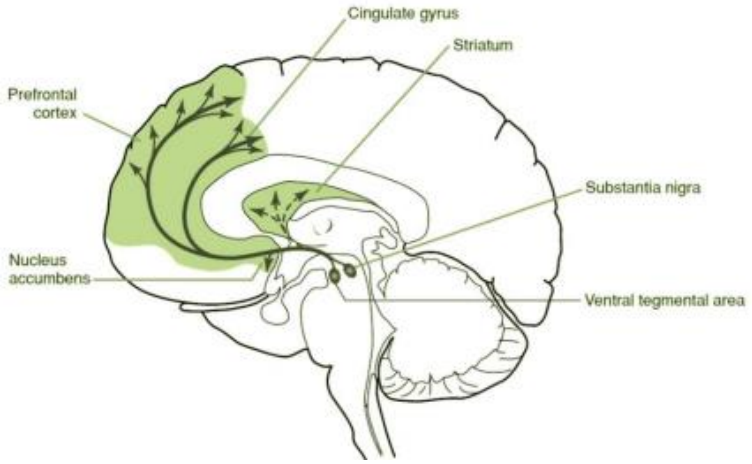


Figure 5 : Projections dopaminergiques dans le cerveau humain.

Les neurones dopaminergiques proviennent de l'aire tegmentale ventrale et de la substance noire (Hyman et al., 2006).

A. Les différents rôles de la dopamine

1. Rôle de la dopamine dans l'hédonie et dans l'attribution de la saillance incitative

Le fait que la DA soit impliquée dans les effets plaisants des récompenses a été proposé par Wise dans son hypothèse de « l'hédonie dopaminergique » (Wise et al., 1978). Il a mis en évidence qu'une inhibition pharmacologique des récepteurs DAergiques par la pimozide provoquait chez des rongeurs la perte de la capacité à ressentir les effets gratifiants d'une récompense (Wise, 1978).

La DA jouerait aussi un rôle dans l'attribution d'une saillance incitative (Berridge and Robinson, 2016). Robinson et Berridge décrivent la récompense comme une association de trois composantes distinctes : 1) une composante motivationnelle : le « wanting » qui s'apparente au désir, 2) une composante d'apprentissage : le « learning », et 3) une composante hédonique : le « liking » qui correspond au plaisir (Berridge and Robinson, 2016). Robinson et Berrigde expliquent que la DA est impliquée dans le « wanting », qui correspond à la composante motivationnelle, plutôt que dans le « liking », qui impliquerait plutôt les systèmes endocannabinoïdes et opioïdes (Berridge and Robinson, 2016). Pour eux, La DA attribuerait plutôt une notion de désir à la récompense et aux stimuli qui lui sont associés (Berridge and Robinson, 2016).

2. Rôle de la dopamine dans l'apprentissage par récompense

La libération de DA joue un rôle dans le renforcement de l'association stimulus-réponse et elle agirait comme un signal prédictif qui guiderait l'apprentissage de l'individu (Di Chiara, 2002; Schultz, 2007; Schultz et al., 1997). Par exemple, Schultz a montré chez le singe, par des enregistrements électrophysiologiques, que l'activité des neurones DAergiques était augmentée au début d'une procédure d'apprentissage stimulus-réponse (Schultz et al., 1997). Au fur et à mesure de l'entraînement, il a observé un décalage temporel de l'activité des neurones DAergiques vers le stimulus qui prédisait l'arrivée de la récompense (Schultz et al., 1997). Cette observation indiquerait que le stimulus, précédemment associé à l'obtention de la récompense, a la capacité d'augmenter l'activité des neurones DAergiques et d'induire une libération de DA (Schultz et al., 1997). Enfin, lorsque la récompense n'est pas délivrée après l'apparition de l'indice visuel (lumière), les neurones DAergiques sont activés pendant l'indice, puis inhibés au moment où la récompense aurait dû arriver (Schultz et al., 1997). Cette diminution montre que le moment attendu de la récompense, en fonction de l'apparition de l'indice visuel, est également modulé par l'activité DAergique (Schultz et al., 1997). Enfin, Schultz a indiqué que l'activité des neurones DAergiques de l'ATV et de la SN influence la prédiction de la récompense et permet à l'animal d'optimiser ses choix, guidant ainsi son apprentissage (Schultz et al., 1997).

3. Rôle de la dopamine dans la formation d'habitude

La DA provenant de la voie nigrostriée est impliquée dans le contrôle des mouvements, dans l'apprentissage moteur (Hikosaka et al., 2002), et aussi dans la formation d'habitudes (Faure et al., 2005). Il a été observé que des injections de 6-OHDA dans le striatum de rats, qui entraînent une dégénérescence des afférences DAergiques, empêchent le développement d'un comportement habituel (Faure et al., 2005). La DA semble donc nécessaire à la mise en place des comportements habituels.

Dans un contexte d'addiction aux drogues, il a été suggéré par Everitt et Robbins que des patients addicts développent un apprentissage habituel de consommation et de recherche de drogue (Everitt and Robbins, 2005). Everitt et Robbins font alors une distinction entre : 1) une recherche de drogue qui est volontaire et motivée par les effets gratifiants de la drogue et 2), une prise et une recherche compulsive qui sont guidées par un procédé stimulus-

réponse (Everitt and Robbins, 2005). Ils indiquent que la transition des actions volontaires vers des actions habituelles dans la recherche de drogues correspond à une transition d'un contrôle du cortex préfrontal et des sous-régions striatales ventrales aux contrôles striatales plus dorsal (Everitt and Robbins, 2005). Les connexions entre les neurones DAergiques et le striatum constitueraient des boucles organisées en une cascade allant du striatum ventral au dorsal (Everitt and Robbins, 2005). Ces boucles DAergiques participent aux effets renforçants des drogues et au conditionnement pavlovien dépendant du noyau accumbens, puis engagent des actions stimulus-réponses habituelles qui dépendent du StD (Everitt and Robbins, 2005).

Dans les prochaines parties, nous détaillerons les principales structures de la voie nigrostriée et du système mésocorticolimbique. Nous y expliquerons l'organisation cellulaire de ses structures, les fonctions dans lesquelles elles sont impliquées ainsi que leurs implications dans l'addiction.

B. Les principaux circuits dopaminergiques

1. La voie nigrostriée

a. Description de la voie nigrostriatale

La voie nigrostriée est une voie composée de neurones DAergiques qui projettent vers le striatum et particulièrement vers le StD (Peak et al., 2019). Le système dopaminergique nigrostrié est particulièrement étudié dans le cadre de troubles de la motricité. Cette voie joue également un rôle dans la réactivité aux drogues et dans l'addiction.

b. Structures cibles de la voie nigrostriée : le striatum dorsal (StD)

i. Organisation cellulaire du StD

Chez le rat, le StD peut être divisé en striatum dorsomédial (StDm) et en striatum dorsolatéral (StDl). Le StD reçoit, dans son ensemble, des projections DAergiques de la SNc (Peak et al., 2019). Le StDm reçoit en majorité de projections liées au processus d'intéroception du CPFm, alors que le StDl reçoit des afférences du cortex moteur qui est impliqué dans les processus sensorimoteurs (Peak et al., 2019).

Composition neuronale du striatum

Le striatum, ventral et dorsal, est à 95% composé de neurones de projection épineux de taille moyenne GABAergiques appelés « MSN » pour « Medium Spiny Neuron » (Kreitzer and Malenka, 2008; Tepper et al., 2007). Les neurones MSNs peuvent être divisés en 2 populations, les neurones MSNs de la voie directe et les neurones MSNs de la voie indirecte (Matamales et al., 2009). Ces deux populations peuvent être identifiées en fonction des types de récepteurs DAergiques qu'ils expriment ainsi que des peptides qu'ils synthétisent (Matamales et al., 2009). Ainsi, les neurones MSNs de la voie directe expriment des récepteurs DAergiques de type D1, des récepteurs cholinergiques de type M4, et produisent la dynorphine et la substance P (Matamales et al., 2009). Les neurones MSNs de la voie indirecte expriment des récepteurs DAergiques de type D2, des récepteurs à l'adénosine de type A2A et synthétisent l'enképhaline (Matamales et al., 2009).

Les 5 % de populations neuronales restantes sont des interneurones. Ces interneurones sont soit des interneurones cholinergiques appelés « ChAT », soit des interneurones qui synthétisent la parvalbumine (Burke et al., 2017; Kreitzer and Malenka, 2008).

Les MSNs de la voie directe du StD projettent vers le globus pallidus interne (GPi) ainsi que la substance noire réticulée (SNr) (Gerfen and Surmeier, 2011; Yager et al., 2015; Yin et al., 2008; Yin and Knowlton, 2006). Les MSNs de la voie indirecte projettent vers le globus pallidus externe (GPe) et le noyau sous-thalamique (Gerfen and Surmeier, 2011; Yager et al., 2015; Yin et al., 2008; Yin and Knowlton, 2006) (Figure 6).

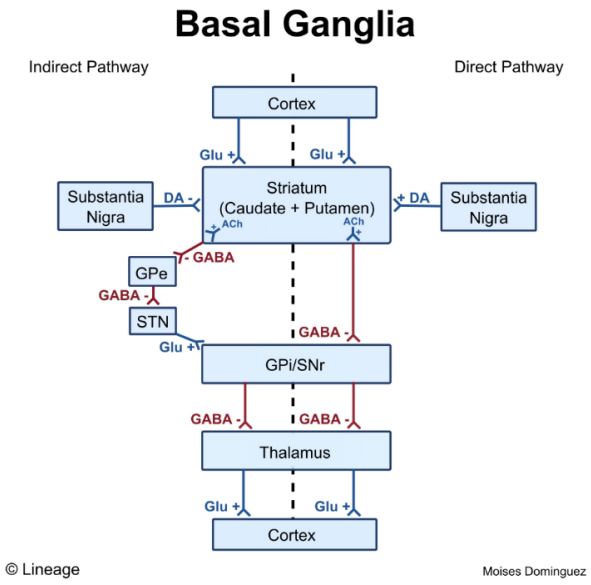


Figure 6 : Schématisation de la voie directe et indirecte du striatum (Moises Dominguez ; medbullets.com).

Dans le StD, ces deux populations neuronales sont considérées comme ayant des fonctions opposées (Calabresi et al., 2014; Yager et al., 2015). Une stimulation de la voie directe active le thalamus et permet l'initiation d'une action tandis qu'une activation de la voie indirecte inhibe le thalamus et le comportement en agissant sur le cortex (Calabresi et al., 2014; Yager et al., 2015).

ii. Rôles du StD dans les actions dirigées et habituelles

Même si le StD est impliqué dans la motricité et le contrôle moteur (Cataldi et al., 2022), dans cette partie, nous détaillerons ses autres fonctions en lien avec l'addiction à savoir les actions dirigées vers un but et les actions habituelles.

Dans ces processus d'actions dirigées vers un but et habituelles, les sous-régions du StD jouent des rôles distincts. Le StDm participe aux actions dirigées vers un but (Yin et al., 2005; Yin and Knowlton, 2006, 2004). Yin et Knowlton ont par exemple montré que des lésions au niveau du StDm entraînaient chez le rat l'apparition de comportements habituels précoces par rapport à des animaux non lésés (Yin et al., 2005; Yin and Knowlton, 2006, 2004). De plus, en mesurant l'activité neuronale pendant l'acquisition d'un comportement sur rotarod (Yin et al., 2009) ou en chambre opérante munie de leviers (Gremel and Costa, 2013), il a été observé une activité élevée du StDm pendant les phases d'acquisitions initiales (Gremel and Costa, 2013; Yin et al., 2009). Une activité du StDm était ensuite enregistrée quand les animaux étaient surentraînés indiquant que cette région n'intervenait pas dans les actions habituelles (Gremel and Costa, 2013; Yin et al., 2009).

Le StDl participe aux comportements habituels (Yin et al., 2004; Yin and Knowlton, 2006, 2004). De la même manière, Yin et Knowlton ont indiqué que des lésions du StDl permettent de maintenir un comportement dirigé vers un but, même après un entraînement prolongé, et empêche l'animal de développer des comportements habituels (Yin et al., 2004; Yin and Knowlton, 2006, 2004). Dans la même étude mesurant l'activité neuronale pendant l'acquisition d'un comportement instrumental (Gremel and Costa, 2013; Yin et al., 2009), il a été montré une activité faible du StDl pendant les phases initiales d'acquisition et une augmentation de son activité lorsque les animaux deviennent surentraînés (Gremel and Costa, 2013; Yin et al., 2009).

Dans les processus d'actions à but dirigées et habituelles, l'activité de ces 2 sous-régions est complémentaire et rentre en compétition, ou en coopération, pour contrôler l'action (Bergstrom et al., 2018; Bradfield and Balleine, 2013; Yin and Knowlton, 2006). Par exemple, une inactivation du StDl après la mise en place d'un comportement habituel peut restaurer une réponse dirigée vers un but (Yin and Knowlton, 2006) ou accélérer l'apprentissage au début de l'entraînement (Bergstrom et al., 2018; Bradfield and Balleine, 2013). Le StDm et le StDl sont donc complémentaires dans la mise en place et le développement d'actions dirigées vers un but ou des actions habituelles.

iii. Implication du StD dans l'addiction aux drogues

Le StD est une structure qui est moins étudiée que le NAc dans les phénomènes d'addiction (Francis et al., 2019; Lüscher and Malenka, 2011; Volkow and Morales, 2015; Wolf, 2016). Néanmoins, les recherches sur le StD ont montré que cette structure était impliquée dans les comportements de recherche de drogue. Par exemple, une inactivation pharmacologique du StD, en particulier le StDl, par des agonistes des récepteurs GABA, réduit la persistance de recherche de cocaïne des rats lorsque la recherche est associée à une punition (Jonkman et al., 2012). De plus, une diminution de la recherche de drogue chez le rat a été reportée à la suite d'une inactivation réversible du StDl par injection de lidocaïne (Zapata et al., 2010). Le StDl est donc une structure dont l'activité participe à la recherche de drogue.

Plusieurs études indiquent que la consommation de drogue favorise la transition d'une action dirigée vers un but à un comportement habituel (Corbit et al., 2014; Everitt and Robbins, 2013; Nordquist et al., 2007). En effet, la recherche de drogue va être initiée par des réponses à but dirigé action/résultats, puis elle va dériver vers un comportement habituel stimulus/réponses (Corbit et al., 2014; Nordquist et al., 2007). Par exemple, il a été observé qu'une exposition initiale à de l'amphétamine ou à de la cocaïne a pour effet de favoriser l'apprentissage stimulus/réponse (Nordquist et al., 2007), et de perturber l'acquisition d'un comportement dirigé vers un but (Corbit et al., 2014).

La DA est un acteur qui joue un rôle majeur dans le StD et les processus de recherche de drogue (Everitt and Robbins, 2013; Ito et al., 2002; Vanderschuren et al., 2005). Pendant des sessions d'auto-administrations de cocaïne chez le rat, il a été reporté une libération de DA dans le StD pendant la prise de drogues (Ito et al., 2002). D'autres études de microdialyse

ont révélé que, dans le StD, une augmentation de la concentration extracellulaire de DA a été observée lorsque le stimulus associé à la cocaïne était présenté pendant des sessions d'auto-administrations (Ito et al., 2002; Vanderschuren et al., 2005). Le StD est donc impliqué dans l'association du stimulus avec la prise et avec la recherche de drogue.
La transition d'une action dirigée vers un but à un comportement de recherche de drogue habituel implique la transition d'activité de la DA du StDm au StDl (Everitt and Robbins, 2013; Murray et al., 2012; Nelson and Killcross, 2013). En effet, il a été observé, chez des rats entraînés à appuyer sur un levier pour s'administrer de la cocaïne, qu'une injection d'antagoniste de récepteurs DAergique dans le StDm a pour effet de réduire le nombre d'appuis sur le levier au début de l'entraînement (Murray et al., 2012; Vanderschuren et al., 2005). La même observation a été faite lorsque l'injection a été réalisée dans le StDl durant la période de surentraînement (Murray et al., 2012; Vanderschuren et al., 2005).

Pour conclure, le StD est impliqué dans la prise et dans la recherche de drogue induite par les indices associés à la prise. Même si cette structure reste à ce jour peu étudiée, elle possède un rôle important dans l'addiction (Everitt et al., 2008; Everitt and Robbins, 2013). Le StD semble donc être une cible particulièrement intéressante à la fin du processus de développement de l'addiction, et plus particulièrement le StDl lorsque la prise et la recherche deviennent automatiques et inadaptées.

2. Le système mésocorticolimbique

Le système mésocorticolimbique est un circuit divisé en deux voies principales : la voie mésolimbique et la voie mésocorticale. La voie mésolimbique correspond aux neurones DAergiques issus de l'ATV qui projettent vers le NAc, l'hippocampe et l'amygdale (AMG) (Russo and Nestler, 2013). La voie mésocorticale est aussi constituée des neurones DAergiques de l'ATV, qui projettent vers le CPFm, le cortex cingulaire antérieur (CCA) ainsi que le cortex orbitofrontal (COF) (Russo and Nestler, 2013) (Figure 7). Le système mésocorticolimbique, et plus particulièrement la voie DAergique mésolimbique, participe aux processus de la récompense et aux processus motivationnels.

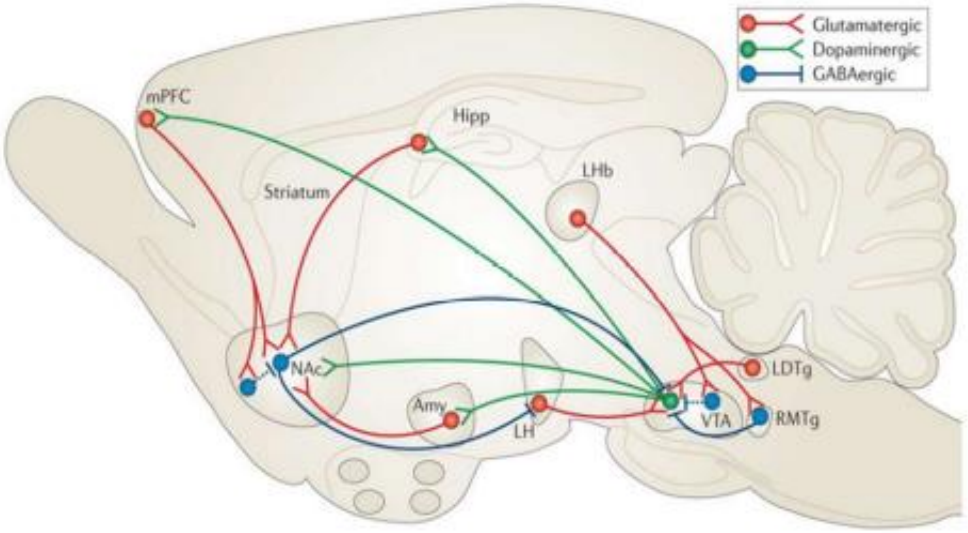


Figure 7 : Schématisation du système mésocorticolimbique ainsi que ses différentes projections.

Les projections dopaminergiques sont représentées en vert. Les projections glutamatergiques sont représentées en rouge. Les projections GABAergiques sont représentées en bleu. VTA : aire tegmentale ventrale ; NAc : noyau accumbens ; AMY : amygdale ; LH : hypothalamus latéral ; PFC : cortex préfrontal ; HIPP : hippocampe (Russo and Nestler, 2013)

3. Les structures cibles du système mésocorticolimbique

a. Le noyau accumbens (NAc)

i. Organisation cellulaire du NAc

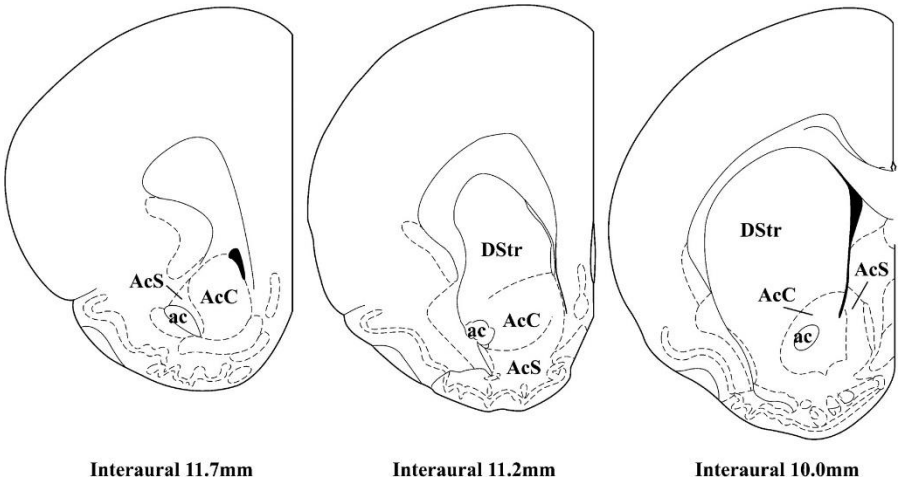


Figure 8 : Représentation de coupes coronales à différents niveaux du noyau accumbens.

Noyau accumbens core (AcC) ; noyau accumbens shell (AcS) ; striatum dorsal (DStr) (Brown and Molliver, 2000)

Le NAc correspond à la partie ventrale du striatum. Il est généralement divisé en 2 zones : le NAc core (NAcc) et son enveloppe, le NAc shell (Nacsh) (Figure 8). Ces 2 sous-régions

reçoivent des afférences de la ATV, du globus pallidus (GP), de l'AMG et du pallidum ventral (VP) (Zahm, 2000; Zahm and Brog, 1992). Le NAcc reçoit des afférences du cortex prélimbique (PrL) et du cortex cingulaire antérieur (CCA) (Zahm, 2000 ; Zahm et Brog, 1992). Le NAcsh reçoit plutôt les afférences du cortex infralimbique (IL) et du cortex insulaire (Zahm, 2000; Zahm and Brog, 1992).

En ce qui concerne les projections du NAc, les neurones du NAcc projettent sur le VP dorsolatéral, le globus pallidus et la substance noire (Ikemoto, 2007; Zahm and Brog, 1992). Quant aux neurones du NAcsh, ils projettent sur l'hypothalamus, l'ATV et le pallidum ventral antromédial (Ikemoto, 2007; Zahm and Brog, 1992).

ii. Rôles physiologiques du NAc

Rôles du NAc core dans le choix et la réponse motrice

Le NAcc est impliqué dans le choix et l'exécution de réponses motrices dont la valeur motivationnelle a été mise à jour (Bassareo et al., 2002; Di Chiara, 2002). En effet, cette sous-région intègre la valeur motivationnelle d'une récompense et de ses indices pour induire une réponse motrice appropriée (Bassareo et al., 2002; Di Chiara, 2002). Pour résumer, dans ces études, sans la fonction du NAcc, il a été observé des défauts pour associer la récompense avec les indices associés et la génération de choix appropriés (Di Chiara, 2002; Floresco et al., 2008).

Rôles du NAc shell dans la prédiction et l'apprentissage par la récompense

Le NAcsh joue un rôle crucial dans la prédiction et l'apprentissage par la récompense (Goto and Grace, 2008; Kelley, 2004). La libération de DA dans le NAcsh, induite par des récompenses imprévues, permet l'association du stimulus lié à la récompense avec l'état biologique de l'individu (Di Chiara, 2002). De plus, Bassareo a précisé que la libération de DA dans le Nacsh permet l'association d'un indice à la récompense seulement en début d'apprentissage (Bassareo et al., 2017, 2015).

Pour résumer, le NAc est une source d'entrée majeure de différentes structures limbiques et corticales. Pris dans son ensemble, il s'agit d'une structure qui joue un rôle dans l'apprentissage par la récompense, dans le choix et l'exécution d'une action basée sur la

valeur de la récompense. De plus, le NAcc et le NAcsh ont chacun leurs propres rôles. Le NAcc participe aux choix et à l'exécution d'une action en fonction de la valeur motivationnelle de la récompense, et la NAcsh participe à l'association d'un stimulus à la récompense et à l'apprentissage.

iii. Implication du NAc dans l'addiction

Le NAc est considéré comme une région importante dans les propriétés renforçantes des drogues. Cette structure participe aux processus de maintien de la consommation, et dans la recherche de drogues (Chevrette et al., 2002; Fuchs et al., 2004a; Rodd-Henricks et al., 2002).

Implication du NAc dans le développement et le maintien de la consommation de drogues

Comme il a été précédemment expliqué, la DA joue un rôle dans l'attribution à la drogue d'une saillance incitative et dans la composante motivationnelle des stimuli environnementaux sur le comportement (Nordquist et al., 2007; Robinson and Berridge, 2003). Il est donc suggéré que la libération de la DA dans le NAc favorise le "désir" de consommer la drogue et conduit l'individu à une recherche excessive afin de la consommer (Nordquist et al., 2007; Robinson and Berridge, 2003).

L'implication des neurones DAergiques qui projettent sur le NAc dans le maintien de la consommation a été mise en évidence par des études lésionnelles (Kiianmaa, 1980; McGregor and Roberts, 1993; Rassnick et al., 1993). Par exemple, une lésion des neurones DAergiques projetant sur le NAc, par des injections de 6-OHDA, provoque chez des rats une diminution de la consommation d'alcool (Kiianmaa, 1980; Rassnick et al., 1993) ou de cocaïne (Pettit et al., 1984). De façon similaire chez des rats, des injections d'antagonistes des récepteurs DAergiques dans le NAc ont bloqué l'auto-administration de cocaïne, alors que des injections d'agonistes DAergiques dans cette structure l'ont augmenté (McGregor and Roberts, 1993). Ces résultats indiquent que le NAc, notamment sous l'action de la DA, participe au maintien de la consommation des drogues d'abus.

Le NAc joue aussi un rôle dans l'augmentation de consommation de la quantité de drogues (Koob and Le Moal, 2008). En effet, la consommation aiguë de drogue diminue le seuil de récompense (sensibilité pour une récompense augmentée) alors que la consommation

chronique augmente ce seuil (sensibilité pour une récompense diminuée) (Koob and Le Moal, 2008). L'augmentation de ce seuil est liée à la diminution de la libération de DA dans le NAc ainsi qu'à une diminution de la densité des récepteurs DAergiques de type D2 (Koob and Le Moal, 2008). Cette diminution de sensibilité pour les effets gratifiants de la récompense peut faire ressentir au patient le besoin de consommer une quantité supérieure à celle qu'il a envisagé afin de ressentir la sensation de plaisir voulue (Ahmed et al., 2002; Koob and Le Moal, 2008).

Implication du NAc dans la rechute

Le NAc est une structure impliquée dans la réinstallation de recherche de drogue induite par la drogue ou par les indices environnementaux associés (Cornish et al., 1999; Fuchs et al., 2004a; McFarland et al., 2003; McFarland and Kalivas, 2001). Par exemple, lors d'un protocole de réinstallation de recherche de drogue induite par une injection de cocaïne, des mesures par microdialyse chez le rat ont relevé une augmentation de DA et de glutamate dans le NAcc (McFarland et al., 2003). De plus, une injection de DA ou de glutamate dans le NAc chez des rats provoque une réinstallation d'un comportement de recherche de drogues induite par une injection de drogue (Cornish et al., 1999; McFarland and Kalivas, 2001). Ces observations indiquent que des changements de concentration de DA et du glutamate dans le NAc seraient responsables de la rechute induite par une injection de drogue (Cornish et al., 1999; McFarland and Kalivas, 2001).

Dans la recherche de drogue induite par les indices environnementaux, la présentation de stimuli prédictifs de la cocaïne augmente la libération de DA dans le NAc et déclenche un comportement de recherche de drogue (Weiss et al., 2000). De plus, il a été observé qu'une inactivation pharmacologique du NAc a diminué la recherche de drogue induite par les indices contextuels (Fuchs et al., 2004a). Le NAc participe donc à la recherche de drogue induite par des indices environnementaux.

Lorsque l'on s'intéresse aux sous-parties du Nac, il semblerait que la partie core du NAc soit la plus impliquée dans les phénomènes de rechute induits par les indices environnementaux (Floresco et al., 2008; Fuchs et al., 2004a). En effet, des lésions du NAcc diminuent la capacité des rats à associer des stimuli pavloviens à la drogue (Ito et al., 2004). De plus, il a

été observé chez le rat qu'une inactivation pharmacologique du NAcc diminue la réinstallation d'un comportement de prise de cocaïne induite par des indices contextuels (Fuchs et al., 2004a). Cette même inactivation a été réalisée sur le NAcsh, mais est restée sans effet sur la réinstallation de recherche (Fuchs et al., 2004a). Millan a démontré qu'il existait une implication du NAcsh dans la recherche à l'alcool (Millan et al., 2010). Il a observé qu'une inactivation pharmacologique réversible du NAcsh rétablit la recherche de l'alcool chez le rat (Millan et al., 2010).

Des revues expliquent plus en détail l'implication du NAc dans la réinstallation de recherches (Bossert et al., 2013). Pour résumer, la littérature indique que la DA et le glutamate dans le NAcc et le NAcsh sont impliqués dans la réinstallation de recherche de drogue induite par le contexte environnemental (Bossert et al., 2013). Les projections du thalamus paraventriculaire vers le NAcsh et les connexions du NAsh avec l'hypothalamus sont nécessaires à la réinstallation de la recherche d'alcool induite par le contexte. De plus, les projections du CPFm ventral vers le NAcc sont importantes dans la réinstallation de la recherche d'héroïne et de cocaïne (Bossert et al., 2013).

b. **Le cortex préfrontal médian (CPFm)**

Le cortex préfrontal des rongeurs est divisé en plusieurs régions. Le cortex préfrontal médian (CPFm), divisé lui-même en cortex infralimbique (IL), cortex prélimbique (PrL) et en cortex cingulaire antérieur (CCA), et en cortex orbitofrontale (COF) (Granon and Poucet, 2000; Uylings et al., 2003) (Figure 9). Dans le cortex préfrontal, les principales populations neuronales sont des neurones glutamatergiques et des interneurones GABAergiques (Seamans et al., 2001). Ici nous nous focaliserons sur le CPFm puis, dans un second temps, nous nous intéresserons au COF.

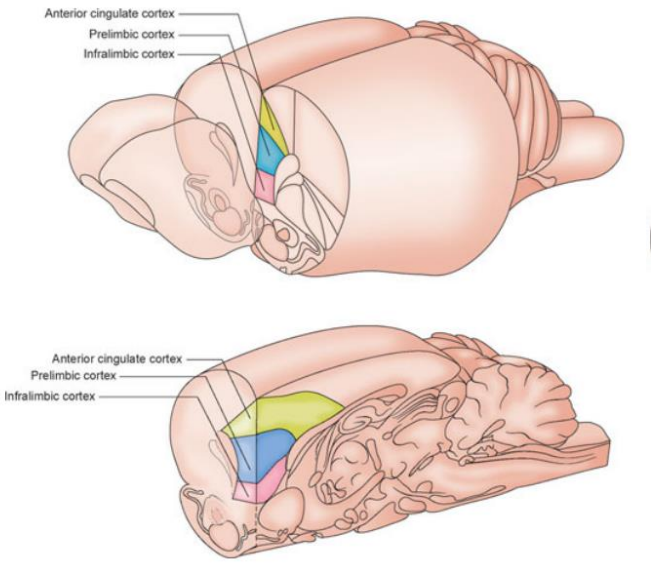


Figure 9 : Représentation anatomique du cortex préfrontal

Présentation en vue coronaire (image du haut) et en vue sagittale (image du bas). Cortex infralimbique en rose, cortex prélimbique en bleu et cortex cingulaire antérieur en vert (Tynan et al., 2013)

i. Organisation cellulaire du CPFm

Le CPFm projette vers l'ATV, le striatum ventral et dorsal, l'AMG et l'hypothalamus (Goldstein and Volkow, 2011; Hearing et al., 2012; Perry et al., 2011). Le CPFm possède des afférences DAergiques en provenance de l'ATV et des afférences glutamatergiques en provenance de l'hippocampe et de l'AMG (Goldstein and Volkow, 2011; Hearing et al., 2012; Perry et al., 2011). Le PrL et l'IL sont des structures plus différenciées chez le rongeur que chez l'Homme (Granon and Poucet, 2000). Dans cette partie, nous détaillerons les rôles de l'IL et du PrL puis dans un second temps, nous nous focaliserons sur le CCA.

ii. Fonctions physiologiques du CPFm

Rôle de l'IL et du PrL dans les comportements à but dirigés et habituels

Chez l'animal, le PrL et l'IL ont des fonctions distinctes. Le PrL est impliqué dans les comportements dirigés vers un but (Amaya and Smith, 2018; Smith and Laiks, 2018). La réalisation de lésions au niveau du PrL diminue la capacité des rongeurs à orienter leurs comportements vers un but et provoque des comportements qui sont habituels (Balleine and Dickinson, 1998; Balleine and O'Doherty, 2010; Corbit and Balleine, 2003). Quant à l'IL, cette région joue un rôle dans les comportements habituels (Amaya and Smith, 2018; Smith and Laiks, 2018). En effet, une inactivation de l'IL par optogénétiques, a perturbé la

formation et l'expression d'un comportement habituel (Smith et al., 2012; Smith and Graybiel, 2013).

Rôle du CCA dans le contrôle des actions dirigées vers un but, l'évaluation d'une action et le traitement émotionnel :

Le CCA est une structure principalement impliquée dans le contrôle des actions dirigées vers un but. Il s'agit d'une structure qui évalue le coût d'une action, les bénéfices attendus et détermine si l'action doit être réalisée (Cai and Padoa-Schioppa, 2012; Luk and Wallis, 2013; Schweimer and Hauber, 2006). Le CCA est donc une structure qui joue un rôle clé dans l'association d'une action et sa valeur (Camille et al., 2011; Rushworth et al., 2011). Par exemple, des lésions du CCA chez l'animal provoquent une préférence pour les petites récompenses, associées à de faibles coûts, au détriment d'un meilleur choix plus coûteux, mais qui, en termes de bénéfices apportés, est stratégiquement plus avantageux (Rushworth et al., 2004). Le CCA est également impliqué dans les actions impulsives. Une lésion de cette structure augmente le nombre de réponses prématurées dans un test de mesure de l'impulsivité chez le rat (Dalley et al., 2004). Enfin, en raison de ses communications avec le système limbique, et notamment l'AMG, le CCA joue un rôle dans le traitement des émotions (Drevets and Raichle, 1998; Vogt et al., 1997).

iii. Implication du CPFm dans l'addiction

Dans l'addiction, le CPFm est impliqué dans le comportement de recherche de drogue. En effet, des études de microdialyse ont reporté qu'une injection de cocaïne au niveau du CPFm provoque une augmentation de la libération de dopamine dans cette région (Maisonneuve et al., 1990), ainsi qu'un comportement de rechute chez le rat (Park et al., 2002). Des injections d'antagonistes des récepteurs à la DA dans le CPFm ont eu, à l'inverse, pour effet de diminuer la recherche de drogue des animaux (Capriles et al., 2003; McFarland and Kalivas, 2001; Park et al., 2002).

Implication de l'IL et du PrL dans l'addiction

Dans l'addiction, le PrL jouait un rôle dans la réinstallation de la recherche de drogue déclenchée par les indices environnementaux, un stress ou la drogue elle-même (McFarland

and Kalivas, 2001). L'inactivation du PrL, par des injections d'agonistes des récepteurs GABA, avant le test de réinstallation, bloque le comportement de recherche de drogue (McFarland and Kalivas, 2001).

L'inactivation de l'IL, par des agonistes GABAs, n'impacte pas la recherche de drogue des animaux avant l'extinction (McFarland and Kalivas, 2001). En revanche, son inactivation après le test de réinstallation rétablit un comportement de recherche de drogue (Peters et al., 2008a, 2008b). L'IL est une structure qui participe aussi à la réinstallation d'un comportement de recherche de drogue, mais seulement une fois que le comportement a été initié. L'IL participerait donc à l'inhibition d'un comportement de recherche plutôt qu'à son déclenchement (Peters et al., 2008a, 2008b).

Même si ces dernières informations semblent contradictoires avec le rôle physiologique de ces 2 sous-régions, une des explications concerne le manque de distinction dans les circuits étudiés. En effet, la majorité des études sur l'addiction qui s'intéressent aux projections du CPFm dans la recherche de drogue se concentre sur celles du striatum ventral, à savoir le NAc, (Gourley and Taylor, 2016; McFarland and Kalivas, 2001; Peters et al., 2008a) tandis que les études qui s'intéressent aux formations d'habitudes se focalisent plutôt sur les projections du CPFm vers le StD (Hart et al., 2018b, 2018a; Smith and Laiks, 2018).

Implication du CCA dans l'addiction

Le CCA est une région qui participe à la réinstallation de recherche de drogue. Une inactivation réversible du CCA, par tétrodotoxine, bloque la réinstallation de recherche de cocaïne par des indices environnementaux (McLaughlin and See, 2003). Cet effet est spécifique des indices et n'a pas d'impact sur la réinstallation de recherche induite par le stress et la cocaïne (McFarland et al., 2004; McFarland and Kalivas, 2001). Ceci est renforcé par le fait que l'activité du CCA des rats augmente quand les indices associés à la cocaïne sont présentés (Thomas et al., 2003).

De plus, il a été montré chez l'homme que le CCA est une région particulièrement impliquée dans le « craving » de la drogue (Foltz and White, 1962). En effet, Foltz et White ont remarqué qu'une ablation du CCA chez des patients addicts faisait disparaître leurs sensations de besoin de consommer leurs drogues (Foltz and White, 1962). De plus, l'activité

du CCA a été corrélée chez des patients avec leurs désirs pour leurs substances respectives. Par exemple, l'état de manque que le patient présentant une addiction ressentait était corrélé à une augmentation d'activité du CCA (De Ridder et al., 2016, 2011; Huang et al., 2018; Kühn and Gallinat, 2011; Leong et al., 2018). Enfin, chez des patients addicts à la cocaïne, l'envie de consommer la drogue était associée à une connectivité accrue du CCA au striatum (Contreras-Rodríguez et al., 2015). Une connectivité fonctionnelle accrue entre le CCA, le COF médian et le striatum a aussi été observée chez des patients addicts à l'héroïne (Ma et al., 2010). Ces 3 structures sont donc en communication étroite afin de provoquer le désir pour la substance.

Dans ces processus de craving, l'activité du CCA est déclenchée par des indices environnementaux (Kühn and Gallinat, 2011; Seo et al., 2013). La présentation d'indices, liés à la consommation de la drogue, provoque une hyperactivation du CCA chez des fumeurs, des alcoolodépendants et des cocaïnomanes et cette hyperactivation du CCA est corrélée avec leurs désirs autodéclarés pour la substance (Kühn and Gallinat, 2011). Enfin, il est intéressant de souligner que cette hyperactivité du CCA est considérée par des chercheurs comme un marqueur pouvant aider à la prédiction de la rechute chez des personnes alcoolodépendantes (Seo et al., 2013).

C. Le cortex orbitofrontale (COF)

i. Organisation cellulaire du COF

Le COF est une structure corticale très étendue qui possède de nombreuses connexions (Rudebeck and Rich, 2018) (Figure 10).

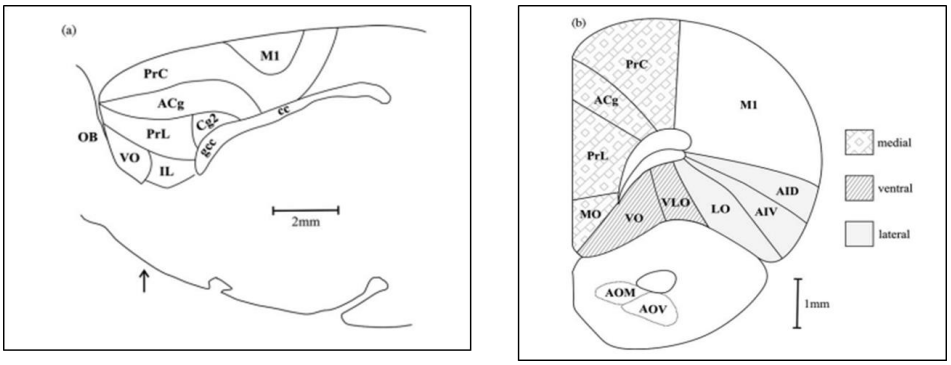


Figure 10 : Représentation du cortex préfrontal de rat

Représentation en coupe sagittale (a) et en coronale (b). Le cortex orbitofrontal est signalé par les abréviations : LO (cortex orbital latéral), MO (cortex orbital médian), VLO (cortex orbital ventrolatérale) ainsi que VO (cortex orbital ventral). PrL : cortex prélimbique, IL : cortex infralimbique ; ACg : cortex cingulaire antérieur (par Dalley et al., 2004).

Le COF projette vers l'insula, le striatum ventral, l'hypothalamus, le thalamus médiodorsal, le CPFm, l'AMG et la substance grise périaqueducale (Rudebeck and Rich, 2018). Le COF reçoit des aires corticales somato-sensorielles, de l'insula, de l'AMG, de l'hippocampe, de l'hypothalamus, du thalamus médiodorsal et du CPFm (Rudebeck and Rich, 2018) (Figure 11).

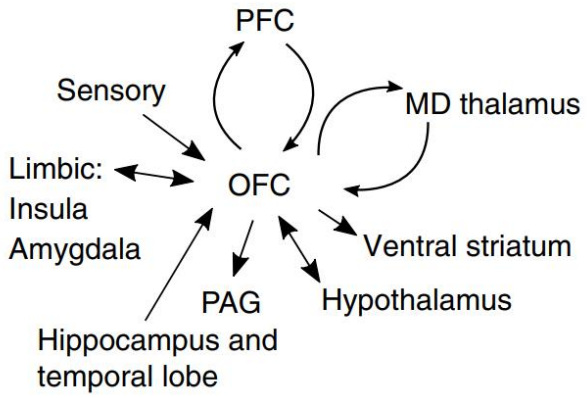


Figure 11 : Connectivités du cortex orbitofrontal.

OFC : cortex orbitofrontal ; PFC : cortex préfrontal ; MD thalamus : thalamus médiodorsal ; PAG : substance grise périaqueducale ; sensory : aire corticale somato-sensorielle (par Rudebeck and Rich, 2018).

ii. Fonctions du COF dans les actions dirigées vers un but et dans la valeur des stimuli

Le COF joue essentiellement un rôle dans les comportements dirigés vers un but et dans l'actualisation de la valeur des stimuli en fonction des évènements récents (Gardner et al., 2018; Panayi and Killcross, 2018; Stalnaker et al., 2015; Zhou et al., 2019). En effet, le COF est très actif pendant un entraînement avec des leviers à rapport aléatoire, une procédure qui a pour but d'évaluer l'action très régulièrement (Gremel et al., 2016; Gremel and Costa, 2013). De plus, une stimulation du COF chez des souris entraînées à appuyer sur des leviers augmente les actions à but dirigées et limite celles guidées par un comportement d'habitude (Gremel et al., 2016). Une lésion spécifique de cette région provoque chez l'animal une préférence pour les choix inadaptés et risqués (Pais-Vieira et al., 2007; Zeeb et al., 2010).

iii. Implication du COF dans l'addiction

Les études sur le COF ont rapporté que des lésions de cette structure n'impactaient ni l'acquisition de l'auto-administration de cocaïne chez le rat (Fuchs et al., 2004b; Hutcheson

and Everitt, 2003), ni la courbe dose/réponse de la cocaïne en auto-administration (Fuchs et al., 2004b). Ces résultats indiquent que le COF n'est pas une structure jouant un rôle essentiel dans les effets gratifiants de la cocaïne.

En revanche, il a été montré que le COF participe aux effets renforçateurs conditionnés par les indices associés à la drogue et à la réinstallation d'un comportement de recherche induit par ces indices (Fuchs et al., 2004b; Thomas et al., 2003). En effet, une inactivation pharmacologique du COF, par des agonistes des récepteurs GABA, provoque une altération de la recherche de cocaïne induite par des indices associés à la drogue (Fuchs et al., 2004b). Aussi, il a été observé une expression de zif-268 augmentée, un marqueur précoce indiquant des processus de plasticités synaptiques, dans le COF de rats après une exposition à des indices associés à la cocaïne (Thomas et al., 2003). Ensemble, ces résultats suggèrent que le COF joue un rôle essentiel dans la capacité des indices associés à la drogue à déclencher un comportement de recherche de drogue. Fuchs a également observé que des lésions du COF, réalisées avant le début des séances d'auto-administrations des rats, ne provoquaient pas de changement dans le comportement de recherche induit par les indices (Fuchs et al., 2004b). Ces résultats indiquent donc que : 1) le COF est une structure importante, mais non essentielle aux comportements de recherche de drogue induits par les indices environnementaux, et 2) si la fonction du COF est abolie avant le développement d'un comportement de prise de drogue, d'autres structures cérébrales seraient impliquées pour provoquer une réinstallation de recherche de drogue.

Le COF est une structure qui est aussi impliquée dans la réinstallation d'un comportement de recherche de drogue induite par le stress (Capriles et al., 2003). Capriles et ses collègues ont observé qu'une inactivation réversible du COF par la tétrodotoxine diminuait la réinstallation de la recherche de cocaïne induite par le stress (Capriles et al., 2003). De plus, ils ont observé que cette inactivation n'impactait pas la réinstallation de la recherche de drogue induite par une injection de cocaïne (Capriles et al., 2003). Le COF est donc une structure impliquée dans la recherche de drogue induite par les indices environnementaux et le stress.

II. La plasticité neuronale induite par les drogues d'abus

Plusieurs phénomènes de plasticité neuronale ont été observés à la suite des expositions à des drogues d'abus. La plasticité neuronale est caractérisée par des changements morphologiques et fonctionnels des neurones (Berlucchi and Buchtel, 2009). En temps normal, ces changements plastiques ont lieu lors d'une adaptation à un environnement, à un apprentissage ou encore après une lésion cérébrale (Berlucchi and Buchtel, 2009). Dans le cas des drogues, ces phénomènes ont été étudiés comme étant des acteurs responsables des comportements inadaptés de prises ou de recherche de drogue qui sont observés dans l'addiction (Kalivas and O'Brien, 2008). Par conséquent, l'addiction aux drogues peut être définie comme un trouble qui est provoqué par des perturbations durables de la plasticité structurale et/ou fonctionnelle au sein de diverses régions cérébrales (Hyman and Malenka, 2001; Kalivas and O'Brien, 2008).

Dans cette partie, nous donnerons quelques exemples de ces processus plastiques induits par la cocaïne, la drogue utilisée dans cette thèse.

A. Plasticité structurale induite par la cocaïne

Une exposition aiguë ou chronique de cocaïne a pour conséquence de provoquer des changements structuraux des neurones. La plasticité structurale des neurones concerne directement les épines dendritiques et leurs morphologies (Bosch et al., 2014; Bosch and Hayashi, 2012; Matsuzaki et al., 2004). En effet, ces épines vont adapter leurs tailles ainsi que leurs formes très rapidement. Les adaptations de ces épines se font en quelques minutes, voire en quelques secondes (Bosch et al., 2014; Bosch and Hayashi, 2012; Matsuzaki et al., 2004).

Les changements de la plasticité structurale dépendent de la nature de l'exposition et peuvent aussi être induits pendant la période d'abstinence (Dos Santos et al., 2017; Dumitriu et al., 2012; Robinson et al., 2001). Par exemple, une exposition aiguë de cocaïne provoque la formation d'épines dendritiques dans le CPFm, le NAc et l'ATV (Dos Santos et al., 2017; Muñoz-Cuevas et al., 2013; Sarti et al., 2007; Shen et al., 2009). Lors d'une exposition chronique de cocaïne, une augmentation de la densité des épines dendritiques a aussi été observée dans le NAc, le CPFm (Robinson et al., 2001; Robinson and Kolb, 1999) et le StD (Ren et al., 2010). Cette augmentation du nombre d'épines par des injections chroniques de

cocaïne a été associée à une augmentation de la densité synaptique dans les MSNs dans l'ensemble du NAc (Li et al., 2004; Norrholm et al., 2003). Pendant la période d'abstinence, chez la souris, le nombre d'épines dendritiques est diminué dans le NAcc et augmenté dans le NAcsh après 24 heures suivant la dernière injection (Dumitriu et al., 2012). De plus, ces changements ont persisté dans le NAcc après 28 jours tandis que le nombre d'épines dans le NAcsh était redevenu similaire aux animaux contrôles (Dumitriu et al., 2012).

De façon intéressante, la rechute peut aussi induire des modifications de la structure des neurones (Gipson et al., 2013; Stankeviciute et al., 2014). Par exemple, Gipson et Stankeviciute ont observé chez le rat que, après des sessions d'auto-administrations de cocaïne, le déclenchement de l'indice lumineux associé à la drogue a provoqué une augmentation de la taille des épines dendritiques dans le NAcc (Gipson et al., 2013; Stankeviciute et al., 2014). De plus, ces chercheurs ont corrélé positivement la taille de la tête des épines avec le niveau de recherche de drogue de l'animal (Gipson et al., 2013; Stankeviciute et al., 2014). En raison de l'implication des épines dans la potentialisation synaptique, Gipson et Stankeviciute ont indiqué que la recherche de drogue serait en partie due à la potentialisation des synapses, elle-même liée à une densité d'épines augmentée (Gipson et al., 2013; Stankeviciute et al., 2014).

B. Plasticité synaptique induite par la cocaïne

La plasticité synaptique est définie comme des « modifications biochimiques qui ont pour conséquence de provoquer des modifications de l'efficacité synaptique » (Citri and Malenka, 2008). En fonction de leurs durées d'expression, on peut caractériser : 1) les plasticités à court terme, des changements qui durent environ quelques minutes, et 2) les plasticités à long terme dont les changements peuvent durer plusieurs jours voire plusieurs mois (Korpi et al., 2015).

En fonction de leurs effets sur la synapse, on peut caractériser deux types de plasticités à long terme (Korpi et al., 2015). En effet, elles peuvent : soit provoquer une diminution de l'efficacité synaptique, on parle alors de LTD (pour « Long-Term Depotentialisation ») ou provoquer une augmentation de l'efficacité synaptique, on parle alors de LTP (pour « Long Term Potentialisation ») (Korpi et al., 2015).

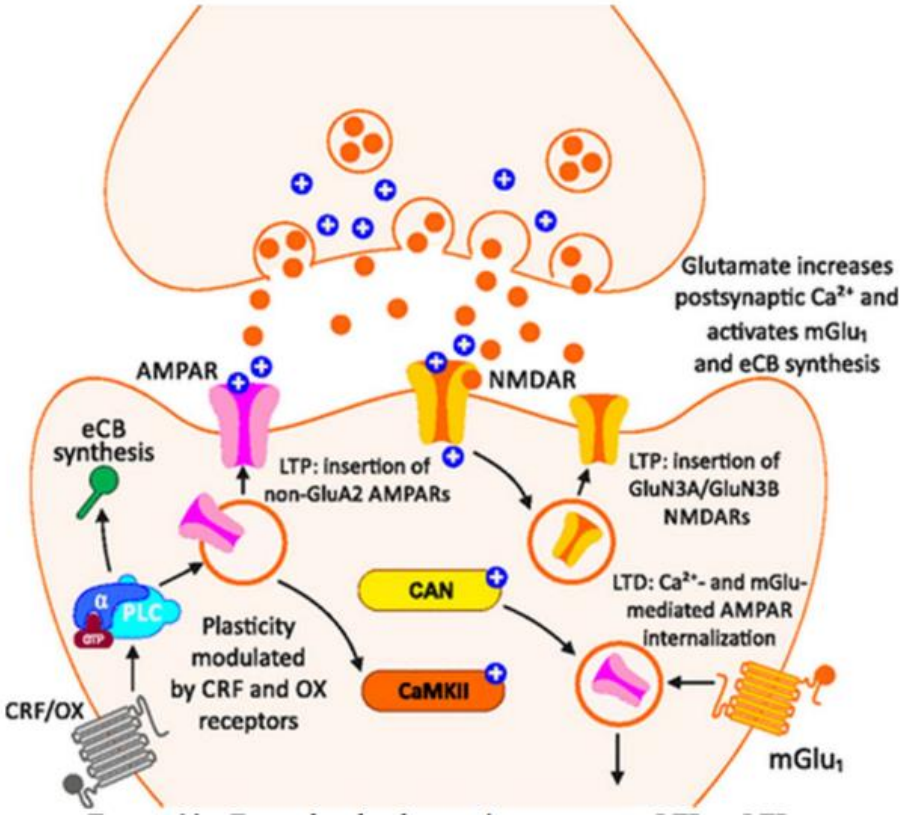


Figure 12 : Schématisation de la LTP et de la LTD au niveau post synaptique.

La LTP est provoquée à la suite de l'expression de récepteurs AMPA à la membrane et la LTD est provoquée par l'internalisation des récepteurs glutamatergiques AMPA ou par l'activation des récepteurs au glutamate mGlu (Korpi et al., 2015).

Les modifications de l'efficacité synaptique peuvent être la conséquence des modifications de la quantité de neurotransmetteurs libérés, des modifications de la densité des récepteurs exprimés à la membrane ou encore des modifications de l'efficacité des récepteurs (Mameli et al., 2009) (Figure 12). Les changements de plasticité synaptique observés dans l'addiction concernent particulièrement les récepteurs glutamatergiques AMPA et NMDA (Mameli et al., 2009). Les récepteurs AMPA et NMDA sont des récepteurs ionotropiques (Kauer and Malenka, 2007). À la suite d'une exposition chronique à la cocaïne, des modifications du ratio des récepteurs AMPA/NMDA ont lieu dans le striatum ventral et dorsal.

1. Plasticité synaptique du NAc induite par la cocaïne

Par exemple, une injection journalière de cocaïne pendant 1 semaine chez la souris diminue le ratio AMPA/NMDA dans le NAcsh au niveau des synapses glutamatergiques qui proviennent du CPF (Kourrich et al., 2007). La diminution de ce ratio a été observée 1 jour

après la dernière injection à la cocaïne, puis ce ratio a augmenté après une dizaine de jours qui ont suivi la dernière injection (Kourrich et al., 2007). Cette augmentation de ratio après sevrage a été confirmée par une autre étude qui a signalé une augmentation dans le NAc des récepteurs AMPA exprimés à la membrane après une vingtaine de jours d'abstinence (Boudreau and Wolf, 2005). Ces observations soulignent le fait que l'abstinence provoque elle-même des phénomènes de plasticité synaptique à la suite d'une exposition régulière à la cocaïne.

Cette augmentation de l'efficacité synaptique pendant l'abstinence serait en partie responsable de l'apparition du craving (Conrad et al., 2008). Une des explications de cette augmentation de la transmission synaptique dans la structure se trouve au niveau de la composition des récepteurs AMPA elle-même (Conrad et al., 2008). En effet, Conrad a observé que l'abstinence à la cocaïne augmentait l'expression à la membrane des récepteurs AMPA dépourvus de la sous unité GluR2 (Conrad et al., 2008). Cette sous-unité GluR2 a pour conséquence de limiter l'entrée d'ion divalent dans le neurone et limite son excitabilité (Conrad et al., 2008). Conrad a aussi indiqué que l'augmentation de la transmission par les récepteurs AMPA sans GluR2 avait pour conséquence d'augmenter la réactivité des MSNs du NAc aux indices environnementaux (Conrad et al., 2008). En effet, chez les mêmes rats, des injections d'un antagoniste, spécifique des récepteurs AMPA dépourvus de GluR2 dans le NAc, ont réduit la recherche de drogue induite par les indices environnementaux (Conrad et al., 2008). De plus, Conrad a montré que l'inactivation des synapses glutamatergiques du NAc en provenance du CPFm diminuait cette recherche de drogue induite par les indices environnementaux (Pascoli et al., 2014). De ce fait, une augmentation de réactivité des MSNs du NAc par les indices environnementaux, et par l'activité du CFPm, serait en partie responsable du désir pour la drogue et augmente la recherche de l'animal.

Dans le NAcc, il a été aussi observé que les indices environnementaux augmentaient le ratio AMPA/NMDA, et que cette augmentation était corrélée de manière positive à la recherche de drogue de l'animal (Gipson et al., 2013). Ces observations indiquent que l'exposition chronique à la drogue a induit des neuroadaptations qui ont favorisé l'induction de LTP par les indices environnementaux dans les MSNs du NAcc ce qui facilite la recherche de drogue, et par extension, la rechute de l'animal (Gipson et al., 2013).

2. Plasticité synaptique du StD induite par la cocaïne

Dans le StD, des phénomènes de plasticité synaptique ont aussi été observés. Par exemple, des injections répétées de cocaïne chez le rat induisent une augmentation de la densité des récepteurs AMPA présents à la membrane (Yamamoto and Zahniser, 2012). Cette augmentation peut traduire une sollicitation importante des circuits striataux dorsaux induite par l'exposition chronique de cocaïne (Yamamoto and Zahniser, 2012).

De plus, ces chercheurs indiquent qu'une période d'abstinence à la suite de l'exposition chronique de cocaïne induit une augmentation du ratio AMPA/NMDA dans le StD en raison d'une diminution de l'expression des récepteurs NMDA (Yamaguchi et al., 2002; Yamamoto and Zahniser, 2012). Une seconde étude indique que, après 7 jours d'exposition chronique de cocaïne suivie de 21 jours d'abstinence, une augmentation de l'expression de la sous-unité 2A dans les récepteurs NMDA était présente chez le rat (Ary and Szumlinski, 2007) et une augmentation de la sous unité 2B après 60 jours de sevrage (Ben-Shahar et al., 2009). Ces modifications des sous-unités 2A et 2B après un long sevrage indiquent des perturbations de l'efficacité synaptique en faveur d'une augmentation d'excitabilité du StD (Ben-Shahar et al., 2009).

Comme il a été décrit précédemment, le StD participe à la recherche de drogue habituelle et inadaptée qui est guidée par les stimuli environnementaux (Everitt et al., 2001; Packard and Knowlton, 2002; Vanderschuren et al., 2005). De ce fait, une augmentation de la sensibilité du StD en période d'abstinence pourrait rendre l'individu plus sensible aux stimuli environnementaux associés à la drogue, favoriser une réponse « habituelle » et l'initiation d'une recherche de drogue (Everitt et al., 2001; Packard and Knowlton, 2002; Vanderschuren et al., 2005).

C. Neuroadaptations moléculaires induites par les drogues

Comme il a été décrit précédemment, la cocaïne induit des modifications morphologiques, ainsi que des modifications de l'efficacité synaptique. Ces modifications sont étroitement liées à des adaptations moléculaires induites par les drogues. Ces adaptations seraient impliquées dans le développement et le maintien de l'addiction. Dans cette partie, nous détaillerons certaines neuroadaptations moléculaires induites par la cocaïne.

1. Modulation de l'expression du transporteur de la dopamine (DAT)

Il a été montré que des injections répétées de cocaïne modifient l'expression du transporteur à la DA (DAT) (Cerruti et al., 1994; Xia et al., 1992). En effet, Xie et Cerruti ont observé que la réalisation d'une injection journalière de cocaïne chez le rat pendant une semaine réduit la quantité d'ARNm du DAT dans les neurones de la SN (Xia et al., 1992) et de l'ATV (Cerruti et al., 1994). Cette diminution des taux d'ARNm a pour effet de diminuer la traduction du transporteur et, de ce fait, réduit la densité du DAT en présynaptique (Cerruti et al., 1994; Xia et al., 1992). De plus, Boulay et ses collègues ont observé qu'après une exposition chronique, la cocaïne réduisait l'efficacité du DAT à recapturer la DA dans le NAcsh (Boulay et al., 1996). La réduction d'expression du DAT et la diminution de l'efficacité du transporteur induit par la cocaïne a pour effet de diminuer la recapture de la DA.

Aussi, en plus de modifier son niveau d'expression, l'exposition à la cocaïne modifie la sensibilité du DAT à être inhibé (Siciliano et al., 2016). Par exemple, des sessions d'auto-administrations de cocaïne chez les rats diminuent l'inhibition du DAT dans le NAc par la cocaïne (Siciliano et al., 2016). Cette résistance aux effets inhibiteurs de la cocaïne pendant les sessions d'auto-administrations expliquerait en partie la notion de tolérance et l'augmentation de la consommation de drogue que l'on peut observer chez les animaux après une longue période de prise de drogue (Siciliano et al., 2016). De façon intéressante, même si cette modification disparaît après une période d'abstinence de 14 ou 60 jours (Siciliano et al., 2016), une seule exposition de cocaïne à la fin de l'abstinence rétablit cette résistance du DAT aux effets de la cocaïne (Siciliano et al., 2016). Cela démontre que le DAT est resté, même après 60 jours d'abstinence, dans un état altéré et que la plasticité induite par la cocaïne peut être rétablie en une seule exposition (Siciliano et al., 2016). Enfin, la réexposition de l'animal à la cocaïne après cette abstinence a rétabli la notion de tolérance et l'augmentation de la consommation de cocaïne que l'on peut observer après une longue période de prise de drogue (Siciliano et al., 2016). L'ensemble de ces données démontrent que l'exposition chronique à la cocaïne provoque des changements durables sur le DAT même après une longue période d'abstinence. Enfin, ces résultats peuvent fournir une explication potentielle sur la notion de tolérance et les périodes de consommations frénétiques qui peuvent se produire après abstinence (Siciliano et al., 2016).

2. Modulation de la voie de l'AMPc et du facteur de transcription CREB

Comme la cocaïne produit une augmentation de la DA extracellulaire, elle active les voies de signalisation en aval des récepteurs DAergiques exprimés par les neurones post-synaptiques. Les récepteurs DAergiques sont associés à une protéine G qui peut être soit une protéine $G_{\alpha s}$ pour les récepteurs D1 ou soit une protéine $G_{\alpha i/o}$ pour les récepteurs D2 (Beaulieu and Gainetdinov, 2011). Ces protéines G modulent l'activité de l'adénylate cyclase (AC) et partant de la protéine kinase A (PKA). Quand la DA active la protéine $G_{\alpha s/olf}$ associée aux récepteurs D1, cela induit la production d'AMPc (Jackson and Westlind-Danielsson, 1994). Cette augmentation de l'AMPc active ensuite la PKA. La PKA va alors phosphoryler plusieurs cibles dont des facteurs de transcriptions qui jouent un rôle dans l'expression des gènes précoces eux-mêmes impliqués dans la plasticité neuronale à long terme (Beaulieu and Gainetdinov, 2011; Jaber et al., 1996) (Figure 13).

En ce qui concerne les récepteurs DAergiques de type D2, ils sont couplés à la protéine $G_{\alpha i/o}$ (Beaulieu and Gainetdinov, 2011). Une fois activée par la DA, la protéine $G_{\alpha i/o}$ va inhiber l'activité de l'AC, ce qui provoque une diminution de la quantité d'AMPc dans le neurone. La diminution d'AMPc va réduire l'activité de la PKA, réduire la phosphorylation des protéines cibles et diminuer leurs activités (Beaulieu and Gainetdinov, 2011; Jaber et al., 1996). Cela aura pour effet général de réduire la transmission du signal (Hernandez-Lopez et al., 2000) (Figure 13). Les récepteurs D2 sont aussi exprimés du coté pré-synaptique (Wolf and Roth, 1990) et participent au rétrocontrôle négatif en réduisant la libération de la DA dans la fente synaptique (Wolf and Roth, 1990).

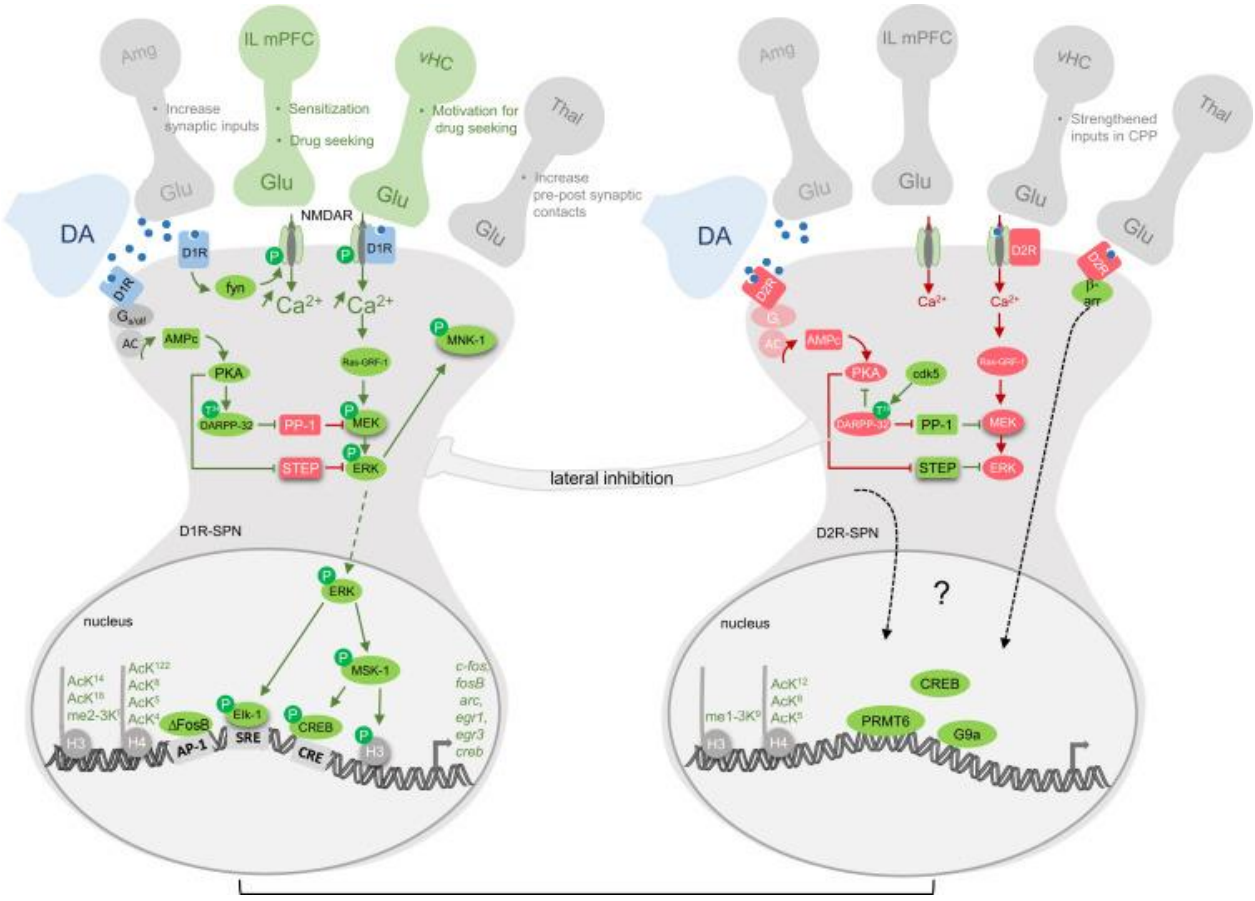


Figure 13 : Mécanismes cellulaires des récepteurs dopaminergiques D1 et D2 dans les neurones striataux en réponse à un psychostimulant (Salery et al., 2019)

Comme indiqué précédemment, la PKA phosphoryle plusieurs protéines impliquées dans la plasticité synaptique et dans l'addiction. Parmi ces cibles, la protéine ERK (pour « Extracellular signal Regulated Kinase »), spécifique de la voie D1 (Salery et al., 2019) et le facteur de transcription CREB (pour « Cyclic-AMP Responsive-Element-Binding ») ont été décrits.

La protéine ERK est une kinase régulée par l'exposition aux drogues, dont la cocaïne (Valjent et al., 2004, 2000). En effet, Valjent a observé que la cocaïne aiguë et chronique augmentait la quantité de ERK phosphorylée dans plusieurs structures du système mésocorticololimbique comme le NAc, le CPF ou le StD (Valjent et al., 2004, 2000). L'inhibition pharmacologique de l'activité de ERK au sein de l'ATV et du NAc réduit l'activité locomotrice des rongeurs lors d'une procédure de sensibilisation comportementale (Kim et al., 2011; Pierce et al., 1999). Ces observations indiquent que ERK participe aux effets de la cocaïne et dans les effets à long terme de la drogue.

Quant à CREB, c'est un facteur de transcription qui joue un rôle dans les adaptations durables induites par les drogues (Carlezon et al., 2005; McClung and Nestler, 2003). En effet, la phosphorylation de la protéine CREB (Nestler, 2001), va entraîner la formation d'un complexe avec la protéine CBP (pour « CREB Binding Protein »), et ainsi, activer la transcription de nombreux gènes (Carlezon et al., 2005).

Comme ERK, l'implication de CREB a été étudiée dans les effets des drogues d'abus (Briand and Blendy, 2010; Carlezon et al., 2005). En effet, des souris transgéniques, exprimant un facteur CREB non fonctionnel, sont plus sensibles aux effets de différentes drogues d'abus, dont la cocaïne (Barrot et al., 2002; Carlezon et al., 2005; Walters and Blendy, 2001). À l'inverse, une augmentation de la quantité de CREB phosphorylé ou sa surexpression en général induit la diminution des effets renforçants de la cocaïne (Carlezon et al., 2005; Sakai et al., 2002; Self et al., 1998). De façon intéressante, CREB a un impact différent en fonction de la structure dans laquelle la protéine est exprimée (Olson et al., 2005). En effet, il a été observé qu'une augmentation de la quantité de CREB dans la tête de l'ATV rend l'animal plus sensible aux effets de la cocaïne tandis que son augmentation dans la partie caudale de l'ATV rend les animaux moins sensibles aux effets de la cocaïne (Olson et al., 2005). Cela indique que l'implication de CREB est spécifique de certaines structures impliquées dans l'addiction et cela souligne la complexité du rôle de la protéine CREB dans ce trouble.

a. Les gènes de la famille Fos : Cible de CREB

Après des administrations de cocaïne, le facteur de transcription CREB provoque la transcription de gène précoce appelé IEG (pour « Immediate Early Gene »). Parmi ces IEGs, on trouve ceux codant les protéines de la famille Fos, très étudiées dans l'addiction. Par exemple, il a été montré qu'une injection unique de cocaïne chez des rongeurs augmente le niveau d'expression des gènes c-fos et FosB dans le NAc et le StD (Hope et al., 1992; Nestler, 2001). Par ailleurs, des injections répétées de cocaïne induisent une augmentation de c-fos dans le NAc et le StD (St-Hilaire et al., 2003). L'activation de c-fos est rapide et très transitoire (Müller et al., 1984; Young et al., 1991). En effet, il a été montré que la transcription du gène c-fos commence environ 5 minutes après l'injection de cocaïne et il atteint son niveau maximal d'expression au bout de 1h30 à 2h (Müller et al., 1984; Young et

al., 1991). Une fois le pic d'expression dépassé, les taux de c-fos vont diminuer et retourner à la normale au bout de 12 à 24h (Müller et al., 1984; Young et al., 1991).

Une autre protéine de cette famille a été particulièrement étudiée dans l'addiction (Nestler, 2013). Il s'agit de la protéine ΔFosB, codée par le gène Fos B et qui correspond à une forme tronquée de la protéine FosB (Nestler, 2001). Contrairement à c-fos, qui a une expression très transitoire, la protéine ΔFosB s'accumule dans les neurones après chaque injection de cocaïne (Nestler, 2001). En effet, une première injection de cocaïne va induire une expression faible de ΔFosB par rapport à l'expression de c-fos, mais, lorsque l'on réalise plusieurs injections, la protéine ΔFosB va s'accumuler dans les aires cérébrales, car elle est stable (Nestler, 2001) (Figure 14). À la suite d'une exposition chronique, la cocaïne provoque un changement de la quantité de ΔFosB dans plusieurs structures connues pour être impliquées dans l'addiction (Chen et al., 1997; Nye et al., 1995; Perrotti et al., 2008). En effet, il a été observé une augmentation de la quantité de ΔFosB dans le CPFm, l'AMG, l'hippocampe, le NAc et le StD après des injections de cocaïne (Chen et al., 1997; Nye et al., 1995; Perrotti et al., 2008). De plus, cette accumulation a persisté durant les plusieurs mois qui ont suivi la dernière injection de drogue (Nestler, 2001).

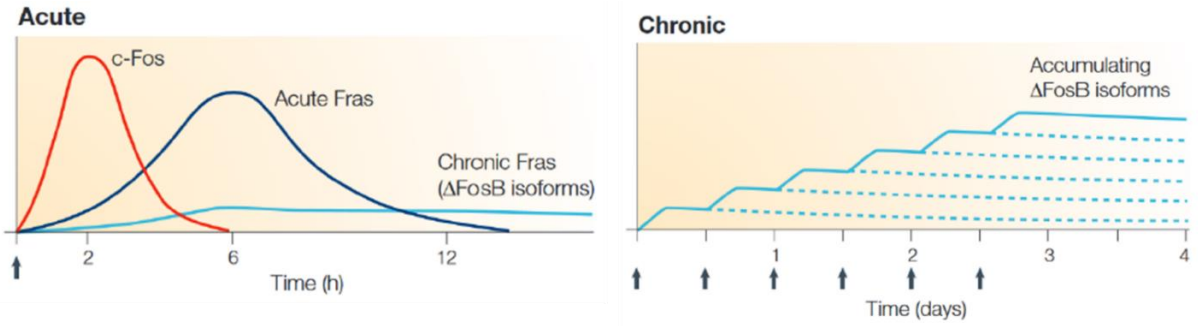


Figure 14 : Cinétique des facteurs de transcription de la famille Fos par la cocaïne (Nestler, 2001).

L'accumulation de ΔFosB semble être spécifique de certains types de neurones dans le striatum (Colby et al., 2003; Kelz et al., 1999; Lafragette et al., 2016). En effet, il a été observé que l'augmentation de ΔFosB était spécifique des MSNs de la voie directe dans le NAc et le StD, c'est-à-dire les neurones exprimant les récepteurs DAergiques de type D1 (Colby et al., 2003; Kelz et al., 1999; Lafragette et al., 2016) en réponse à la cocaïne.

Nestler et son groupe de recherche proposent que l'accumulation de la protéine ΔFosB dans les neurones jouerait un rôle clé dans les neuroadaptations persistantes décrites après des injections de drogues et susceptibles de participer à la mise en place d'une addiction (Nestler, 2001). Ceci a en particulier été proposé après des études de surexpression ou

d'inactivation de la protéine ΔFosB dans des modèles animaux (Colby et al., 2003; Kelz et al., 1999). Par exemple, il a été observé chez des souris transgéniques qui surexprimaient ΔFosB que la sensibilisation comportementale était augmentée (Kelz et al., 1999). La surexpression de la protéine chez ces souris a aussi augmenté la prise de cocaïne des animaux dans une procédure d'auto-administration, ainsi que la motivation dans une procédure de PR (Colby et al., 2003). L'accumulation de la protéine ΔFosB semble donc participer au développement de l'addiction.

Néanmoins, le rôle de ΔFosB dans l'addiction semble complexe. En effet, il a été observé qu'une surexpression par l'utilisation d'un vecteur viral de ΔFosB dans le NAcsh diminue la prise de cocaïne dans une procédure d'auto-administration de cocaïne et dans la réinstallation de la recherche induite par la drogue (Zhang et al., 2014). Dans une autre étude, des souris transgéniques qui ont une activité du gène de ΔFosB réduite étaient plus sensibles aux effets de la cocaïne dans une procédure de sensibilisation comportementale (Hiroi et al., 1997).

La protéine ΔFosB est donc une protéine jouant un rôle dans l'addiction et est parfois considérée comme un « switch » vers l'addiction, c'est-à-dire qu'elle participerait à la transition d'une prise de drogue récréative vers une prise de drogues pathologique (Nestler, 2001).

b. Les gènes cibles de la protéine ΔFosB

Comme la protéine ΔFosB est un facteur de transcription, elle régule l'expression de protéines (Nestler, 2013, 2001). Dans cette partie, nous détaillerons à titre d'exemple la régulation du gène CDK5 impliqué dans la morphologie des neurones et celle régulant la sous-unité GluR2 des récepteurs AMPA impliquée dans les changements d'efficacité synaptique.

i. La régulation ΔFosB de la protéine CDK5 (cyclin dependent kinase 5)

La protéine « cyclin dependent kinase 5 » (ou CDK5) est une kinase régulée par ΔFosB et qui joue un rôle dans l'organisation de l'arborisation dendritique des neurones (Bibb et al., 2001; Norrholm et al., 2003). L'augmentation de ΔFosB induite par des injections de cocaïne entraîne une augmentation des niveaux de CDK5, ce qui aurait pour conséquence

d'augmenter la densité des épines dendritiques des neurones (Figure 15) (Norrholm et al., 2003).

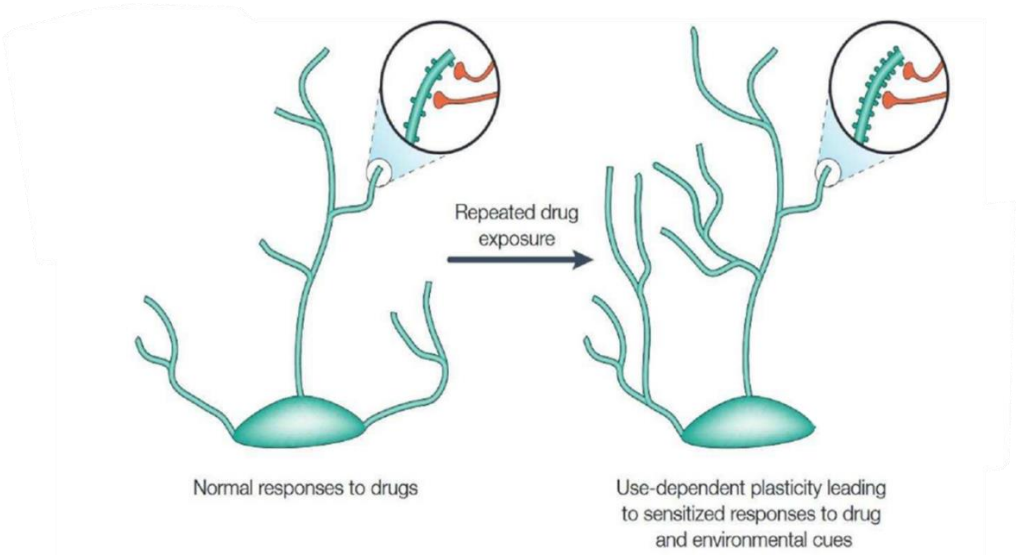


Figure 15 : Schématisation des neuroadaptations induites par la cocaïne sur l'arborisation dendritique des neurones (Nestler, 2001).

ii. Régulation de l'expression de la sous-unité GluR2

Cette sous-unité des récepteurs glutamatergiques AMPA est régulée par ΔFosB (Kelz et al., 1999). Par exemple, Isaac a observé que les neurones qui expriment la protéine ΔFosB ont un plus grand adressage à la membrane de récepteurs AMPA contenant la sous-unité GluR2 (Isaac et al., 2007). De plus, il a observé que ces neurones avaient une excitabilité réduite par rapport aux autres neurones, probablement à cause du changement de la composition des récepteurs AMPA (Isaac et al., 2007). En effet, la présence de GluR2 dans le récepteur AMPA réduit sa perméabilité aux ions calcium ce qui rend le neurone moins excitable (Isaac et al., 2007). Ainsi, Vialou et ses collaborateurs ont observé que l'expression de ΔFosB dans les MSNs du striatum était corrélée à une excitabilité réduite de la structure (Vialou et al., 2010). Ces résultats indiquent que ΔFosB joue un rôle dans les changements de l'efficacité synaptique et dans les neuroadaptations induites par les drogues.

Pour conclure, l'exposition prolongée à la cocaïne provoque des modifications moléculaires qui seraient directement responsables des neuroadaptations morphologiques et synaptiques déclenchées par les drogues et seraient impliquées dans les comportements observés dans l'addiction.

III. Similarités neurobiologiques entre l'addiction aux drogues et l'addiction à la nourriture

Parallèlement à l'identification des similarités comportementales entre l'addiction aux drogues d'abus et à la nourriture, des études ont cherché à identifier des points communs entre les perturbations neurobiologiques observées entre ces 2 troubles. Ici, nous détaillerons quelques similarités de perturbations neurobiologiques observées dans l'addiction aux drogues et celles observées à la suite d'une exposition à des aliments hyperpalatables.

A. Perturbations du système DAergique

Chez des personnes souffrant d'une addiction aux drogues, il a été observé par IRMf une diminution de la fonction DAergiques dans le striatum de consommateur chronique de cocaïne (Volkow et al., 2009, 1990). Cette diminution fonctionnelle était associée à une diminution de la densité de récepteurs DAergiques D2 dans le striatum (Volkow et al., 2009, 1990) qui persiste des mois après l'arrêt de consommation (Volkow et al., 2007). Chez les cocaïnomanes, la diminution des niveaux de récepteurs DAergiques D2 dans le striatum est associée à une diminution de la libération de DA induite par une récompense naturelle (Volkow et al., 2009). Volkow explique que cette diminution de la réactivité du système DAergique par les récompenses naturelles des patients addicts les prédisposeraient à rechercher la drogue dans le but d'activer temporairement le circuit de la récompense (Volkow et al., 2009). De ce fait, elle indique que la diminution des récepteurs DAergiques D2 pourrait être considérée comme un facteur de vulnérabilité à l'addiction (Volkow et al., 2009). Ces propos sont renforcés par des études précliniques qui ont montré que des niveaux élevés de récepteurs DAergiques D2 dans le NAc réduisaient la consommation d'alcool (Thanos et al., 2001) et l'auto-administration de cocaïne (Morgan et al., 2002).

Aussi, une étude clinique a indiqué que des sujets possédant des antécédents familiaux d'alcoolisme, mais qui n'étaient pas alcoolodépendants, présentaient un taux de récepteurs DAergiques D2 dans le striatum plus élevé que les sujets sans antécédents familiaux (Volkow et al., 2006). Cette dernière observation souligne les potentiels effets protecteurs des récepteurs D2 dans l'addiction aux drogues (Volkow et al., 2009).

Lors d'une consommation répétée d'aliments hyperpalatables, il a été observé chez l'Homme, par IRMf, une diminution de la réponse DAergique pour ce même type d'aliment (Stice et al., 2010; Stice and Yokum, 2016). Cette diminution de la réponse du système DAergique a été associée à une diminution de la densité des récepteurs DAergiques D2 dans le striatum (Stice et al., 2010; Stice and Yokum, 2016; Volkow et al., 2008). De plus, Stice et Yokum ont indiqué que la densité des récepteurs D2 était prédictive de la consommation d'aliments palatables et de la future prise de poids de l'individu (Stice et al., 2010; Stice and Yokum, 2016). Ceci soulignerait le fait que la diminution des récepteurs DAergiques D2 dans le striatum pourrait être considérée comme un facteur de vulnérabilité à l'addiction à la nourriture et serait responsable, en partie, de la consommation régulière d'aliments palatables et la prise de poids (Stice et al., 2010; Stice and Yokum, 2016).

Chez l'animal, Johnson et Kenny se sont intéressés à l'impact d'un régime hyperpalatable sur la réactivité du système DAergiques par stimulation intrastriatale chez le rongeur (Johnson and Kenny, 2010). Dans cette étude, ils ont observé qu'après un accès de 6 semaines à un régime hyperpalatable, les rongeurs avaient leurs seuils d'autostimulation plus élevés (Johnson and Kenny, 2010). Ce résultat indique que la réactivité du système DAergique et la sensibilité à une récompense ont diminué chez ces animaux (Johnson and Kenny, 2010). De plus, ils ont observé que les taux de récepteurs DAergiques D2 étaient diminués chez les rongeurs et que l'élimination des récepteurs D2 striataux, par injection virale, a favorisé le développement de déficits de la récompense ainsi que l'apparition d'une recherche d'aliments hyperpalatables (Johnson and Kenny, 2010). D'après ces observations, la diminution de la réactivité du système DAergique serait en partie due à une diminution des récepteurs D2 (Johnson and Kenny, 2010). Cette diminution faciliterait ainsi le développement de la recherche et de la consommation d'aliments hyperpalatables (Johnson and Kenny, 2010). Il semblerait donc qu'il existe une similarité entre les consommateurs réguliers de drogues et les consommateurs réguliers de nourritures hyperpalatables par rapport à la réactivité du système DAergique. De plus, les taux de récepteurs D2 dans le striatum semblent jouer un rôle commun dans ces 2 troubles.

B. Similarités neurobiologiques observées lors d'un sevrage

Pendant une abstinence à des drogues, il a été observé une émergence des symptômes de sevrage physiques ainsi que l'expression d'une anxiété (File et al., 1993 ; Koob, 1999). Chez le rat, l'apparition des signes d'anxiété pendant cette période de sevrage a été corrélée avec l'augmentation des taux de CRF dans l'AMG (Menzaghi et al., 1994; Richter and Weiss, 1999). De plus, une réduction de la fonction du CRF par des antagonistes réduit les signes d'anxiété provoqués par un sevrage de drogues chez le rat (Rassnick et al., 1993).

Lors d'une abstinence à un régime hyperpalatable, des similarités neurobiologiques au sevrage de drogues ont été observées (Cottone et al., 2009). Chez des rongeurs privés de leur accès intermittent à des aliments hyperpalatables, il a été observé une augmentation des taux de CRF dans l'AMG, ainsi que l'apparition de signes d'anxiété (Cottone et al., 2009). De plus, ces comportements anxieux ont pu être stoppés par l'administration d'antagoniste des récepteurs au CRF (Cottone et al., 2009).

Avena a aussi indiqué que le sevrage de drogues est associé à des modifications de l'équilibre DA/acétylcholine dans le NAc (Avena et al., 2009). En effet, durant un sevrage aux drogues, les taux de DA diminuent tandis que les taux acétylcholine augmentent (Rada et al., 2004, 2001, 1996). Des rats qui ont réalisé des épisodes de consommation de sucre possèdent aussi ce déséquilibre DA/acétylcholine après 36h de sevrage (Avena et al., 2008) ou après le déclenchement pharmacologique d'un sevrage par naloxone (Colantuoni et al., 2002). Ainsi, un sevrage d'aliments hyperpalatables peut provoquer des changements neurobiologiques à ceux observés dans l'abstinence aux drogues.

C. Similarités neurobiologiques observées lors du craving

Dans des études d'IRMf, des changements d'activités dans diverses structures cérébrales ont été observés dans l'addiction aux drogues. Par exemple, il a été observé qu'un désir de consommation de drogues augmentait l'activité des régions préfrontales impliquées dans l'évaluation des indices prédisant la récompense (CPFdl et CCA) (Brody et al., 2007; Garavan et al., 2000; Tapert et al., 2004).

Gearhardt et ses collaborateurs ont directement corrélé l'activité cérébrale de personnes souffrant d'une addiction aux drogues avec celles des patients diagnostiqués souffrant d'une addiction à la nourriture par l'YFAS. (Gearhardt et al., 2011). En effet, des patients positifs

aux tests de l'YFAS montraient aussi une hyperactivation du CPFdl et du CCA lors de l'anticipation d'une récompense alimentaire (Gearhardt et al., 2011). De plus, ils ont observé une diminution d'activité du COF latéral impliqué dans le contrôle inhibiteur, phénomène aussi retrouvé après une exposition aux drogues (Gearhardt et al., 2011). Ces observations montrent qu'il existe des similarités neurobiologiques entre l'exposition aux substances d'abus et l'exposition à la nourriture hyperpalatable. Néanmoins, les preuves cliniques et précliniques sont encore minces et cet axe d'étude doit être approfondi.

Pour conclure, ces observations indiquent qu'il peut exister des similarités neurobiologiques entre une consommation d'aliments hyperpalatables et une consommation de drogue. Il semblerait que les conséquences neurobiologiques soient similaires entre une personne souffrant d'une addiction à une substance d'abus et celle considérée comme souffrant d'une addiction à la nourriture. Néanmoins, en raison du nombre faible de preuves fournies par la littérature, il reste nécessaire d'augmenter le nombre d'études comparatives s'intéressant aux similarités ou aux différences neurobiologiques entre l'addiction aux drogues et l'addiction à la nourriture.

Chapitre 4 : Le cholestérol

I. Généralités sur le cholestérol

Le terme « cholestérol » a pour origine le grec « *kholê* » signifiant bile et « *sterros* » signifiant ferme. Le cholestérol fut identifié et purifié au XIXe siècle par un chimiste français, Eugène CHEVREUL, à partir de calculs biliaires. De formule brute $C_{27}H_{46}O$, la molécule de cholestérol comporte un noyau stéroïdien associé en bout de chaîne à une fonction hydroxyle, lui conférant des propriétés amphiphiles (Figure 16). Dans ce chapitre, nous détaillerons brièvement le métabolisme du cholestérol périphérique, puis nous détaillerons plus spécifiquement le métabolisme du cholestérol cérébral ainsi que ses fonctions dans le cerveau.

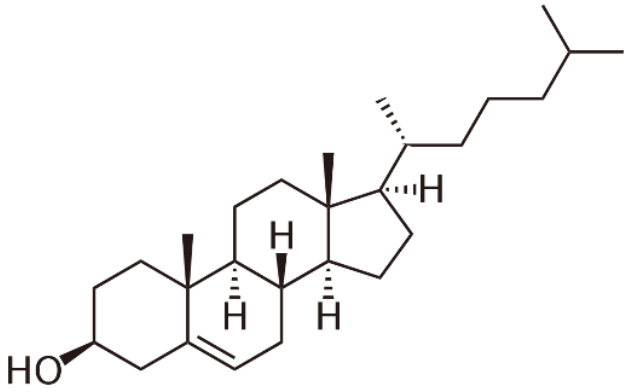


Figure 16 : Formule topologique de la molécule de cholestérol

A. Le cholestérol périphérique

Dans notre corps, le cholestérol peut avoir deux origines différentes : une origine exogène ou une origine endogène.

1. Origine exogène

Environ 30% du cholestérol de notre organisme est apporté par l'alimentation (Repa and Mangelsdorf, 2000). Le cholestérol exogène est récupéré au niveau de l'intestin, puis transporté vers le foie afin d'y être distribué dans l'organisme (Repa and Mangelsdorf, 2000). Une fois que le cholestérol est internalisé par les cellules, il peut générer soit du cholestérol libre soit des acides gras (Repa and Mangelsdorf, 2000). Une fois transformé en cholestérol libre, il peut soit intégrer les membranes plasmiques des cellules, soit être utilisé

pour être synthétisé en hormones stéroïdiennes, soit être stocké sous forme estérifiée ou encore réguler par rétrocontrôle négatif sa propre synthèse (Chang et al., 2006).

2. Origine endogène

a. Synthèse du cholestérol périphérique

Le cholestérol endogène périphérique est synthétisé par nos cellules (Repa and Mangelsdorf, 2000). Toutes les cellules de notre organisme possèdent la capacité de synthétiser du cholestérol, mais ce sont les cellules du foie qui en synthétisent la majorité (Repa and Mangelsdorf, 2000). Le cholestérol endogène périphérique est synthétisé dans le réticulum endoplasmique (Luu et al., 2015) à partir de molécules d'acétyl-CoA (Brown and Goldstein, 1980).

Les molécules d'acétyl-CoA vont subir environ une vingtaine de réactions enzymatiques pour donner du cholestérol (Brown and Goldstein, 1980). La première étape de la synthèse commence par la conversion de molécules d'acétyl-CoA par l'HMGCoA synthétase pour donner de « l'hydroxyméthylglutaryl-CoA » (HMGCoA.) L'HMGCoA subit ensuite une réduction par l'HMGCoA réductase (HMGCoAR) pour donner du mévalonate. La réaction par l'HMGCoAR est la réaction limitante de cette synthèse, c'est-à-dire qu'elle contrôle le rythme de l'ensemble de la chaîne réactionnelle (Rodwell et al., 1976). Le mévalonate subit plusieurs réactions qui vont donner tour à tour du 3-isopényl pyrophosphate, du farnésyl pyrophosphate, du squalène et enfin du lanostérol, qui correspond au premier stérol de la chaîne réactionnelle (Waterham and Wanders, 2000). Ce dernier peut conduire à deux voies parallèles : la voie de Bloch (Bloch, 1965) ou la voie de Kandusch-Russel (Kandutsch and Russell, 1960), qui impliquent les mêmes enzymes à l'exception de la première et la dernière (Ačimovič and Rozman, 2013). La voie Bloch donne comme précurseur du cholestérol le zymostérol alors que la voie Kandutsch donne le zymosténol (Ačimovič and Rozman, 2013) (Figure 17).

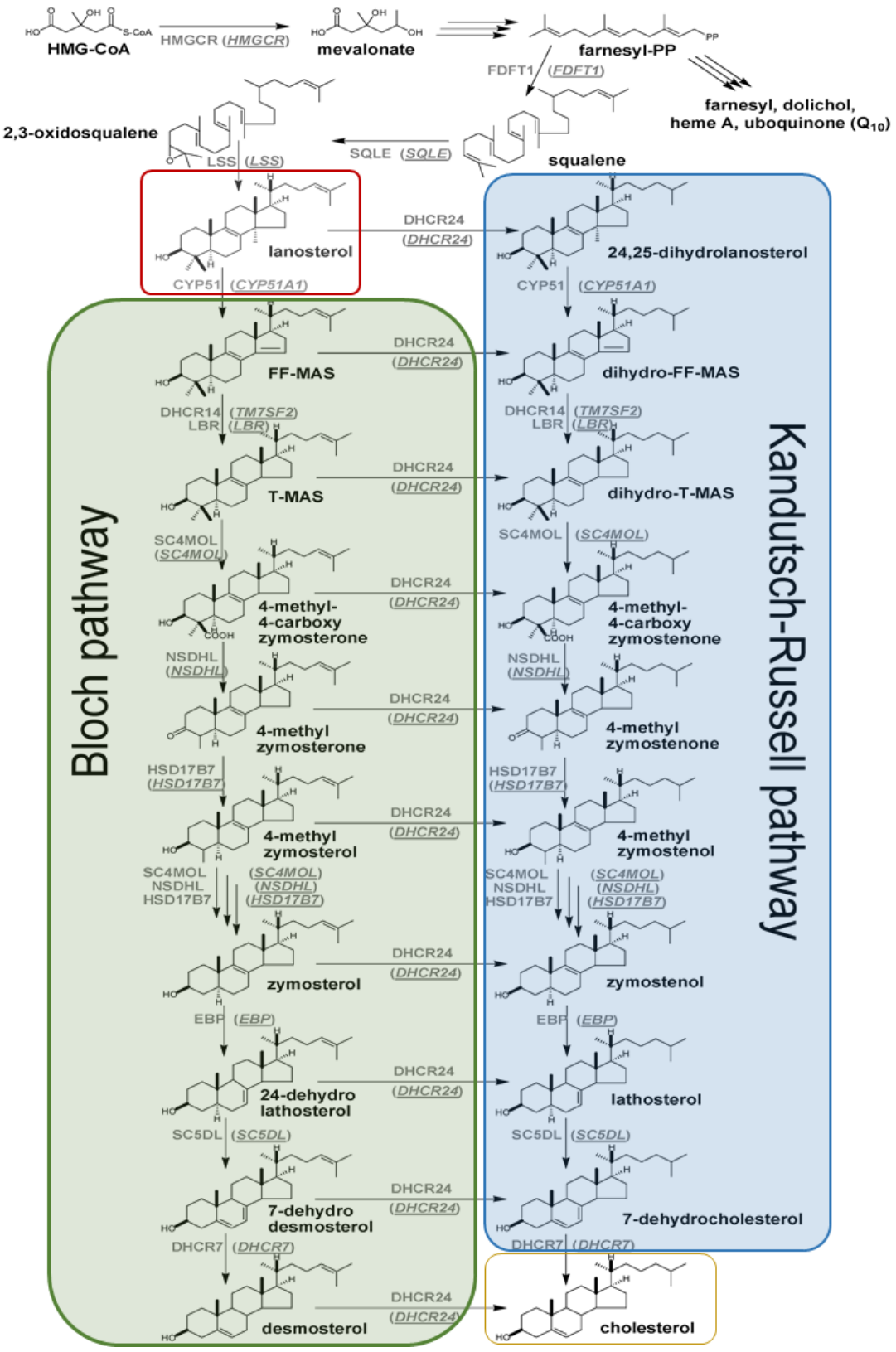


Figure 17 : Schématisation des différentes étapes pré-lanostérol et post-lanostérols conduisant à la synthèse de nouveau cholestérol

La voie Bloch est représentée dans l'encadré vert et la voie Kandutsch-Russell est représentée dans l'encadré bleu (Adapté de Ačimovič and Rozman, 2013).

b. Transport du cholestérol périphérique

Après sa synthèse, le cholestérol circule dans le sang, sous forme libre ou estérifiée, associé à des lipoprotéines. Il existe quatre types de lipoprotéines qui assurent le transport du cholestérol dans le sang : 1) les lipoprotéines de basse densité (les LDL), 2) les lipoprotéines de haute densité (les HDL), 3) les chylomycrons et enfin, 4) les lipoprotéines à très basse densité (VLDL) (Repa and Mangelsdorf, 2000).

Les LDL vont assurer le transport du cholestérol du foie vers les cellules de l'organisme, les HDL et VLDL prennent en charge le cholestérol dans les tissus extra-hépatiques pour le ramener vers le foie où il est dégradé. Enfin, les chylomicrons vont assurer le transport du cholestérol exogène de l'intestin vers les tissus adipeux périphériques en utilisant la voie lymphatique (Repa and Mangelsdorf, 2000).

c. Régulation de la synthèse du cholestérol systémique

Les taux périphériques de cholestérol sont finement contrôlés. En effet, nous verrons par la suite que le cholestérol participe à de nombreuses fonctions physiologiques, et sa régulation fine est nécessaire afin de ne pas perturber le bon fonctionnement de l'organisme (Dietschy et al., 1993; Pikuleva, 2006; van der Wulp et al., 2013). Plusieurs régulations ont été décrites dans la littérature : 1) au niveau de l'enzyme de synthèse principale (l'HMGCOA réductase), 2) au niveau de la balance entre LDL et HDL et 3) au niveau du stockage sous forme d'esters de cholestérol (Dietschy et al., 1993; Pikuleva, 2006; van der Wulp et al., 2013).

d. Élimination du cholestérol périphérique

L'élimination du cholestérol en excès dans les cellules peut se faire grâce aux HDL (Lewis and Rader, 2005), éliminé au niveau du foie dans la bile sous forme d'acide biliaire ou de cholestérol libre, puis excrété par les fèces (Chang et al., 2006). De plus, le cholestérol en excès dans l'organisme peut être oxydé par l'intermédiaire des cytochromes, puis il est transformé en acide biliaire après son passage dans l'intestin.

B. Le cholestérol cérébral

Le cholestérol cérébral représente environ 23% du cholestérol total de notre organisme alors que le cerveau ne représente que 2% de notre masse corporelle (Dietschy, 2009). Il s'agit principalement de cholestérol non estérifié dont la majorité se trouve dans les gaines de myéline (Dietschy, 2009). Le reste du cholestérol se trouve dans les membranes. Son renouvellement complet est d'environ 5 ans dans la myéline et de 5 à 10 mois dans les membranes des neurones et des astrocytes (Andersson et al., 1990; Davison, 1965).

Dans notre organisme, le cholestérol cérébral et le cholestérol que l'on trouve en périphérie sont indépendants (Russell et al., 2009). En effet, la présence de la barrière hématoencéphalique (BHE) bloque le passage du cholestérol entre le système périphérique et cérébral en raison de sa forte propriété hydrophobe (Russell et al., 2009). De plus, il n'existe pas de transport pouvant assurer le passage du cholestérol du sang vers le cerveau et inversement (Turley et al., 1996). Par conséquent, l'apport de nourriture riche en cholestérol ne semble donc pas avoir d'impact sur le taux de cholestérol cérébral (Meaney et al., 2000). Une étude a, en effet, montré qu'une alimentation enrichie en cholestérol modifie les taux de cholestérol systémiques sans modifier significativement sur les taux dans le cerveau de rat et de souris (Meaney et al., 2000). De ce fait, le cerveau doit assurer ses propres synthèse, régulation et élimination du cholestérol (Dietschy, 2009; Dietschy and Turley, 2004).

1. Synthèse cérébrale du cholestérol

a. La synthèse à proprement dite

Dans le cerveau, la synthèse du cholestérol n'est pas assurée par le même type cellulaire durant le développement et à l'âge adulte (Saher and Stumpf, 2015). Pendant l'embryogenèse, la synthèse est principalement assurée par les neurones. Pendant la myélinisation, elle se fait au niveau des oligodendrocytes et à l'âge adulte, la synthèse est principalement assurée par les astrocytes (Saher and Stumpf, 2015). En termes de capacité de synthèse, les oligodendrocytes génèrent davantage de cholestérol que les astrocytes qui, eux, possèdent une capacité de synthèse supérieure aux neurones (van der Wulp et al., 2013).

La synthèse du cholestérol cérébral utilise les mêmes étapes que celles trouvées dans le foie et se déroule aussi dans le réticulum endoplasmique (Rodwell et al., 1976). Comme en périphérie, ce stérol pourra être utilisé dans 2 voies distinctes (Kandutsch-Russel et Bloch) pour fabriquer du cholestérol. Dans le cerveau, ces voies sont préférentiellement utilisées par certains types cellulaires (Pfrieger and Ungerer, 2011). Les neurones utilisent plutôt la voie de Kandutsch-Russel tandis que les astrocytes utilisent plutôt la voie de Bloch (Pfrieger and Ungerer, 2011).

b. La régulation de la synthèse du cholestérol

La régulation de la synthèse de cholestérol cérébral se fait par phosphorylation ou déphosphorylation de l'HMGCoAR (Burg and Espenshade, 2011). En effet, la phosphorylation de l'HMGCoAR par la protéine kinase dépendante de l'AMP cyclique (PKA) va inhiber son activité tandis que la déphosphorylation par la phosphatase PP2A va activer la synthèse (Friesen and Rodwell, 2004). Cela a pour conséquence de modifier rapidement les taux de cholestérol cérébraux synthétisés (Friesen and Rodwell, 2004).

L'HMGCoAR peut aussi être régulée au niveau transcriptionnel et post-transcriptionnel par différents acteurs. La régulation transcriptionnelle implique la protéine SCAP (pour « SREBP Cleavage Activating Protein »), la protéine SREBP (pour « Sterol Regulatory Element-Binding Protein ») (Stark et al., 1992), ainsi que les récepteurs LXR (pour « Liver X Receptor ») (Peet et al., 1998), et la régulation post-transcriptionnelle implique l'« Insulin Induced Gene » aussi appelé INSIG (Song et al., 2005a, 2005b).

i. La régulation de la synthèse par les protéines SCAP et SREBP

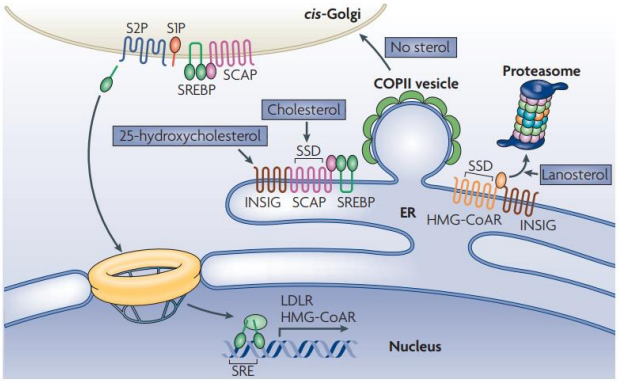


Figure 18 : La régulation de la synthèse par les protéines SCAP et SREBP.

Lorsque les taux de stérols dans le réticulum endoplasmique (ER) sont suffisants, la protéine INSIG bloque l'entrée du complexe SCAP-SREBP dans les vésicules COPII. SREBP est transportée vers le Golgi et provoque la libération d'un facteur de transcription qui va induire la transcription de la HMGCoA réductase et le récepteur de lipoprotéines de basse densité (LDLR) ce qui augmentera les taux de cholestérol. L'HMGCoA réductase est aussi régulée par la liaison avec INSIG en post-transcriptionnel et conduit à sa dégradation par le protéasome (par Ikonen, 2008).

La SCAP est une protéine qui permet le transport de la protéine SREBP du réticulum endoplasmique vers l'appareil de Golgi (Sakai et al., 1997; Stark et al., 1992). Ce transport se fait par l'intermédiaire des vésicules COPII (pour « coat protein complex II »), des vésicules qui sont composées des protéines Sec23/24 et d'une petite GTPase (Sakai et al., 1997). La protéine SREBP est un facteur de transcription qui a pour effet d'activer l'expression des gènes codant les enzymes de synthèse du cholestérol (Stark et al., 1992). La protéine SCAP et la protéine SREBP peuvent réguler la synthèse du cholestérol, car ces protéines sont sensibles aux métabolites du cholestérol, les oxystérols, grâce à un domaine senseur de stérol (Brown and Goldstein, 1997).

Dans le cas où le taux de cholestérol cérébral baisserait, la protéine SREBP stimule la synthèse de cholestérol en se fixant à l'extrémité N-terminal de la protéine SCAP (Ikonen, 2008). SCAP va alors recruter le complexe vésiculaire de COPII et favoriser la migration de la protéine SREBP vers l'appareil de Golgi. SREBP est ensuite clivée et migre dans le noyau pour se fixer au niveau du promoteur des gènes de synthèse, la SRE (pour « Sterol Regulatory Response »). La fixation sur le promoteur SRE a pour effet d'induire la transcription de la HMGCoAR et du récepteur aux LDL, ce qui augmentera la synthèse et les taux de cholestérol cérébraux (Goldstein et al., 2006) (Figure 18).

En revanche, dans le cas où les taux de cholestérol cérébraux seraient élevés, le cholestérol se lie à la protéine SREBP et change sa conformation. Cela provoque la formation d'un complexe protéique SCAP-SREBP pouvant se lier à la protéine INSIG, une protéine transmembranaire du RE. Le complexe protéique SCAP-SREBP-INSIG va alors s'accumuler dans le réticulum endoplasmique et la protéine SREBP ne pourra pas déclencher la transcription des gènes impliqués dans la synthèse du cholestérol (Espenshade and Hughes, 2007; Goldstein et al., 2006).

ii. La régulation de la synthèse par les récepteurs LXR

Au niveau transcriptionnel, la synthèse du cholestérol peut être aussi contrôlée par les récepteurs LXR. Ces récepteurs ont 2 isoformes : LXR de type α et LXR de type β (Courtney and Landreth, 2016). Les LXRα sont principalement localisés au niveau du foie, des reins, de la rate, des tissus adipeux et de l'intestin grêle. Quant aux récepteurs LXRβ, ils sont exprimés dans le foie et le cerveau (Bełtowski and Semczuk, 2010; Jamroz-Wiśniewska et al., 2007). Ce sont les LXR de type β qui assurent la régulation du cholestérol dans le cerveau. Plusieurs études montrent que les LXR inhibent la biosynthèse du cholestérol (Peet et al., 1998; Wang et al., 2008). L'expression de SREBP2 et de l'HMGCoAR sont augmentées dans des souris LXR *knock-out*, et l'expression de certains gènes cibles de SREBP2 le sont également, comme l'HMG-CoAR (Peet et al., 1998). La déplétion de ces récepteurs par répression transcriptionnelle a pour effet d'augmenter l'activité de l'HMGCoAR et donc la synthèse de cholestérol augmente (Wang et al., 2008) (Figure 19).

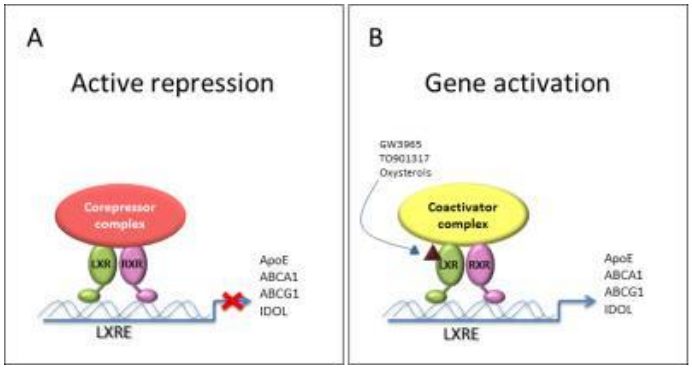


Figure 19 : Régulation par les récepteurs LXR.

A) en absence du ligand, le complexe LXR / RXR se lie à l'ADN au niveau des éléments de réponse LXR (LXRE), où ils interagissent avec des co-répresseurs. (B) En présence de ligands, les LXR changent de conformation ce qui les dissocient des co-répresseurs, ce qui permet le recrutement du complexe co-activateur et ainsi initie la transcription (Courtney and Landreth, 2016).

iii. La régulation post-traductionnelle de l'HMGCoA réductase

La synthèse de cholestérol est aussi régulée par des modifications post-traductionnelles de l'HMGCoAR en influençant sa demi-vie dans le cerveau. En effet, la demi-vie de l'enzyme dépend de la quantité de stérol présent dans la cellule (Song et al., 2005b, 2005a). En absence de stérols, l'HMGCoAR possède une demi-vie d'environ de 12h. Alors qu'en présence de stérols et de ses dérivés, sa demi-vie est réduite à environ 1h (Song et al., 2005b, 2005a). Cette diminution est expliquée par sa régulation par la protéine INSIG et une voie d'ubiquitination (Song et al., 2005b, 2005a). S'il y a une accumulation le lanostérol, on observe l'augmentation de fixation à INSIG. Ce complexe va entraîner l'ubiquitination de l'HMGCoAR et diriger l'enzyme vers le protéasome où elle sera dégradée (Song et al., 2005b, 2005a) (Figure 20).

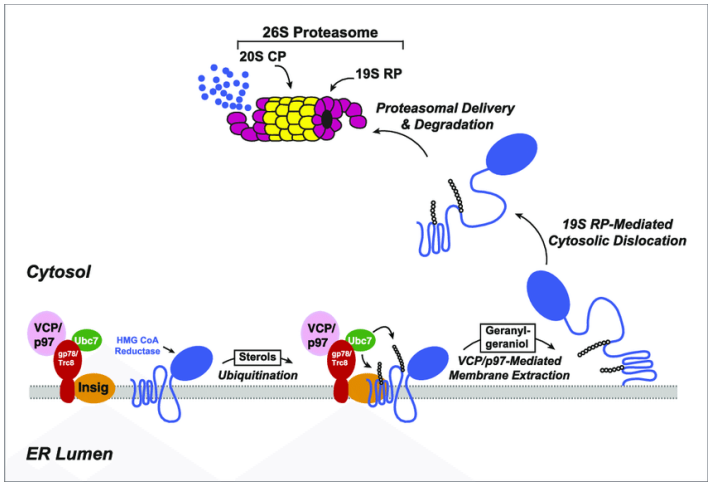


Figure 20 : Régulation post-traductionnelle de l'HMGCoA réductase par INSIG et le protéasome (Schumacher et al., 2015).

2. Transport du cholestérol des astrocytes vers les neurones

Chez l'adulte, après sa synthèse dans les astrocytes, le cholestérol est excrété en association à des apoprotéines (Lane-Donovan et al., 2014; Mauch et al., 2001). Les apoprotéines principalement exprimées dans les astrocytes sont l'apoprotéine E, J et D (Pfrieger and Ungerer, 2011; Vitali et al., 2014; Xu et al., 2006) et la plus abondante est l'APO-E (Liao et al., 2017). Le transporteur majoritairement impliqué dans l'excrétion du cholestérol est le transporteur ATP binding cassette 1 (ABCA1) (Koldamova et al., 2003). Ce transporteur favorise la sortie d'APO-E et la formation d'HDL riche en APO-E (Ito et al., 2014; Oram, 2003) (Figure 21).

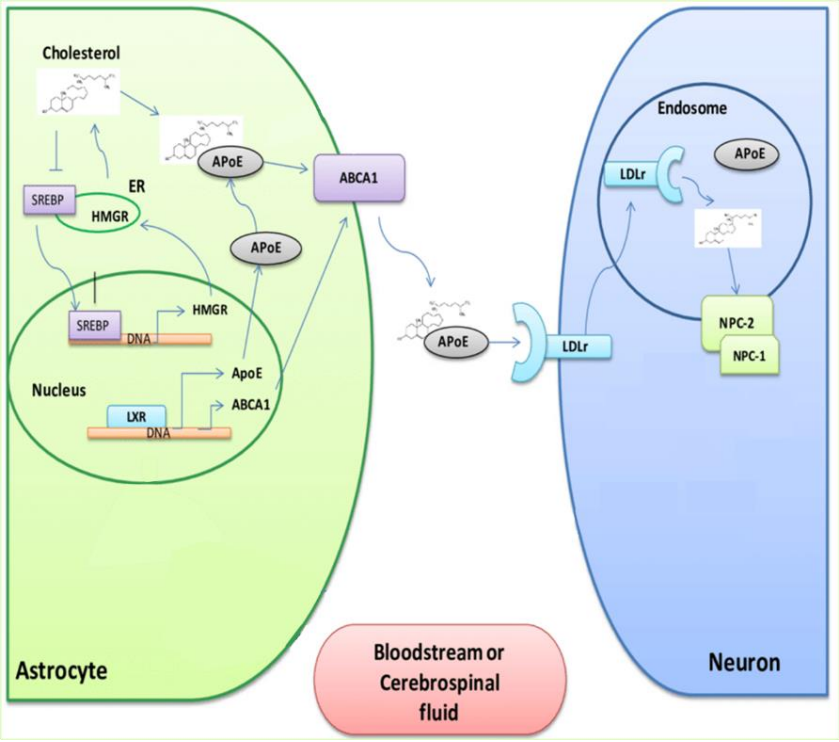


Figure 21 : Schématisation du transport intracellulaire du cholestérol de l'astrocyte au neurone.

ApoE : apolipoprotéine E ; ABCA1 : ATP Binding Cassette A1 ; CYP46 : cholesterol 24S-hydroxylase ; ER : Réticulum endoplasmique ; HMGR : 3ß-hydroxy3ß-methylglutaryl CoA reductase ; LXR : Liver X Receptors ; LDLr : récepteur des lipoprotéines de basse densité ; NPC1 : protéine Niemann-Pick type C1 ; NPC2 : protéine Niemann-Pick type C2 ; SREBP : Sterol Regulatory Element Binding Protein (Lecis and Segatto, 2014)

3. Internalisation, adressage et stockage du cholestérol

Une fois dans l'espace extracellulaire, le cholestérol peut être internalisé dans les neurones grâce aux récepteurs aux LDL (Lane-Donovan et al., 2014). Les récepteurs aux LDL se trouvent au niveau de domaines transmembranaires riches en clathrines (Lane-Donovan et al., 2014). Une fois que le récepteur a lié les LDL, le cholestérol est internalisé par endocytose.

Pour l'adressage et le stockage du cholestérol dans les neurones, 2 protéines sont essentielles : les protéines Niemann Pick 1 (NPC-1) et 2 (NPC-2) (Figure 21) (Cheruku et al., 2006; Liscum and Munn, 1999; Sleat et al., 2004). En effet, chez des souris mutées, la déplétion de NPC-1 et 2 conduits à une accumulation de cholestérol dans les neurones (Sleat et al., 2004). Même si les mécanismes restent incertains, il a été proposé que NPC-2 transférerait le cholestérol à la protéine NPC-1. NPC-1 induirait ainsi l'export du cholestérol en dehors du lysosome et son stockage à la membrane (Cheruku et al., 2006; Liscum and Munn, 1999).

4. Élimination du cholestérol

Lorsque le cholestérol est en excès dans les cellules, il est dégradé, puis excrété du cerveau afin d'éviter son accumulation. L'élimination est assurée majoritairement par l'activité de la cholestérol-24-hydroxylase, qui hydroxyle le cholestérol en 24S-hydroxycholesterol (Lund et al., 2003). Ce métabolite est plus hydrophile, et il est capable de traverser la BHE afin d'être excrété du cerveau (Lund et al., 1999; Mast et al., 2017; Russell et al., 2009). La cholestérol-24-hydroxylase est codée par le gène CYP46A1 (Lund et al., 1999). Chez l'Homme, le gène CYP46A1 se situe sur le chromosome 14q32.1 (Lund et al., 1999). Le contrôle transcriptionnel de la CYP46A1 est assuré par des facteurs de transcription de la famille Sp. Un recrutement des facteurs Sp3 et Sp4 sur le promoteur de CYP46A1 stimule sa transcription (Milagre et al., 2012), qui est aussi régulée par des méthylations et l'acétylation des histones (Moutinho et al., 2016). Ainsi, des inhibiteurs d'histone désacétylase et des agents déméthylants provoquent une expression de la CYP46A1 (Milagre et al., 2012).

La cholestérol-24-hydroxylase est presque exclusivement exprimée dans le cerveau (Lund et al., 1999) et en plus faible quantité dans le foie (Milagre et al., 2008). Elle est localisée dans la membrane du réticulum endosplasmique des neurones (Ramirez et al., 2008) et est particulièrement abondante dans les neurones du cortex, les neurones pyramidaux et interneurones de l'hippocampe, ainsi que dans les interneurones et cellules de Purkinje du cervelet (Ramirez et al., 2008).

De façon intéressante, il a été montré que les niveaux d'expression du cholestérol 24-hydroxylase impactent les niveaux d'expression des autres enzymes de la voie métabolique du cholestérol afin de maintenir une concentration en cholestérol cellulaire normale (Hudry et al., 2010; Lund et al., 2003; Mast et al., 2017). Ainsi, chez des rongeurs *knock out* n'exprimant pas de CYP46A1 fonctionnelle, les taux de cholestérol ne sont pas impactés, par contre le niveau l'expression de l'HMGCoAR est diminuée (Lund et al., 2003). Inversement, une surexpression de la CYP46A1 chez des souris transgéniques augmente les taux des métabolites sans affecter les concentrations de cholestérol (Hudry et al., 2010) et augmente aussi la synthèse de nouvelles molécules de cholestérol (Mast et al., 2017). En revanche, des niveaux anormaux de CYP46A1 peuvent avoir des conséquences sur plusieurs fonctions de l'organisme, même si ces derniers sont compensés par une modification de l'expression des

autres enzymes (Kotti et al., 2006; Lund et al., 2003). En effet, dans un modèle de souris *knock out* de la CYP46A1, bien que les taux de cholestérol soient normaux (Lund et al., 2003), la diminution de la synthèse du cholestérol a provoqué des déficiences cognitives, un défaut dans l'apprentissage et des déficits de potentialisation à long terme dans l'hippocampe (Kotti et al., 2006).

Ces observations nous permettent de conclure qu'il existe une régulation extrêmement fine de la synthèse et de la dégradation du cholestérol pour avoir un taux de cholestérol cérébral physiologique. Il semblerait que, même si la concentration de cholestérol cérébral est normale, le niveau d'expression de la CYP46A1 a un impact sur le fonctionnement cérébral et provoque des perturbations cognitives comme des défauts dans l'apprentissage. Par ailleurs, il a été observé que les niveaux d'expression de la cholestérol-24-hydroxylase augmentent avec l'âge (Lund et al., 1999; Martin et al., 2011), ce qui pourrait expliquer l'augmentation des risques de développer des perturbations cognitives en vieillissant.

Enfin, une faible élimination du cholestérol est assurée par le transporteur ABCA1 (Gosselet et al., 2009; Strazielle and Ghersi-Egea, 2013). Ce transporteur est exprimé par les cellules endothéliales constituant les capillaires cérébraux. Il a été observé un transport par ABCA1 du cholestérol vers la circulation sanguine périphérique par l'intermédiaire du liquide céphalo-rachidien (LCR) (Gosselet et al., 2009; Strazielle and Ghersi-Egea, 2013).

II. Rôle du cholestérol dans diverses fonctions cérébrales

Le cholestérol joue divers rôles dans le bon fonctionnement du cerveau. Dans cette partie, nous détaillerons différents rôles physiologiques du cholestérol, notamment son rôle de composant de la myéline, son rôle dans la fluidité et la rigidité membranaire et son implication dans la communication neuronale.

A. Le cholestérol est le constituant principal de la myéline

Pendant le développement neuronal, les oligodendrocytes étendent leurs membranes pour isoler les axones en constituant la gaine de myéline (Dietschy, 2009; Liscum and Munn, 1999). Le cholestérol représente environ 25 % de la gaine de myéline, ce qui en fait l'un de ses constituants principaux. De ce fait, il participe à la bonne isolation électrique et permet

au potentiel d'action de se propager rapidement entre deux nœuds de Ranvier en empêchant la diminution de l'intensité de la dépolarisation. Le cholestérol participe ainsi à la transduction du signal nerveux (Morell and Jurevics, 1996).

Pendant le processus de myélinisation, la synthèse du cholestérol est essentiellement assurée par les oligodendrocytes. Ainsi, il a été observé chez des souris dont le gène Fdft1, gène impliqué dans la synthèse du cholestérol, a été muté dans les oligodendrocytes, des perturbations motrices comme des tremblements et de l'ataxie (Saher et al., 2005). Néanmoins, il est intéressant de noter que la myélinisation n'était pas totalement absente chez ces souris. En effet, Saher a observé une augmentation de l'APO-E, ainsi qu'une synthèse augmentée de cholestérol dans les astrocytes (Saher et al., 2005).

B. Le rôle du cholestérol dans la fluidité et la rigidité membranaire

En raison de sa structure, et de son positionnement dans la bicouche lipidique, les molécules de cholestérol jouent un rôle important dans la rigidité et la fluidité membranaire (Fernández-Pérez et al., 2018; Gimpl et al., 1997; Sankaram and Thompson, 1990). En effet, le cycle hydrocarboné du cholestérol dans la bicouche réduit la dynamique et la fluidité de la membrane (Sankaram and Thompson, 1990). Une diminution du cholestérol dans les membranes par des outils pharmacologiques a pour effet d'augmenter la fluidité de la membrane, alors qu'une supplémentation de cholestérol *in vitro* dans des cultures de neurones a pour effet de la diminuer (Fernández-Pérez et al., 2018; Gimpl et al., 1997).

C. Le rôle du cholestérol dans la communication neuronale

Le cholestérol joue aussi un rôle crucial dans la communication neuronale, car il participe à la régulation de plusieurs processus directement impliqués dans les changements de communication neuronale comme la stabilité des radeaux lipidiques ou encore l'ancrage des vésicules synaptiques à la membrane.

1. Contrôle de la communication neuronale en présynaptique par les radeaux lipidiques

Dans la membrane plasmique, plus de 60 % de cholestérol (Liscum and Munn, 1999) est trouvé dans des domaines riches en cholestérol que l'on appelle des radeaux lipidiques.

Dans ces radeaux lipidiques, le cholestérol a pour fonction de participer à la stabilisation et à l'organisation membranaire (Ikonen, 2008; Simons and Toomre, 2000) (Figure 22).

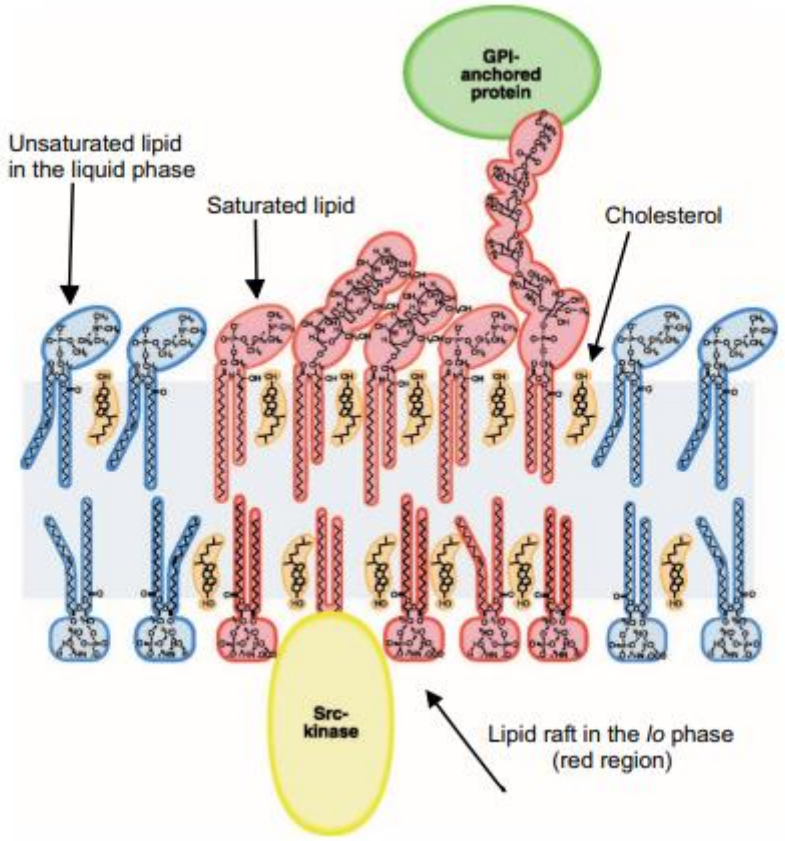


Figure 22 : Schématisation d'un radeau lipidique (lipid raft)

Le cholestérol s'associe aux lipides saturés pour former des domaines riches en cholestérol dans la phase liquide ordonnée (région rouge). Ces radeaux lipidiques flottent librement dans un ensemble de lipides insaturés présents dans la phase liquide (région bleue). (Cournia, 2006).

Les radeaux lipidiques sont composés de glycosphingolipides, de phospholipides et de cholestérol (Lamaida et al., 1997). Ces domaines lipidiques sont impliqués dans la compartimentation des protéines. Ils contribuent à l'organisation spatiale et temporelle de la signalisation cellulaire. Dans le cerveau, il s'agit de zones essentielles à la transmission de signaux entre neurones et donc au bon fonctionnement des réseaux neuronaux (Debruin and Harauz, 2007; Gielen et al., 2006). En présynaptique ces radeaux participent à l'exocytose des neurotransmetteurs (Salaün et al., 2004). Durant l'exocytose, la création de pores de fusion est essentielle à la libération des neurotransmetteurs (Lindau and Alvarez de Toledo, 2003). Ces pores permettent de relier les compartiments intracellulaires à la membrane et une diffusion rapide du cholestérol favorise la formation des pores de fusions (Koseoglu et al., 2011). De plus, dans une vésicule, on trouve près de 40 % de cholestérol, qui

a pour fonction de stabiliser l'incurvation de la membrane (Wang et al., 2000). En effet, une déplétion de cholestérol réduit les taux d'exocytose des neurones (Linetti et al., 2010).
Aussi, le cholestérol jouerait un rôle dans le maintien des radeaux lipidiques et le contrôle de la localisation de plusieurs protéines comme des transporteurs (Head et al., 2014). Par exemple, la densité de transporteur responsable de la recapture de la DA (DAT) disponible à la membrane est contrôlée par les lipides de la membrane et par des protéines se trouvant dans les radeaux lipides (Sorkina et al., 2013). En effet, la densité de ce transporteur semblerait être influencée par des nanodomaines dépendants du cholestérol et une déplétion de ce dernier réduirait la densité de DAT présent (Zeppelin et al., 2018).

2. Contrôle de la communication neuronale en postsynaptique

En postsynaptique, la majorité des récepteurs sont localisés dans des radeaux lipidiques. Les radeaux lipidiques participent à l'organisation des récepteurs exprimés à la membrane (Sebastião et al., 2013; Suzuki et al., 2011).
Plusieurs études ont reporté un rôle du cholestérol dans l'organisation des récepteurs à la membrane cellulaire (Hering et al., 2003; Hou et al., 2008). Par exemple, une réduction pharmacologique de cholestérol inhibe la translocation des récepteurs AMPA, leurs expressions à la membrane et augmente l'internalisation de ces récepteurs dans le neurone (Hering et al., 2003; Hou et al., 2008). D'après ces observations, le cholestérol participe à la translocation des récepteurs, à leurs expressions à la membrane et sa présence limite l'internalisation de ces récepteurs par la cellule.

Le cholestérol, étant impliqué dans l'expression des récepteurs à la membrane synaptique, peut avoir un impact sur la neurotransmission en général. En effet, une réduction pharmacologique aiguë des taux de cholestérol sur des cultures de neurones hippocampique a pour effet de potentialiser la fonction postsynaptique et augmenter la transmission du signal médiée par les récepteurs AMPA (Brachet et al., 2015). Le résultat inverse a été observé à la suite d'une supplémentation de cholestérol sur ces mêmes cultures cellulaires qui a eu pour effet d'induire une diminution de la transmission du signal (Brachet et al., 2015).

L'activité des récepteurs peut aussi être modifiée par les niveaux de cholestérol (Korinek et al., 2015; Nothdurfter et al., 2013). En effet, une diminution des taux de cholestérol par méthyl-β-cyclodextrine réduit la réponse des récepteurs GABA-A induite par un agoniste (Nothdurfter et al., 2013) et la réponse des récepteurs (Korinek et al., 2015). Cela a pour conséquence de réduire les déclenchements de potentialisations à long terme (LTP) (Korinek et al., 2015). De plus, l'ajout de statines, molécule qui inhibe la HMGCoAR, sur des coupes de neurones de l'hippocampe favorise la transmission synaptique médiée par les récepteurs NMDA avec une distribution de la sous unité GluN2B à la membrane (Parent et al., 2014). Enfin, de manière intéressante, il a été reporté que la stimulation des récepteurs NMDA à la membrane diminue les taux de cholestérol et active le trafic des récepteurs AMPA vers la membrane postsynaptique (Ao et al., 2012; Brachet et al., 2015). Ces modifications ont pour conséquence de favoriser les LTP (Ao et al., 2012; Brachet et al., 2015).

Pour résumer la partie de l'impact du cholestérol sur la communication neuronale, les résultats observés indiquent que le cholestérol joue un rôle important dans la neurotransmission en raison de son implication dans la formation de vésicule synaptique et l'exocytose des neurotransmetteurs à la fente synaptique, mais aussi en raison de son rôle dans le contrôle de l'adressage et de l'activité des récepteurs au niveau des radeaux lipidiques post-synaptiques. De ce fait, le cholestérol jouerait un rôle dans la communication neuronale et dans la plasticité cérébrale.

III. Implication du métabolisme du cholestérol dans le vieillissement et les neuropathologies

Plusieurs observations suggèrent que l'homéostasie du cholestérol cérébral serait impliquée dans le vieillissement ainsi que dans des neuropathologies comme des maladies hypomyélinisantes (le syndrome de Smith Lemli-Optiz et la maladie de Niemman Pick type C), des maladies neurodégénératives (la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson et la maladie de Huntington) et dans certaines maladies psychiatriques, dont l'addiction aux drogues d'abus.

A. Implication du cholestérol dans le vieillissement

Au cours du vieillissement, plusieurs changements dans le métabolisme du cholestérol ont été mis en évidence. Chez l'Homme, le cholestérol composant la myéline diminue d'environ 50% avec l'âge (Svennerholm et al., 1997). De la même façon, des études montrent qu'avec l'âge, la concentration de cholestérol dans les synaptosomes de souris diminue (Sodero et al., 2011). Dans l'hippocampe et le cortex de rat, Martin a observé au cours du vieillissement, des diminutions des taux cellulaires des précurseurs du cholestérol, le lanostérol, le lathostérol et le desmostérol (Martin et al., 2011, 2008). Dans une autre étude utilisant des cultures primaires de neurones hippocampiques, il a été observé que les neurones au stade âgé ont une perte progressive de cholestérol membranaire (Smiljanic et al., 2014). Cette perte de cholestérol pourrait expliquer le déclin cognitif observé avec l'âge (Murman, 2015) ou le déclin cognitif qui est observé dans certaines pathologies liées à de faibles taux de cholestérol, comme dans le syndrome de Smith Lemli-Optiz que nous allons détailler par la suite.

B. Le syndrome de Smith Lemli-Optiz (SLOS)

Le syndrome de Smith Lemli-Optiz (SLOS) est une maladie autosomique récessive (Nowaczyk and Irons, 2012). Elle est provoquée par un déficit d'expression de la 7-déhydrocholestérol réductase (7-DHCR), une enzyme de la synthèse du cholestérol cérébral (Nowaczyk and Irons, 2012). Les principaux symptômes de la maladie sont : un retard de croissance, une polydactylie (présence de plus de 5 doigts ou orteils à chaque membre), une microcéphalie, une fusion de certains orteils, une fente palatine (malformation du visage qui peut scinder la lèvre supérieure jusqu'au palais), des organes génitaux sous-développés pour les garçons, ainsi qu'un retard mental (Nowaczyk and Irons, 2012). Cette pathologie affecte le développement du cerveau, les performances cognitives et émotionnelles, ainsi que le sommeil (Nowaczyk and Irons, 2012). En raison de son activité enzymatique, un déficit en 7-DHCR provoque chez ces patients une diminution de la quantité de cholestérol ainsi qu'une accumulation en 7-déhydrocholestérol (7-DHC) dans le cerveau, dans les tissus périphériques et dans le plasma (Nowaczyk and Irons, 2012). De ce fait, la diminution des taux de cholestérol et l'augmentation de 7-DHC provoquent une diminution du développement physique du patient en général ainsi qu'un déficit cognitif.

On constate aussi, dans la SLOS, des défauts de la voie de signalisation de *sonic hedgehog* (SHH), une signalisation clé dans l'organogénèse et la formation des doigts et orteils (Nowaczyk and Irons, 2012). Il a été proposé un rôle du cholestérol dans la perturbation de cette voie, car l'activité de SHH nécessite la liaison de molécule de cholestérol (Nowaczyk and Irons, 2012). De plus, le cholestérol et le 7-DHC ont des structures et des propriétés physiques et chimiques assez similaires. Ainsi, le 7-DHC est susceptible de prendre la place du cholestérol manquant dans les membranes (Staneva et al., 2010). Cette substitution de cholestérol par le 7-DHC a pour conséquence de provoquer une augmentation de la fluidité membranaire, une instabilité dans le maintien de la courbure des membranes et un changement de la composition des radeaux lipidiques. Cela aura pour effet de perturber les processus de transport vésiculaire et d'altérer les interactions protéiques (Staneva et al., 2010).

Pour résumer, l'accumulation de 7-DHC et la diminution des taux de cholestérol dans l'organisme, qui sont provoquées par cette maladie, ont la capacité de générer des malformations physiques ainsi que de provoquer un retard sur le développement cérébral et un déclin cognitif.

C. La maladie de Niemann Pick de type C

La maladie de Niemann Pick de type C est une maladie lysosomale avec une atteinte neuronale progressive et une hépatosplénomégalie (c'est-à-dire une hypertrophie du foie et de la rate) (Pentchev et al., 1994). Cette maladie est caractérisée par une importante diminution du nombre global de neurones dans le cerveau, en particulier des cellules du Purkinje dans le cervelet. L'origine de cette maladie est une mutation génétique des protéines NPC-1 et NPC-2 (Pentchev et al., 1994). Comme il a été décrit précédemment, ces protéines sont impliquées dans le transport du cholestérol hors des endosomes et des lysosomes ainsi que dans son stockage dans la cellule (Cheruku et al., 2006; Liscum and Munn, 1999; Sleat et al., 2004). La déficience en NPC-1 et 2 chez le patient provoque une accumulation du cholestérol dans les endosomes et lysosomes, une accumulation qui est toxique pour les cellules (Yu et al., 2011). Une étude a reporté qu'au niveau cérébral, la déplétion du gène NPC-1, dans les neurones seulement, provoque des perturbations comportementales tandis que la même déplétion au niveau des astrocytes n'a pas de

conséquence (Yu et al., 2011). Ces observations indiquent que l'accumulation du cholestérol dans les neurones serait la cause de la pathologie et les troubles comportementaux associés.

D. La maladie de Parkinson

La maladie de Parkinson est une maladie neurodégénérative progressive touchant les neurones dopaminergiques. Elle est caractérisée par plusieurs troubles dont les plus importants sont des troubles moteurs. La pathologie est associée à la perte des neurones dopaminergiques de la substance grise et l'agrégation de l'α-synucléine dans les corps de Lewy (Gazewood et al., 2013). Même si l'implication du cholestérol dans cette pathologie reste sujette à débat, le cholestérol semble participer à l'agrégation de l'α-synucléine. En effet, l'α-synucléine est une protéine possédant 2 domaines de liaisons du cholestérol (Fantini et al., 2011) et interagit avec les membranes des neurones au niveau des radeaux lipidiques (Fortin et al., 2004).

Des études *in vitro*, montrent que la diminution du cholestérol membranaire par des approches pharmacologiques ou une diminution globale du cholestérol cérébral chez des souris transgéniques, réduit l'agrégation de l'α-synucléine, une délocalisation de la protéine en dehors des radeaux lipidiques et une réduction des processus neurodégénératifs (Bar-On et al., 2008, 2006). Le phénomène inverse est observé lors d'une supplémentation en cholestérol (Bar-On et al., 2008, 2006). D'après ces observations, le cholestérol semble jouer un rôle dans la maladie de Parkinson et plus particulièrement dans l'agrégation de l'α-synucléine.

De façon intéressante, des études ont reporté un effet de l'utilisation de statines pouvant traverser la barrière hématoencéphalique sur le développement de la maladie de Parkinson. Une revue de Carroll et Wyse indique que l'utilisation de simvastatin, une statine pouvant passer la BHE, peut être une stratégie thérapeutique intéressante en raison de ses effets sur des mécanismes cérébraux comme la suppression des molécules pro-inflammatoires, l'atténuation de l'agrégation de l'α-synucléine et l'augmentation de l'expression des facteurs neurotrophiques (Carroll and Wyse, 2017).

E. La maladie d'Alzheimer

La maladie d'Alzheimer est une maladie neurodégénérative progressive dont les causes sont multiples. Une des caractéristiques majeures de la pathologie est l'agrégation du peptide bêta-amyloïde extracellulaire (Aβ) provoquant la neurodégénérescence (Sadigh-Eteghad et al., 2015). Plusieurs évidences suggèrent que le cholestérol est impliqué dans cette pathologie. En effet, des études ont montré l'implication de la protéine APO-E dans la dégradation et la clairance de Aβ (Jiang et al., 2008; Xiong et al., 2009). Il a aussi été observé une expression anormale du gène CYP46A1 chez des patients atteints de cette maladie. En effet, le niveau d'expression de la CYP46A1 est réduit dans les neurones et une partie de son expression est localisée dans les astrocytes (Bogdanovic et al., 2001). De plus, un traitement à la 24-hydroxycholesterol à des concentrations physiologiques sur des cultures cellulaires de neuroblastomes SH-SY5Y réduit les taux d'Aβ dans les cellules (Urano et al., 2013).

Par ailleurs, la surexpression par une approche virale de la CYP46A1 dans le cortex et l'hippocampe d'un modèle de souris de la pathologie a réduit significativement la production d'Aβ (Hudry et al., 2010). Il a été proposé que ces effets, plutôt bénéfiques, ne soient pas provoqués par une production plus élevée de 24-OHC, mais par une diminution du cholestérol cérébral, notamment au niveau des radeaux lipidiques, qui entraînerait une réduction de la production du peptide Aβ (Hudry et al., 2010). En effet, le cholestérol dans les radeaux lipidiques régule la production et le clivage de Aβ et son accumulation au niveau des radeaux provoque une augmentation de production de Aβ (Wahrle et al., 2002). De plus, la même surexpression virale de la CYP46A1 dans l'hippocampe chez un autre modèle murin de la maladie d'Alzheimer ne présentant pas ces perturbations amyloïdes, diminue les déficits cognitifs (Burlot et al., 2015).

L'utilisation de cette approche virale pour moduler le métabolisme du cholestérol cérébral peut donc être bénéfique pour réduire les déficits cognitifs observés dans la pathologie.

Les effets bénéfiques de la surexpression de la CYP46A1 ont été renforcés par une étude rapportant qu'une inhibition de la CYP46A1 dans l'hippocampe de souris *wild type* (c'est-à-dire sans pathologie existante) a provoqué une accumulation du cholestérol cérébral, une perte de neurones et une atrophie de l'hippocampe, ainsi que des déficits cognitifs (Djelti et al., 2015). L'ensemble de ces observations suggèrent qu'une diminution de l'expression ou une inhibition de la CYP46A1 favorise l'apparition et la progression de la maladie.

F. La maladie de Huntington

La maladie de Huntington est une maladie neurodégénérative autosomale dominante. Les principaux symptômes de la pathologie sont l'apparition de troubles psychiatriques, des déficiences motrices et un déclin cognitif. L'origine de cette pathologie est une mutation du gène codant de la protéine huntingtine en raison d'une expansion en glutamine (MacDonald et al., 1993). Les conséquences anatomiques de cette mutation sont une atrophie du striatum, une astrogliose (c'est-à-dire une réaction immunitaire des astrocytes) et une atrophie corticale (Aylward, 2007; Vonsattel et al., 1985).

Pour décrire brièvement cette protéine, la huntingtine est une protéine exprimée particulièrement dans le cerveau (DiFiglia et al., 1995; Li et al., 1993). Elle est associée à plusieurs organites et participe à plusieurs fonctions comme la signalisation post-synaptique, la régulation transcriptionnelle, le transport des protéines, la formation de vésicules, etc. (Gil and Rego, 2008). Des études *post-mortem* faites chez l'Homme et dans un modèle murin de la maladie de Huntington ont reporté une diminution des enzymes impliqués dans la synthèse du cholestérol au niveau du cortex et du striatum des sujets (Samara et al., 2014; Valenza et al., 2007, 2005). De manière globale, des taux faibles de la 24-OHC sont observés dans le striatum et le cortex des modèles animaux de cette pathologie, ce défaut de dégradation étant sûrement en relation avec un défaut de synthèse (Valenza et al., 2010).

Dans des modèles de souris de la maladie de Huntington, les taux de cholestérol et de ses précurseurs ont été décrits comme très inférieurs à la normale (Valenza et al., 2010). De plus, le transport du cholestérol par l'APO-E et ABCA1 par les astrocytes était diminué dans la maladie de Huntington (Valenza et al., 2010). Chez l'Homme, une autre étude post-mortem a reporté des diminutions de la CYP46A1 dans le putamen des patients, associées à une accumulation de cholestérol et de ses précurseurs (Kreilaus et al., 2016). Une étude a été réalisée afin de savoir si la modulation de l'expression de la CYP46A1 sur des modèles murins de la maladie de Huntington pouvait impacter son développement (Boussicault et al., 2016). Il a été montré une dégénérescence des neurones du striatum et des déficits moteurs similaires à ceux observés dans la maladie de Huntington lorsqu'ils inhibaient l'expression de la CYP46A1 (Boussicault et al., 2016). À l'inverse, une réduction de l'atrophie du striatum, une amélioration des déficits moteurs et une diminution des agrégats de la protéine huntingtine ont été observées lorsqu'ils surexprimaient l'enzyme (Boussicault et al., 2016).

Cette surexpression permet de restaurer des taux de cholestérol et de lanostérol à la normale et d'augmenter les taux de desmostérol cérébraux (Boussicault et al., 2016). La manipulation de la CYP46A1 ont donc permis de mettre en évidence le rôle du métabolisme cérébral du cholestérol dans la maladie de Huntington (Kacher et al., 2019)

En conclusion, le cholestérol cérébral semble jouer un rôle dans le développement et la progression de la maladie de Huntington. Impacter son métabolisme, notamment en cherchant à réduire l'accumulation de cholestérol dans les neurones, peut-être une stratégie thérapeutique intéressante.

G. L'addiction

Quelques évidences éparses, mais convergentes suggèrent que le cholestérol cérébral serait aussi impliqué dans l'addiction (Alsebaaly et al., 2018; Chauvet et al., 2016; Cotto et al., 2018; Lehrmann et al., 2006; McBride et al., 2013; McClintick et al., 2018, 2016, 2015). Tout d'abord, une étude transcriptomique *post mortem* chez l'Homme a montré que les gènes du cholestérol impliqués dans la synthèse et le transport étaient plus exprimés dans le cortex des consommateurs de cocaïne, de cannabis et de phencyclidine (Lehrmann et al., 2006). Par ailleurs, il a été observé dans notre équipe une altération de l'expression des gènes de l'homéostasie du cholestérol cérébral après des expositions à de l'alcool (Alsebaaly et al., 2018; McClintick et al., 2018, 2016, 2015). En effet, une consommation volontaire et chronique d'alcool altère l'expression des gènes du métabolisme du cholestérol au niveau du CPF, du NAc, de l'AMG et du mésencéphale (Alsebaaly et al., 2018). D'autres équipes décrivent que des changements de l'homéostasie du cholestérol cérébral sont observés à la suite d'expositions à de l'alcool avec une altération de l'homéostasie du cholestérol au niveau de l'hippocampe ventral (McClintick et al., 2018), du noyau du raphé (McClintick et al., 2015), de la substance grise périaqueducale (McClintick et al., 2016) et dans l'ATV (McBride et al., 2013). Une autre étude a aussi montré qu'après des injections répétées de cocaïne, les taux de LXR dans l'hippocampe de souris étaient réduits 24h après la dernière injection (Cotto et al., 2018). Pour finir, notre équipe a montré qu'un traitement chronique avec des statines, inhibant l'HMGCoAR et utilisée comme médicament contre l'hypercholestérolémie, pendant une période d'abstinence après des sessions d'auto-administrations de cocaïne a réduit la recherche de cocaïne et de nicotine (Chauvet et al., 2016). Les mêmes résultats ne sont pas obtenus lorsque l'on utilise un traitement avec des

statines qui ne passent pas la BHE (Chauvet et al., 2016). Ces résultats suggèrent que l'homéostasie du cholestérol cérébral pourrait participer à l'addiction aux drogues.

Objectif de la thèse

L'objectif de ma thèse s'organise sur 2 axes. Dans mon premier axe, nous avons étudié les effets persistants d'une exposition chronique à un régime hyperpalatable (riche en sucre et en graisse). En effet, l'une des questions encore non résolues de la littérature est de savoir si les effets observés par une exposition à un régime palatable persistent ou disparaissent après un certain temps d'arrêt. Pour ce faire nous avons exposé de manière chronique et prolongée les animaux à un régime hyperpalatable, puis nous avons stoppé ce régime une dizaine de jours avant le premier test comportemental. Durant ces tests, nous avons étudié la motivation de l'animal pour une récompense alimentaire palatable (granule de sucre) et le niveau de résistance à la punition de l'animal qu'ils étaient prêts à recevoir afin d'obtenir la récompense. Pour mesurer la résistance à la punition, nous avons utilisé une nouvelle procédure de force de choc progressive (PSS) mise au point durant ma thèse. Le PSS a permis de fournir, en une seule session, un point de rupture qui quantifie le niveau de punition pour obtenir une récompense par l'intermédiaire d'une décharge électrique au niveau de la voûte plantaire de l'animal dont la durée augmente progressivement. Dans cet axe, nous avons aussi étudié le sexe et l'âge d'exposition comme potentiels facteurs de vulnérabilité.

Pour le second axe, qui représente l'axe principal de ma thèse, nous avons étudié l'impact d'une modulation du métabolisme du cholestérol cérébral sur les comportements d'addiction à la cocaïne chez les rats. Tout d'abord, nous avons réalisé une première expérience pour connaître l'impact d'une injection aiguë et passive de cocaïne sur l'expression des gènes impliqués dans le métabolisme du cholestérol dans 3 zones connues pour être impliquées dans l'addiction et notamment la rechute : le cortex cingulaire antérieur, le noyau accumbens et le striatum dorsal. Ensuite, nous avons évalué l'impact de l'altération du métabolisme du cholestérol sur la rechute. Pour ce faire, après une exposition des rats à la cocaïne par des séances d'auto-administrations, nous a avons utilisé une approche virale permettant de surexprimer la CYP46A1, l'enzyme principale de dégradation du cholestérol cérébral, durant la période d'abstinence. Les structures cérébrales choisies pour surexprimer la CYP46A1 sont les mêmes structures que celles étudiées pour l'expression génique. À la suite de cette surexpression, la rechute des animaux a été évaluée à l'aide d'une procédure de réinstallation de comportement de recherche induite par le contexte environnemental.

Résultats

Article 1

A self-adjusting, progressive shock strength procedure to investigate resistance to punishment: characterization in male and female rats

Résumé : La persistance d'un comportement en dépit des effets néfastes qu'il engendre est l'une des principales caractéristiques des comportements compulsifs et de l'addiction. Par conséquent, il est important de mettre en place des modèles animaux qui fournissent une mesure rapide et efficace de la résistance à la punition afin d'étudier les mécanismes à l'origine de ces comportements inadaptés. Par analogie avec la procédure de rapport progressif, une procédure très utilisée pour l'évaluation de la motivation des animaux, nous avons mis au point une procédure d'amplitude de choc progressive (PSS) auto-ajustée.

Cette procédure de PSS donne, en une seule session, un point de rupture qui quantifie le niveau de punition que l'animal est prêt à recevoir pour une récompense.

Nous avons montré que, chez les rats femelles et mâles, le point de rupture du PSS est sensible 1) à la faim ; et 2) aux changements de la valeur incitative qualitative, mais non quantitative, de la récompense.

De plus, la comparaison avec la mesure de motivation réalisée en PR a indiqué qu'elle n'était pas corrélée à la mesure de PSS, même si ces 2 mesures restent sensibles aux modifications de l'état motivationnel de l'animal. Cela laisse à penser que ces 2 mesures possèdent des mécanismes neurobiologiques qui se chevauchent, mais qui restent distincts.

Enfin, comme les animaux ont le contrôle sur le niveau de punition qu'ils sont prêts à recevoir, la procédure de PSS peut représenter un raffinement des principes des 3R utilisés en expérimentation animale. Par conséquent, la procédure de PSS est un outil utile pour étudier les mécanismes sous-jacents aux comportements inadaptés qui peuvent persister chez certains individus malgré les conséquences négatives qu'ils peuvent engendrer.

Neuropharmacology 220 (2022) 109261

Contents lists available at ScienceDirect

Neuropharmacology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/neuropharm

A self-adjusting, progressive shock strength procedure to investigate resistance to punishment: Characterization in male and female rats

Stevenson Desmercieres [a], Virginie Lardeux [a], Jean-Emmanuel Longueville [a], Myriam Hanna [a], Leigh V. Panlilio [b], Nathalie Thiriet [a], Marcello Solinas [a,*]

[a] Université de Poitiers, INSERM, U-1084, Laboratoire des Neurosciences Expérimentales et Cliniques, Poitiers, France
[b] Real-world Assessment, Prediction, and Treatment Unit, Translational Addiction Medicine Branch, Intramural Research Program, National Institute on Drug Abuse, Baltimore, MD, USA

ARTICLE INFO

Keywords:
Punishment
Reward
Compulsivity
Addiction
Motivation

ABSTRACT

Indifference to harmful consequences is one of the main characteristics of compulsive behaviors and addiction. Animal models that provide a rapid and effective measure of resistance to punishment could be critical for the investigation of mechanisms underlying these maladaptive behaviors. Here, analogous to the progressive ratio (PR) procedure widely used to evaluate appetitive motivation as the response requirement is increased, we developed a self-adjusting, progressive shock strength (PSS) procedure. The PSS provides, within a single session, a break point that quantifies the propensity to work for a reward in spite of receiving electric footshock that progressively increases in duration. In both male and female rats, the PSS break point was sensitive to 1) hunger; and 2) changes in the qualitative, but not quantitative, incentive value of the reward. In systematic comparisons between PSS and PR procedures in the same rats, we found that both measures are sensitive to manipulations of motivational states, but they are not intercorrelated, suggesting that they measure overlapping but partially distinct processes. Importantly, the PSS procedure represents a refinement in the 3Rs principles of animal research because animals can control the strength of shock that they are willing to tolerate. This self-adjusting PSS procedure may represent a useful tool to investigate mechanisms underlying maladaptive behavior that persists in certain individuals despite harmful consequences.

1. Introduction

Addictive and compulsive disorders are characterized by the urge to execute behaviors even when they cause pain, suffering, or health problems (Figee et al., 2016). In rodents, compulsive behaviors are often mimicked by resistance to punishment in the context of food or drug-taking behavior. The most commonly used punishment procedures use a fixed strength of foot-shock which allows identifying animals that are sensitive or insensitive to shock (Belin et al., 2011; Deroche-Gamonet et al., 2004; Domi et al., 2021; Marchant et al., 2018; Pascoli et al., 2015; Pelloux et al., 2007). However, using a fixed level of shock imposes a dichotomy based on an arbitrary threshold; it labels each animal as either sensitive or resistant, without taking into account the fact that sensitivity is a continuous variable. That is, every individual has some level of shock where it will switch from responding to not responding, and this threshold may vary between individuals and over time within the same individual. A more nuanced measure of individual resistance to punishment can be obtained with procedures where the strength of foot shock is increased over several sessions (Durand et al., 2021; Krasnova et al., 2014; Panlilio et al., 2003) or in blocks within a single session (Bentzley et al., 2014; Datta et al., 2018) until animals decrease and eventually stop responding. However, even in these procedures the levels of shock are imposed by the experimenter in a fixed (increasing) order and animals have little control of the strength of shock that they are willing to accept to obtain rewards. Experimenter-imposed procedures involve the risk of delivering shocks that are substantially higher than what the individual would be willing to tolerate, which can lead to persistent inhibition of reward seeking (Durand et al., 2021). Indeed, punishment with high levels of shock on first encounter can dramatically suppress operant responding whereas punishment with lower increasing levels of shocks has more gradual effects on responding (Miller, 1960). Procedures that adjust the level of

* Corresponding author. Université de Poitiers, INSERM U-1084, Laboratoire des Neurosciences Expérimentales et Cliniques, 1, rue Georges Bonnet, TSA 51106, 86073, Poitiers, Cedex 9, France.
E-mail address: marcello.solinas@univ-poitiers.fr (M. Solinas).

https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2022.109261
Received 21 June 2022; Received in revised form 6 September 2022; Accepted 14 September 2022
Available online 22 September 2022
0028-3908/© 2022 Elsevier Ltd. All rights reserved.

shock to individual behavior may allow a more precise measure of resistance to punishment and be more in accordance with ethical standards because punishment is titrated within a range close to the individual's threshold, only exceeding it infrequently and by a small amount. In addition, they would resemble procedures commonly used to investigate the effects of punishment in humans, in which shock levels are calibrated individually (Apergis-Schoute et al., 2017; Kanen et al., 2021; Kim and Anderson, 2020).

Progressive ratio (PR) schedules (Hodos, 1961) are considered the gold-standard for the investigation of incentive motivation and the strength of rewards. In PR schedules, the number of responses required to obtain a reward increases at each step until the animal stops responding, and the final step, or break point, is considered a direct measure of individual motivation. One of the advantages of PR schedules is that break points can be obtained within a single session. PR schedules for food rewards are sensitive to the motivation of the individual in terms of hunger (Hodos, 1961; Solinas and Goldberg, 2005) and of incentive value of the reward (Hodos, 1961). To incorporate the advantages of PR procedures, we designed a self-adjusting progressive shock strength (PSS) procedure in which the strength of shock is adjusted within a single session according to the animal's behavior. In this procedure each animal can titrate its own "acceptable" level of punishment to obtain food rewards.

The psychophysical experience of shock and its punishing effects depend on the intensity (current) and the duration of footshocks (Church et al., 1967; Leander, 1973). These two variables can be manipulated interchangeably (Leander, 1973) determining the electrical charge delivered, which can be considered a measure of the strength or magnitude of shock. Changing the intensity of a shock remotely within a session is tricky and requires specialized equipment. In contrast, changing the duration of footshocks can be easily and precisely implemented with conventional shockers by simply altering a parameter in the software program used to control the operant procedure. Thus, in our procedure, the strength of shock was determined by using a fixed shock current (0.45 mA) and manipulating the shock duration (from 0 to 0.71 s), leading to electrical charges ranging from 0 to 0.3195 mC (mC).

Both resistance to punishment and PR motivation can be viewed as measures of the costs that an individual is willing to accept to obtain a reward. Interestingly, Hodos developed his PR procedure to quantify motivation in order to overcome some technical problems that had led to excessive variability in the results obtained in older progressive shock procedure (Hodos, 1961). Although motivation PR and resistance to punishment are often associated (Hogarth, 2020), the relationship between these measures is not straightforward. Indeed, several studies have found that resistance to punishment and PR responding do not always correlate (Datta et al., 2018; Pascoli et al., 2015; Pelloux et al., 2007), suggesting that the willingness to exert an effort or the willingness to tolerate a negative outcome to obtain a reward represent two somewhat different aspects of motivation. To gain insights into these aspects of motivation, we systematically compared the effects of manipulations of motivation on the PSS and PR procedures. We tested whether the punishment break point is sensitive to manipulations of motivational states such as hunger, reward size and reward quality, and we evaluated the effects of these manipulation on progressive ratio responding.

2. Methods

2.1. Subjects and housing conditions

Sprague-Dawley rats (48 males and 24 females) aged 8–9 weeks (Janvier Labs, France) were used in this study because rats' behavioral repertoire makes them a species of choice for the investigation of addiction-related processes (Parker et al., 2014). The experiments were performed in 3 separate cohorts of animals: 1) 24 males to establish the procedure; 2) 24 males to replicate and assess reliability of the procedure and 3) 24 females to assess whether the results depend on sex. It should be noted that the female cohort and the 2 cohorts of males were all run separately. Results from the two male groups were basically superimposed qualitatively and quantitatively suggesting that the conducting the experiments in separate cohorts had minimal effects on the results. Data from the two cohorts of males were combined for analysis and presentation here. Rats were housed in pairs with two wooden sticks for enrichment, in IVC cages (Techniplast, Sealsafe Plus GR900), in a temperature- and humidity-controlled room kept under reversed light-dark cycle conditions (12 h light-dark cycle, lights off at 7 a.m.). All experiments were conducted during the dark phase and in accordance with European Union directives (2010/63/EU) for the care of laboratory animals and approved by the local ethics committees (COMETHEA).

2.2. Food restriction

Starting after a 4-day habituation period and continuing until the end of the experiment, food was restricted to limit weight gain and to motivate operant behavior. Food (approximatively 20 g/day for male and 15 mg/day for females) was given 1 h after the end of the daily experimental session. Unlimited access to water was provided for the entire duration of experiment. Body weight was 336 ± 1.7 for males and 226 ± 1.7 g for females at the beginning of the experiment and 377 ± 3.2 for males and 249 ± 1.7 g for females at the end of the experiments.

2.3. General experimental designs

In this experiment, we aimed to validate the progressive shock strength (PSS) procedure by 1) investigating the effects of motivational manipulations such as hunger (food restriction or satiation), reward size (1 vs 2 pellets of sucrose) and reward quality (sucrose vs chocolate) on punished responding; and 2) directly comparing the effects of these manipulations in our PSS procedure versus a conventional PR procedure. Tests sessions were separated by a minimum of one training session, and each type of test occurred once a week. Sessions were performed 5 days a week and a typical week had the following schedule: Monday: training; Tuesday: PR test; Wednesday: training; Thursday: training and Friday: PSS test. After nine initial operant training sessions, we tested resistance to punishment in 2 PSS sessions and appetitive motivation in 2 PR sessions to establish baseline behavior. The data from these sessions were averaged to provide basal levels of PSS and PR used for statistical analysis. Subsequently, in both PSS and PR, we investigated the effects of 1) hunger (restriction and satiation); 2) quantitative increases in the value of reward (2 pellets vs 1 pellet) and 4) qualitative changes in the value of reward (sucrose vs chocolate pellets). Chocolate pellets (Test Diet 5TUT/1811256) were identical in composition and caloric content to sucrose pellets (Test Diet 5TUT/1811251) but contained chocolate flavor.

For 23 h prior to the deprivation and satiation tests, respectively, animals were completely food deprived or had food ad libitum as done previously (Solinas and Goldberg, 2005). To study changes in incentive value of reward, we trained animals with the new condition (2 pellets/reward or 1 chocolate pellet) for 2 days before PSS and PR tests.

24–72 h after the last operant sessions, we measured anxiety-related behaviors in an open-field and sensitivity to pain in a hotplate procedure to determine whether individual differences in these processes could have influenced the PSS results.

2.4. Food reinforcement apparatus and training procedure

Experimental chambers (MedAssociates, www.medassociates.com) were enclosed individually in sound-attenuation chests. Each experimental chamber had a recessed food tray, and two levers in the right wall. The floor was constituted by bars that were connected to shockers that could deliver footshock, with electric current set to 0.45 mA. Each chamber was equipped with a food-pellet dispenser, which could deliver

45 mg pellets to the food tray. Experimental events were controlled by computers using MedAssociates interface and Med-PC IV software; Med-PC code used to conduct the procedures is available upon request. A diode light was present on each lever. One lever was assigned to be the active lever and the corresponding light was used as a conditioned stimulus for food reinforcement. A third diode light was installed on the opposite wall, and its flashing was used as a discriminative stimulus to indicate that food reinforcement would be associated with a foot-shock.

The general training schedule involved 45-min sessions of a fixed-ratio 1 (FR1) schedule of food reinforcement in which one lever press was required to obtain a 45-mg sucrose pellet. Rats initially learned to respond for food during nine sessions under this schedule. During these sessions, food availability was signaled by turning off the house-light, indicating that a single response on the active lever would immediately result in the delivery of one food pellet, accompanied by flashing of the diode light above the lever for 2 s. Subsequently, the house light was turned on for an additional 18-sec time-out period, during which responding had no programmed consequences. Following the time out, a new trial started and the next response on the right lever was again reinforced. Responses on the inactive lever were recorded but never reinforced.

2.5. Self-adjusting progressive shock strength (PSS) procedure

In the PSS procedure, active lever presses resulted in immediate delivery of food rewards and foot-shocks of different strengths by manipulating the shock duration. The PSS consisted of steps in which the shock duration was increased each time the animal obtained 2 separate rewards at a given shock duration. The duration of the first step was 0 s (no shock), the second step was a low duration of 0.05 s and subsequent shocks increased of 15% at each step for 20 steps. Thus, the step sequence of durations was: 0, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.10, 0.12, 0.13, 0.15, 0.18, 0.20, 0.23, 0.27, 0.31, 0.35, 0.41, 0.47, 0.54, 0.62, 0.71 s. At the beginning of each shock trial, the light on the side opposite to the levers and food tray was switched on and off intermittently for the entire trial for periods of time proportional to the duration of the shock to signal the presence of shock contingencies according to the formulas: Duration On = 0.1 s times step number and Duration Off = 2 s – Duration On. If animals reached the final step, the duration of the shock was not further increased, and all subsequent shock were set at 0.71 s. If rats did not emit any response for 5 min, shock duration was reset to 0 s and the shock progression was reinitialized. The 5 min threshold for reset was chosen based on pilot experiments showing that this level allowed most animals to reinitiate their operant behavior within a single session. Thus, animals could at any moment avoid higher strength of shock by limiting the frequency of food reinforcement until shock duration returned to 0 s, which was signaled by the absence of the blinking light. This feature suppressed but did not completely extinguish operant responding, allowing a rapid return to baseline responding in the following training session. The strength of the shock was determined by the electrical charge in millicoulombs (mC) that an animal would tolerate to obtain food pellets and was calculated by multiplying the fixed current of the shock (0.45 mA) by the duration in sec. The level at which behavior changed abruptly or PSS break point was calculated by the maximal and cumulated strength of the shock received during the session, which, as expected, were highly correlated ($r^2 = 0.90$ for males and $r^2 = 0.93$ for females under basal conditions). We chose the latter parameter for the main analysis because it incorporates both the willingness to receive a given charge unit and the willingness to restart responding after an eventual punishment-induced pause. However, it should be noted that similar results were obtained when the maximal strength of shock obtained was used.

Table 1 summarizes the data obtained in the PSS procedure in terms of responses, duration of shock and total electrical charge received during a session.

2.6. Progressive-ratio schedule

Under the progressive-ratio schedule of food reinforcement, the number of responses required to obtain a food pellet increased with each successive food pellet. The steps of the exponential progression were the same as those previously developed by Roberts and colleagues (Richardson and Roberts, 1996) adapted for food reinforcement (Solinas et al., 2003; Solinas and Goldberg, 2005), based on the equation: response ratio = $(5e^{(0.2 \times \text{reinforcer number})}) - 5$, rounded to the nearest integer. Thus, the values of the steps were 1, 2, 4, 6, 9, 12, 15, 20, 25, 32, 40, 50, 62, 77, 95, 118, 145, 178, 219, 268, 328, 402, 492, 603, and 737. Sessions under the progressive-ratio schedule lasted until 10 min passed without completing a step, which, under basal conditions, occurred within 1 h. This 10 min step-completion threshold produced breakpoints similar to those we observed previously using a 5 min no-response threshold (Solinas et al., 2003; Solinas and Goldberg, 2005).

2.7. Anxiety-related behaviors: open field

The open-field apparatus (Viewpoint, Lyon, France) consisted of a rectangular arena (50 cm wide * 50 cm long * 40 cm high) of white plexiglass. After a 30-min habituation to the experiment room, rats were placed for 30 min in the arena. Their positions were recorded automatically and in real time by a camera and video tracking software (Viewpoint, Lyon, France). The software defined a virtual square (25 cm * 25 cm) delimiting the center zone and the border zone. Anxiety was measured as the percentage (%) of time spent in the border (time in the border/time in the border + time in the center * 100) so that more time spent in the border (thigmotaxis) indicated a higher level of anxiety.

2.8. Pain sensitivity: hot plate test

The hot-plate (Ugo Basile, model-DS 37) was maintained at 48 °C (Deuis et al., 2017). After a 10-min habituation to the experiment room, animals were placed into a glass cylinder of 25 cm diameter on the heated surface and 47 cm walls. The latency before escape or jumping, was recorded. Experiments were stopped after a cut-off of 120s to prevent unnecessary pain or tissue damage.

Table 1
Summary of data obtained in the PSS procedure.

	# Active Responses		Total Shock Duration (Sec)		Total Electrical Charge (mC)	
	Males	Females	Males	Females	Males	Females
BL	120.80 ± 1.46	97.94 ± 4.024	–	–	–	–
PSS BL*	45.87 ± 2.94	40.50 ± 3.08	6.56 ± 0.67	5.63 ± 1.37	2.95 ± 0.30	2.53 ± 0.62
PSS Hungry	57.83 ± 2.48	59.75 ± 5.88	12.79 ± 1.55	16.41 ± 4.37	5.75 ± 1.04	7.38 ± 1.97
PSS Sated	25.33 ± 1.78	17.79 ± 2.478	1.45 ± 0.23	1.38 ± 0.33	0.65 ± 0.10	0.76 ± 0.02
PSS 2 Pellets	50.13 ± 2.04	32.17 ± 2.38	8.01 ± 0.80	3.46 ± 0.95	3.61 ± 0.36	1.56 ± 0.43
PSS Chocolate	65.35 ± 2.97	55.08 ± 3.80	15.49 ± 1.94	10.77 ± 2.85	6.97 ± 0.87	4.84 ± 1.28

Mean ± SEM.
* PSS BL was established several times during the experiments. For clarity, here we provide values of the first measure.

2.9. Data and statistical analysis

Med-PC data obtained were analyzed using a custom-made, freely available software written in Python, Med_to_csv (https://github.com/hedjour/med_to_csv) that uses raw data files to create complete tables for further analysis in GraphPad Prism. Data were checked for normality distribution on using the Shapiro–Wilk test. PSS data using electrical charge did not show normal distribution and therefore, they were normalized using natural logarithm transformation. For baseline measures of PSS and progressive-ratio break points, we used two-way ANOVA for repeated measures (Factors: sex and procedure) to compare the behavior of male and female rats with Geisser-Greenhouse correction to account for possible violation of sphericity followed by Sidak's post hoc test. Given that baseline behavior significantly differed between males and females, for subsequent behaviors, we separately compared male and female animals using one-way ANOVA for repeated measures (factor: hunger state) with Geisser-Greenhouse correction followed by Dunnett's post hoc test or Wilcoxon matched-pairs signed rank test for reward size and quality. Differences were considered significant when $p < 0.05$.

3. Results

3.1. PSS and PR break points

The last 3 FR1 training sessions were used to determine a baseline (BL) in the absence of shocks. The number of active responses (and food rewards obtained) was ~121 for male (Fig. A, left) and ~98 for female rats (Fig. 1, right). In the PSS session, the number of pellets decreased to about ~46 in males and ~40 in females, a 62% and 59% reduction compared to the BL responding. The PSS break point as measured by the electrical charge sustained was 2.95 ± 0.30 mC in males and 2.53 ± 0.62 mC in females (Table 1). Individual event records (supplementary information, Fig. S1) clearly show that rats titrated their punishment and different rats reached different PSS break points. Indeed, a minority of animals (<20% under baseline conditions) kept responding for food even when the shock strength was maximal, whereas most (>80%) of the animals responded until the strength of shock reached a level where responding stopped for at least 5 min, leading to a reset of the shock duration to 0 s. Then, most animals started responding again reaching levels that were in a range that was relatively constant for individual animals (average deviation from the median shock strength during baseline <10%) suggesting that they had a shock strength that was "worth" receiving to obtain their rewards. For PR sessions, the number of steps completed was ~14 in males and ~11 in females and the number of active responses was ~428 in males and ~276 females. Statistical analysis on the number of responses revealed a significant effect of schedule ($F(2, 140) = 219$, $p < 0.0001$), of sex ($F(1,70) = 26.10$, $p < 0.0001$) and a significant schedule * Sex interaction ($F(2,140) = 19.41$, $p < 0.0001$). Post-hoc multiple comparison indicated that males and females differed in baseline and PR responding but not in PSS responding ($p = 0.31$). Because baseline behavior was different in males and females, which can confound the interpretation of results, we decided not to compare them directly in subsequent tests.

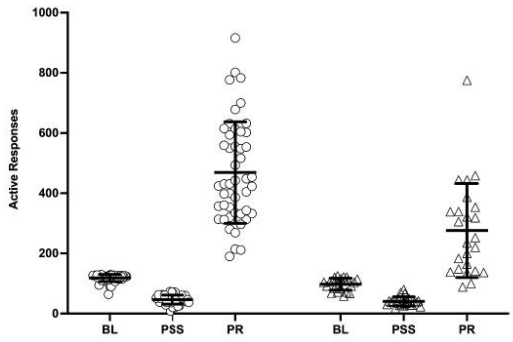


Fig. 1. Effects of introducing progressive shock strength (PSS) or progressive ratio (PR) schedules on food-maintained behavior. Number of active responses during baseline (BL), progressive shock strength (PSS) and progressive ratio (PR) sessions in male (left) and female rats (right). Data are expressed as mean ± SD of active responses (Males n = 48; Females = 24). Baseline (BL) was calculated on the last three FR1 training sessions before the first shock session. The values for PSS and PR represent the average of the first 2 separate sessions. Two-way ANOVA for repeated measures followed by Sidak's post hoc: ***, $P < 0.001$ PSS and PR vs BL; ###, $P < 0.001$ males vs females.

Frequency distribution of PSS break points was normally distributed when expressed as natural logarithm of the electrical charge sustained for both males and females with a median value of 0.81 (95% CI: 0.58–1.05) and 0.52 (95% CI: 0.16–0.88), respectively (Fig. 2 A, B). Frequency distribution of PR break points was a conventional Gaussian for males with a median value of 431 (95% CI: 360–549) and a slightly positively skewed Gaussian for females with a median value of 243 (95% CI: 148–339) (Fig. 2 C, D). PSS responding (electrical charge sustained) was not correlated with PR responding (number of responses) in either male or female rats (Fig. 2 E, F) suggesting that these tasks measure somewhat different psychobiological processes.

3.2. Effect of hunger on PSS and PR behaviors

To characterize the PSS behavior, we investigated whether it is sensitive to hunger, and we compared the effects of these manipulations on PR. In male rats, hunger induced by food deprivation produced an increase in the PSS break point of 25% in pellets obtained (from ~45 to ~ 58 pellets) and of 95% in electrical charged received (from 2.95 to 5.75 mC) compared to normal food restriction condition (Fig. 3 A, C, E; Table 1). In contrast, satiation induced by ad libitum pre-session feeding produced a decrease in the PSS break point of 64% as measured by number of pellets obtained (from ~45 to ~ 25 pellets) and of 78% as measured by the electrical charge received (from 2.95 to 0.65 mC) compared to normal food restriction condition (Fig. 3 A, C, E; Table 1). Similarly, in female rats, hunger induced by food deprivation produced an increase in the PSS break point of 50% in pellets obtained (from ~40 to ~ 60 pellets) and of 250% in electrical charged received (from 2.53 to 7.38 mC) (Fig. 3B, D, F; Table 1) and food satiation produced a decrease of 56% in the number of pellets obtained (from ~40 to ~ 18 pellets) and of 75% in the electrical charge (from 2.53 to 0.76 mC) compared to normal food restriction condition (Fig. 3B, D, F; Table 1). Individual event records (supplementary information, Fig. S2) clearly show that, when hungry, rats were willing to receive higher strength of shock than under BL conditions whereas, when sated, they all stop responding at low shock strengths. Statistical analysis revealed a significant effect of hunger state in males (Number of responses: ($F(2,47) = 94.11$, $p < 0.0001$; total charge: ($F(2,47) = 46.44$, $p < 0.0001$; max charge: ($F(2,47) = 112.09$, $p < 0.0001$) and in females (Number of responses: ($F(2,23) = 49.15$, $p < 0.0001$; total charge: ($F(2,23) = 63.01$, $p < 0.0001$; max charge: (($F(2,23) = 35.15$, $p < 0.0001$).

Consistent with previous reports (Hodos, 1961; Solinas and Goldberg, 2005), PR responding was also sensitive to manipulations of hunger. In males, hunger increased PR responding from ~469 to ~688 responses/session (+47%) and satiation decreased it to ~ 128 responses/session (−73%) (Fig. 4A). In females, hunger increased PR responding from ~277 to ~423 responses/session (+53%) and satiation decreased it to ~ 64 responses/session (−77%) (Fig. 4B). Statistical analysis of number of responses revealed a significant effect of hunger state in males ($F(2,47) = 107.8$, $p < 0.0001$) and in females ($F(2,23) = 38.9$, $p < 0.0001$).

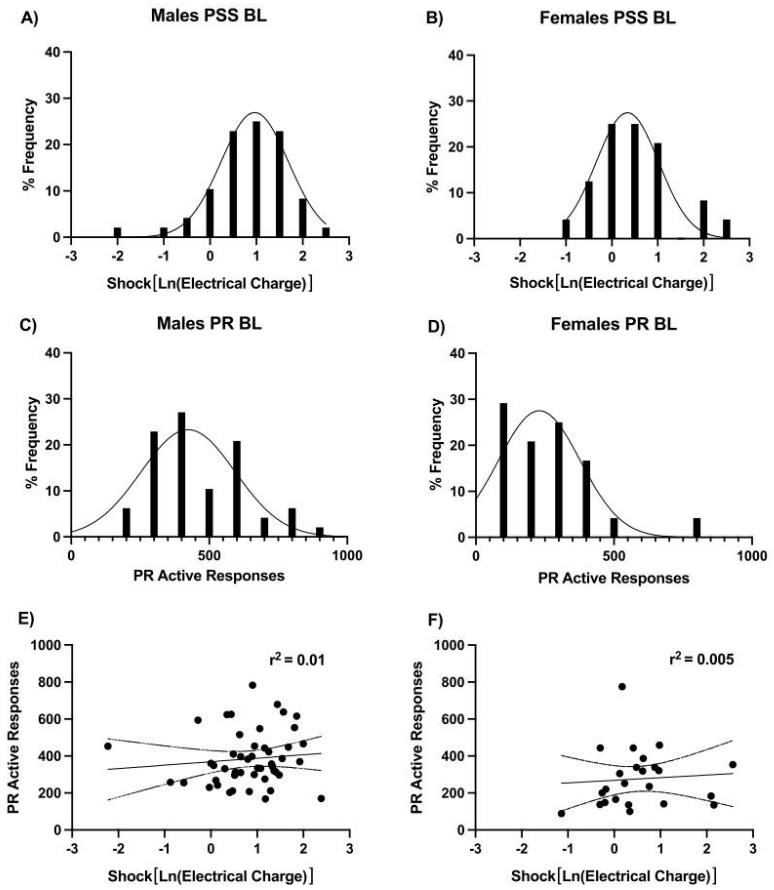


Fig. 2. Population distribution for PSS and PR procedures and their correlation. Frequency distribution for behavioral outputs during baseline sessions in the PSS (A, B) and PR (C, D) procedures and their correlation (E, F) in male (left panels: A, C, E) and female rats (right panels: B, D, F). Dotted curves in E and F indicates 95% confidence intervals. The values for PSS and PR represent the average of the first 2 separate sessions.

3.3. Effect of reward size on PSS and PR behaviors

We then investigated whether PSS break points would be sensitive to changes in the reward size. For this, we increased the number of sucrose pellets delivered at each trial to 2 pellets/delivery. Since incentive value needs to be learned, we trained rats for 2 days in this new condition. This manipulation decreased baseline responding because 2 pellets probably induced more rapid satiation. The decrease in baseline was from ~119 to ~104 active responses (and reward deliveries) in males (13%) and from ~98 to ~ 67 active responses (and reward deliveries) in females (−32%) (data not shown). Compared to this new baseline PSS induced a decrease in both males (from ~104 to ~ 50 rewards, −50%) and females (from ~67 to ~ 32, - 52%) (Table 1). PSS break point with 2 pellets did not differ from that with 1 pellet in males (Fig. 5 A, C, E; Table 1; Wilcoxon test: $p = 0.14$ for active responses, $p = 0.47$ for total charge and $p = 0.11$ for max charge) but it was significantly decreased in females (Fig. 4B, D, F; Table 1; Wilcoxon test: $p = 0.0053$ for active responses, $p = 0.025$ for total charge and $p = 0.16$ for max charge).

PR break point was significantly higher for 2 pellets than for 1 pellet in males (from ~468 to ~ 734 active responses, +56%; Fig. 6A; Wilcoxon test: $p > 0.0001$) but was similar in females (~276 vs ~ 277; Fig. 6B; Wilcoxon test: $p = 0.92$).

3.4. Effect of reward quality on PSS and PR behaviors

We then investigated whether PSS break points would be sensitive to changes in the sensory quality of the reward. For this, we allowed rats to self-administer chocolate-flavored pellets. Again, rats were first trained for 2 days in this new condition. This manipulation slightly increased baseline responding in both males and females, from ~119 to ~128 active responses (+7%) in males and from ~98 to ~ 111 active responses (+13%) in females compared to sucrose pellets (data not shown). Compared to this new baseline PSS induced a decrease in both males (from ~128 to ~ 65 rewards, −49%) and females (from ~111 to ~ 55, - 50.5%) (data not shown). More importantly, compared to sucrose pellets, the PSS break point with chocolate pellets was higher in

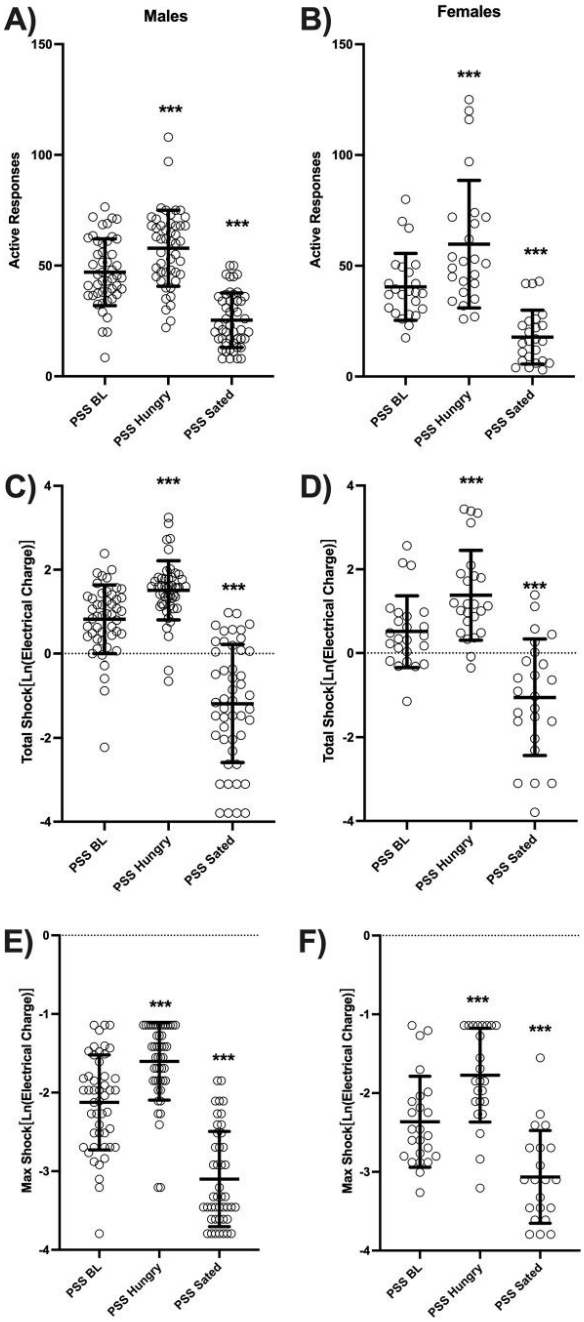


Fig. 3. Effects of modulation of hunger on resistance to punishment in the PSS. Resistance to punishment during a PSS session with normal level of food restriction (baseline, PSS BL), after 24 h food deprivation (PSS Hungry) or after 24 h of access to food ad libitum (PSS Sated) in male (left panels: A, C, E) and female rats (right panels: B, D, F) measured by the number of active responses (A, B), the total electrical charge sustained (C, D) and the max electrical charge sustained (E, F). The values for PSS and PR represent the average of the first 2 separate sessions. One-way ANOVA for repeated measures followed by post hoc Dunnett's test: ***, $P < 0.001$ compared to PSS BL.

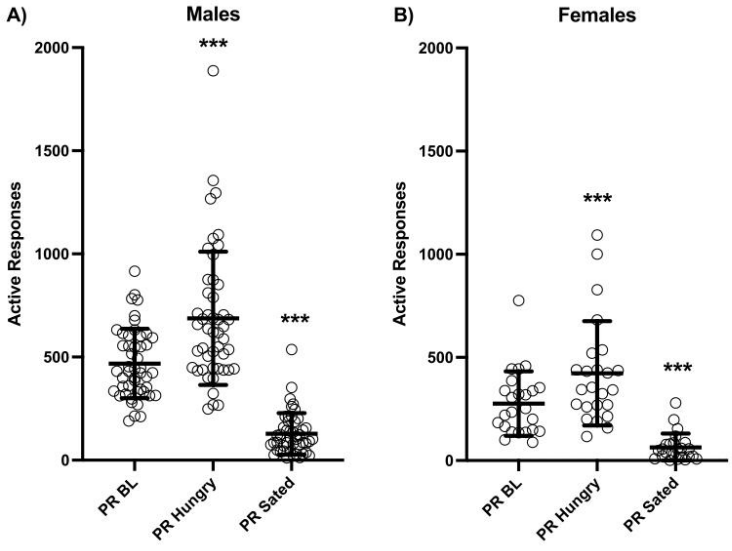


Fig. 4. Effects of modulation of hunger on motivation in the PR. Number of active responses during a PR session with normal level of food restriction (baseline, PR BL), after 24 h food deprivation (PR Hungry) or after 24 h of access to food ad libitum (PR Sated) in male (A) and female rats (B). Data are expressed as mean ± SD (Males n = 48; Females = 24). One-way ANOVA for repeated measures followed by post hoc Dunnett's test: ***, P < 0.001 compared to PR BL.

both males (active responses from ~47 to ~ 65, electrical charge from ~5.92 to ~ 6.97, Fig. 7 A, C, E; Table 1; Wilcoxon test: $p > 0.0001$ for active responses and total charge and $p = 0.0002$ for max charge) and in females (active responses from ~40 to ~ 55, electrical charge from ~3.40 to ~ 4.84, Fig. 7B, D, F; Table 1; Wilcoxon test: $p > 0.0001$ for active responses, $p = 0.0004$ for total charge and $p = 0.0086$ for max charge). PR break point was significantly higher for chocolate than for sucrose pellets in both males (from ~468 to ~ 650 active responses, +39%; Wilcoxon test: $p > 0.016$) and females (~276 vs ~535, +94%; Wilcoxon test: $p > 0.0001$) (Fig. 8A and B).

3.5. Anxiety and pain sensitivity

At the end of the operant sessions, we measured anxiety in an open field and pain sensitivity in a hot plate test in order to verify whether these factors could have influenced resistance to punishment. We found that neither anxiety (% time spent in the border) nor pain (latency to escape) was correlated to PSS break points in both males (anxiety $r^2 = 0.019$ $p = 0.34$; pain $r^2 = 0.003$, $p = 0.70$) and females (anxiety $r^2 = 0.048$, $p = 0.30$; pain $r^2 = 0.036$, $p = 0.37$) (Fig. S3).

4. Discussion

In this study, we developed and characterized a novel self-adjusting progressive shock strength (PSS) procedure to investigate resistance to punishment in which the strength of the punishment is determined by the behavior of the individual animal. Thus, each animal could titrate the amount of shock that it was willing to receive to obtain a food pellet. We show that, in both male and female rats, the PSS break point is sensitive to manipulations of motivation such as hunger and incentive value of the reward. Importantly, interindividual differences in resistance to punishment do not appear to depend on pain sensitivity or anxiety because these measures were not correlated with the PSS break point. Interestingly, although PSS and PR break points were both sensitive to manipulations of motivation, they were not intercorrelated, confirming that these behaviors represent some overlapping but partly distinct constructs and are likely to depend on common but also distinct brain circuits.

In our procedure, shock strength was adjusted for each individual animal in each session, increasing and decreasing depending on the rat's behavior (increasing in steps while responding was persistent and resetting to 0 when responding ceased for 5 min). Most rats took advantage of this feature and resumed food seeking behavior 2 or 3 times in a session (supplementary information, Fig. S1). Thus, rats could titrate the levels of shock that they were willing to receive by stopping before they reached a level that was aversive enough to persistently suppress their behavior (Durand et al., 2021). Importantly, our procedure could be considered a form of refinement in the 3Rs (replacement, reduction, refinement) principles of animal research (Hubrecht and Carter, 2019) because animals can control the strength of punishment that they are willing to tolerate. Therefore, the PSS appears particularly fit to stricter ethical standards of animal research that are required by our societies. Finally, the individual calibration of shock levels of the PSS is conceptually similar to what is commonly done in investigate the mechanisms of punishment and compulsivity in humans (Apergis-Schoute et al., 2017; Kanen et al., 2021; Kim and Anderson, 2020) which can increase the translational validity of this procedure.

Shock sessions were repeated but infrequent and sparse. Indeed, we wanted punishment to be rare, similarly to what may happen in humans when negative consequences of drug use or excessive food consumption are rarely (intermittently) experienced after immediate consumption of the reward. In addition, this avoided the cumulative effects of punishment (Durand et al., 2021; Marchant et al., 2018) which can occur when shock sessions are repeated in consecutive sessions. Instead, with sparse

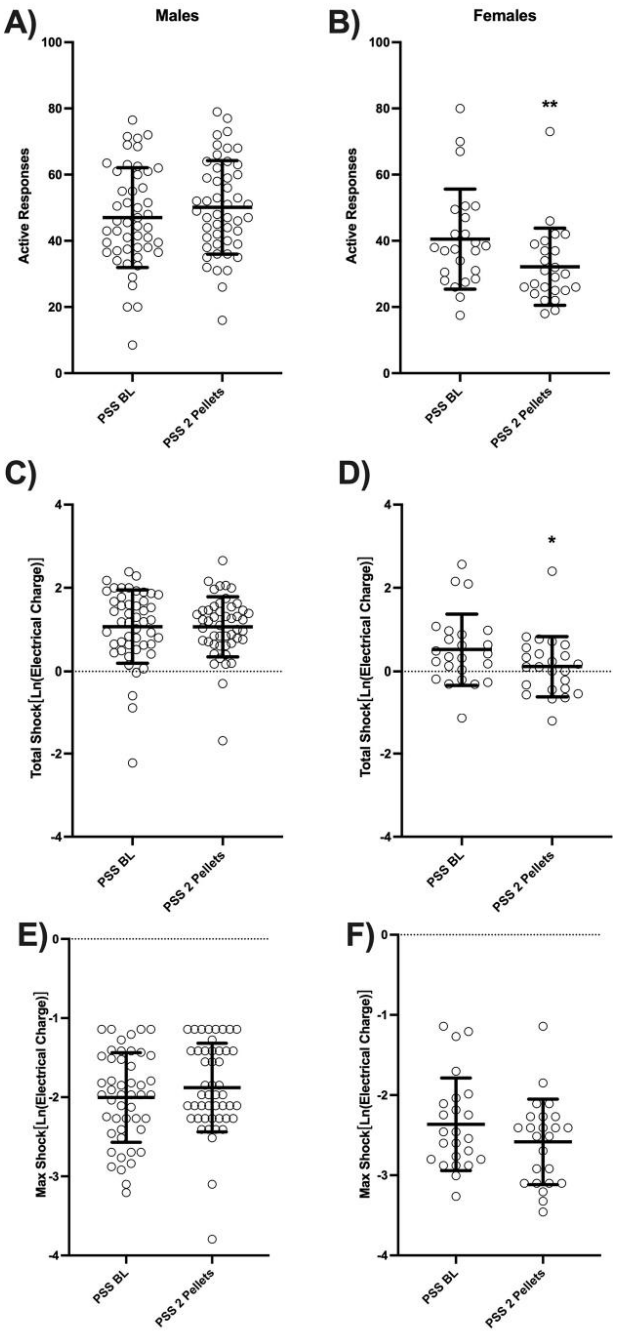


Fig. 5. Effects of modulation of reward size on resistance to punishment in the PSS. Resistance to punishment during a PSS session with one pellet/delivery (baseline, PSS BL) or two pellets/delivery (PSS 2 Pellets) in male (left panels: A, C, E) and female rats (right panels: B, D, F) measured by the number of active responses (A, B), the total electrical charge sustained (C, D) and the max electrical charge sustained (E, F). Data are expressed as mean ± SD (Males n = 48; Females = 24). Wilcoxon test: * and **, $P < 0.05$ and $P < 0.01$ compared to PSS BL.

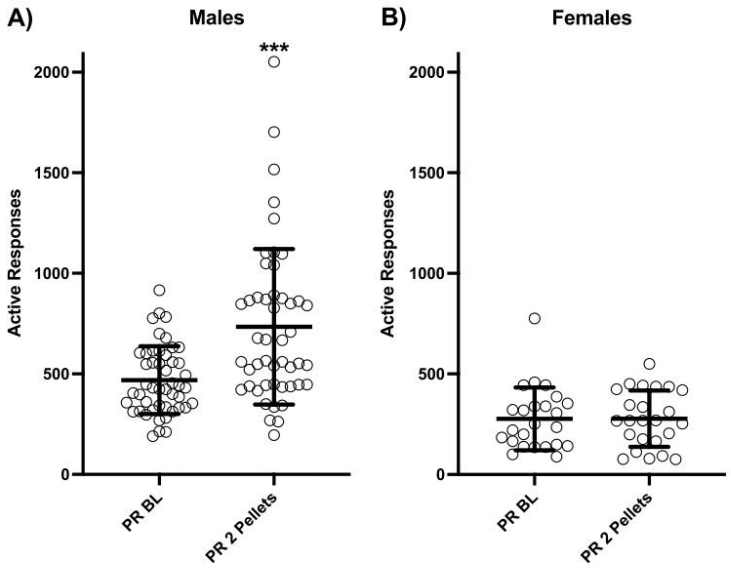


Fig. 6. Effects of modulation of reward size on motivation in the PR. Number of active responses during a PR session with one pellet/delivery (baseline, PR BL) or two pellets/delivery (PR 2 Pellets) in male (A) and female rats (B). Data are expressed as mean ± SD (Males n = 48; Females = 24). Wilcoxon test: ***, $P < 0.001$ compared to PR BL.

shock sessions we were able to rapidly reestablish baseline operant behavior and have several test/retest conditions. Measures of resistance to punishment were highly correlated for the whole experiment (supplementary information, Fig. S4) indicating that resistance to punishment is a trait. Therefore, our PSS procedure should allow investigating changes in resistance to punishment longitudinally over long periods of time and in response to behavioral and neurobiological manipulations.

Previous research has shown that rats (and pigeons) will titrate the strength of a constant or pulsing shock to a specific level when the shock strength is contingent on the rate of food-reinforced responding (Rachlin, 1972; Rachlin and Loveland, 1971); this level was stable within individuals but differed across individuals. More recent studies investigating footshock punishment found bimodal population distributions with procedures using a fixed shock strength (Belin et al., 2011; Domi et al., 2021; Jean-Richard-Dit-Bressel et al., 2019; Marchant et al., 2018) and continuous Gaussian distribution of responding with procedures using increasing levels of punishment with food (Datta et al., 2018), cocaine (Datta et al., 2018) and alcohol (Marchant et al., 2018) as reinforcers. The distribution in our self-adjusting PSS procedure was a positively skewed Gaussian when the electrical charge was plotted (data not shown) but it was a normal Gaussian when the strength was expressed as the natural logarithm of the electrical charge. This is consistent with Stevens' power law that states that sensation strength and stimulus intensity are described by a power function (Stevens, 1957) and with previous studies investigating the consequences of different shock strengths (Leander, 1973). This suggests that when animals can self-titrate the level of punishment, individual levels of shock resistance are log-normally distributed whereas bimodal distribution of shock resistance may at least in part result from imposing a fixed strength that artificially divide the population in two groups of resistant or sensitive individuals.

Hunger is a potent motivation of food seeking and taking behavior because of the intrinsic evolutionary value of 1) working to obtain food when energy stocks are low and 2) avoiding excessive risk or unnecessary exertion when energy stocks are already sufficient. In this study, both PSS and PR break points were very sensitive to hunger manipulation, and rats dramatically increased their break points when hungry and decreased it when sated. This is consistent with previous findings in rats with PR (Hodos, 1961; Solinas and Goldberg, 2005) and with punishment (Jacobs and Moghaddam, 2020; Storms, 1963). Incentive value of food is also an important motivator of food seeking and taking. In different versions of choice experiments, rats rapidly learn to perform actions that lead to the delivery of higher quantity of reward and this preference can be used to investigate the effects of manipulations of delay, risks, etc (Evenden and Ryan, 1996; Floresco et al., 2008; Wahab et al., 2018), and higher concentrations of a liquid reward maintain higher break points in the PR (Hodos, 1961; Reilly, 1999). In our procedure, manipulations where reward size was increased produced inconsistent results. For PSS, no effect was found in males but a decrease in break point was found in females whereas for PR, an increase was found in males and no effect was found in females. These results are likely to be highly influenced by satiation effects associated with doubling the reward size; these effects were stronger in females compared to males because of metabolic needs and were stronger in the PSS compared to PR because in this procedure rats obtain higher number of rewards in the PSS (10–20 deliveries/session in the PR and 30–50 for PSS). For example, it has been shown that PR responding becomes independent from concentration of liquid rewards when rats are water deprived (Reilly, 1999). Therefore, we cannot interpret these results purely in terms of incentive value. In contrast to reward size, manipulations of reward quality (giving chocolate pellets instead of sucrose) led to clear increases in both PSS and PR break points in males and females.

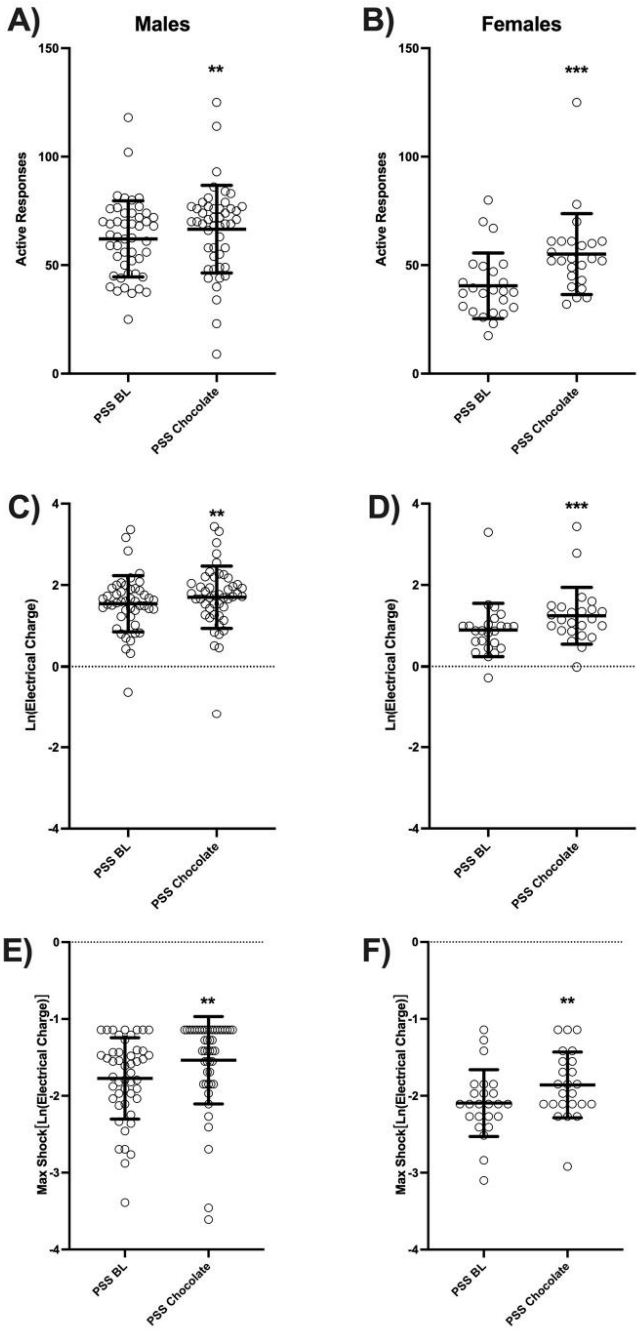


Fig. 7. Effects of modulation of reward quality on resistance to punishment in the PSS. Resistance to punishment during a PSS session with delivery of one sucrose (baseline, PSS BL) or one chocolate (PSS Chocolate) in male (left panels: A, C, E) and female rats (right panels: B, D, F) measured by the number of active responses (A, B), the total electrical charge sustained (C, D) and the max electrical charge sustained (E, F). Data are expressed as mean ± SD (Males n = 48; Females = 24). Wilcoxon test: ** and ***, $P < 0.01$ and $P < 0.001$ compared to PSS BL.

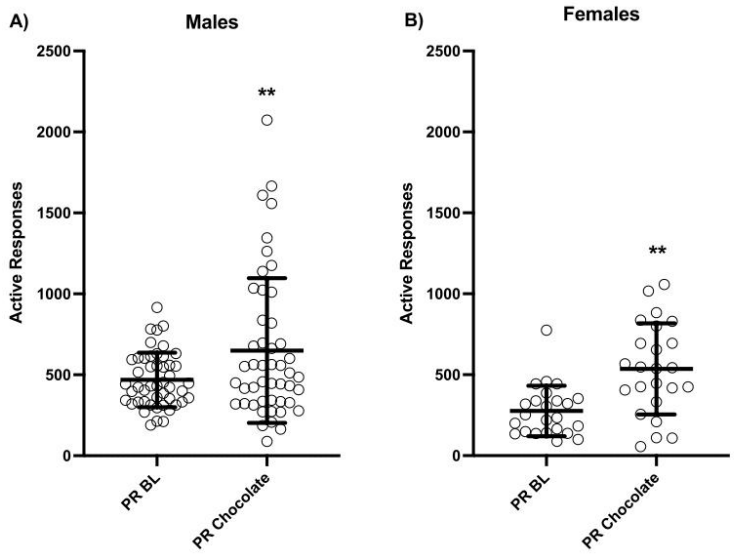


Fig. 8. Effects of modulation of reward quality on motivation in the PR. Number of active responses during a PR session with delivery of one sucrose (baseline, PR BL) or one chocolate (PR Chocolate) in male (A) and female rats (B). Data are expressed as mean ± SD (Males n = 48; Females = 24). Wilcoxon test: **, $P < 0.01$ compared to PR BL.

Thus, both PSS and PR are sensitive to changes in incentive value of the reward if satiation levels are maintained at a constant level.

Differences in sensitivity to punishment may be explained by different behavioral mechanisms such as differences in reward/motivation processes, sensitivity to the aversive stimulus, pavlovian learning, encoding the relation between response and the punishment or the inability to control behavior (Jean-Richard-Dit-Bressel et al., 2019). In an elegant study using a conditioned punishment task that distinguished between different aspects of punishment insensitivity, Jean--Richard-Dit-Bressel et al. (2019) found that insensitivity to punishment is not related to reward/motivation or Pavlovian fear. The authors argue that individual differences in resistance to punishment is related to deficits in encoding the contingency between behavior and the delivery of shock and not to differences in behavioral inhibition because punishment-resistant rats showed normal suppression of behavior by Pavlovian fear. Although our study was not designed to investigate the specific mechanisms of punishment, the fact that punishment and motivation breakpoints were not intercorrelated under basal conditions (Fig. 2) and throughout the experiment (supplementary information, Fig. S4), is in agreement with the interpretation that resistance to punishment is not simply due to reward/motivation processes. These results are also in agreement with previous papers that directly investigated both measures for drugs such as cocaine (Datta et al., 2018; Pelloux et al., 2007; but see Venniro et al., 2018), food rewards (Datta et al., 2018) or direct stimulation of VTA dopamine neurons (Pascoli et al., 2015). It is possible that motivation in progressive ratio schedules is mostly dependent on reward neurotransmitters such as dopamine (Cagniard et al., 2006; Ko and Wanat, 2016; Kravitz et al., 2012; Randall et al., 2012), endoopioids and endocannabinoids (Solinas and Goldberg, 2005) whereas resistance to punishment depends also on brain serotonin levels (Cohen et al., 2015; Pelloux et al., 2012); it is also possible that the balance between these two systems (Palminteri and Pessiglione, 2017) and/or the involvement of other neurotransmitters such as glutamate and GABA (Stephenson-Jones et al., 2020) participate in determining individual differences. Importantly, consistent with previous studies (Degoulet et al., 2021; Li et al., 2021), sensitivity to aversion does not seem to be responsible for differences in punishment because pain sensitivity in the hot-plate test did not differ between resistant and sensitive rats. Future studies are needed to investigate the precise mechanisms responsible for resistance to punishment in the PSS procedure.

Differences exist between males and females in the incidence and prevalence of psychiatric disorders and namely drug addiction and eating disorders (Earls, 1987; O'Brien and Anthony, 2005; Solmi et al., 2021) and have also been reported in animal models (Asarian and Geary, 2013; Becker and Koob, 2016). Previous studies investigating sex differences in the motivation for food have reported no difference in PR responding (van Hest et al., 1988) or slightly higher responding in males compared to females that could be explained by differences in the procedure, baseline responding and body weight (Datta et al., 2017). On the other hand, sex differences have been reported in punished-guided actions with females being more sensitive than males when punishment was probabilistic and less sensitive when it was certain (Chowdhury et al., 2019). In this study, we found differences in baseline behaviors, with males having higher food intake and PR responding, consistent with males having higher body weight, vigor, and metabolic needs. Because of these differences, which could confound the interpretation of the results, we avoided direct comparison between males and females and instead we analyzed their behavior separately. Importantly, we found that manipulations of hunger and incentive value of food produced qualitatively similar effects on PSS and PR in males and females.

Although our PSS procedure appears to have several strengths, it may have some limitations compared to other procedures. For example, several punishment procedures use probabilistic punishment schedules

in which only a percentage (often 50%) of responses are punished (Jacobs and Moghaddam, 2020; Marchant et al., 2018; Pascoli et al., 2015). This has the advantage of modeling the fact that punishment in humans is uncertain and, in addition, it avoids animals to completely stop responding in punishment sessions. In our procedure, adding a probability factor would have reduced the number of times a rat could experience a given strength of shock or it would have required more trials at a given strength before changing it, which would have undoubtedly complicated the procedure and the interpretation of the results. Another issue that is addressed directly by other procedures but not ours, is the distinction between seeking and taking (Jacobs and Moghaddam, 2020; Pascoli et al., 2015; Pelloux et al., 2007). With food reinforcement, after pressing the "taking" lever, rats have to perform a further action to consume the pellet, therefore, it could be argued that pressing the lever in our procedure is reward seeking whereas eating the pellet is reward taking. It could be interesting to investigate whether similar or different results would be obtained in the PSS procedure if a seeking lever were added, and punishment occurred on this lever well before having access to the food. In general, whereas the parameters (values of shock, progression, number of repetitions, etc) we chose for our PSS procedure provided a sensitive measure of resistance to punishment of responding for food reward, it remains to be investigated whether other parameters would provide more sensitive measures of resistance to punishment of responding for food reward or for other natural, pharmacological or artificial rewards.

In conclusion, we developed and characterized a novel operant self-adjusting procedure to investigate resistance to punishment in rats. This procedure provides in a single session an individual value, the PSS break point, that reflects the willingness of the animal to seek and take a reward despite negative consequences, a characteristic of compulsive behaviors and addiction. The PSS procedure may be a useful, efficient tool to investigate neurobiological mechanisms of punishment and it could also be easily adapted to the investigation of compulsive seeking in drug addiction processes.

Funding and Disclosure

This work was supported by the Centre National pour la Recherche Scientifique, the Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, the University of Poitiers, the Nouvelle Aquitaine CPER 2015–2020/FEDER 2014–2020 program "Habisan" and the Nouvelle Aquitaine grant AAPR2020A-2019-8357510 (PI: M. Solinas) and the IRESP grant « IRESP-19-ADDICTIONS-20 » (PI: M. Solinas). The contribution of LVP was supported by the Intramural Research Program of the NIH, National Institute on Drug Abuse. The authors declare no competing interests.

CRediT authorship contribution statement

Stevenson Desmercieres: Data curation, Investigation, Writing - review & editing. **Virginie Lardeux:** Data curation, Investigation, Writing - review & editing. **Jean-Emmanuel Longueville:** Data curation, Software, Visualization, Writing - review & editing. **Myriam Hanna:** Data curation, Software, Visualization, Writing - review & editing. **Leigh V. Panlilio:** Methodology, Software, Writing - review & editing. **Nathalie Thiriet:** Conceptualization, Writing - review & editing. **Marcello Solinas:** Conceptualization, Formal analysis, Funding acquisition, Supervision, Writing - original draft, Writing - review & editing.

Data availability

Data will be made available on request.

Acknowledgements

We thank Youna Vandaele and Pauline Belujon for helpful comments on a previous version of the manuscript. This study has benefited from the facilities and expertise of PREBIOS platform (Université de Poitiers).

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2022.109261.

References

Apergis-Schoute, A.M., Gillan, C.M., Fineberg, N.A., Fernandez-Egea, E., Sahakian, B.J., Robbins, T.W., 2017. Neural basis of impaired safety signaling in Obsessive Compulsive Disorder. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 114, 3216–3221. https://doi.org/10.1073/pnas.1609194114.

Asarian, L., Geary, N., 2013. Sex differences in the physiology of eating. Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. 305, R1215–R1267. https://doi.org/10.1152/ajpregu.00446.2012.

Becker, J.B., Koob, G.F., 2016. Sex differences in animal models: focus on addiction. Pharmacol. Rev. 68, 242–263. https://doi.org/10.1124/pr.115.011163.

Belin, D., Berson, N., Balado, E., Piazza, P.V., Deroche-Gamonet, V., 2011. High-novelty-preference rats are predisposed to compulsive cocaine self-administration. Neuropsychopharmacology 36, 569–579. https://doi.org/10.1038/npp.2010.188.

Bentzley, B.S., Jhou, T.C., Aston-Jones, G., 2014. Economic demand predicts addiction-like behavior and therapeutic efficacy of oxytocin in the rat. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 111, 11822–11827. https://doi.org/10.1073/pnas.1406324111.

Cagniard, B., Balsam, P.D., Brunner, D., Zhuang, X., 2006. Mice with chronically elevated dopamine exhibit enhanced motivation, but not learning, for a food reward. Neuropsychopharmacology 31, 1362–1370. https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300966.

Chowdhury, T.G., Wallin-Miller, K.G., Rear, A.A., Park, J., Diaz, V., Simon, N.W., Moghaddam, B., 2019. Sex differences in reward- and punishment-guided actions. Cognit. Affect Behav. Neurosci. 19, 1404–1417. https://doi.org/10.3758/s13415-019-00736-w.

Church, R.M., Raymond, G.A., Beauchamp, R.D., 1967. Response suppression as a function of intensity and duration of a punishment. J. Comp. Physiol. Psychol. 63, 39–44. https://doi.org/10.1037/h0024174.

Cohen, J.Y., Amoroso, M.W., Uchida, N., 2015. Serotonergic neurons signal reward and punishment on multiple timescales. Elife 4, e06346. https://doi.org/10.7554/eLife.06346.

Datta, U., Martini, M., Sun, W., 2018. Different functional domains measured by cocaine self-administration under the progressive-ratio and punishment schedules in male Wistar rats. Psychopharmacology 235, 897–907. https://doi.org/10.1007/s00213-017-4808-1.

Datta, U., Martini, M., Sun, W.L., 2017. Sex Differences in the Motivational Contrast between Sucrose and Cocaine in Rats 6.

Degoulet, M., Tiran-Cappello, A., Combrisson, E., Baunez, C., Pelloux, Y., 2021. Subthalamic low-frequency oscillations predict vulnerability to cocaine addiction. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 118, e2024121118 https://doi.org/10.1073/pnas.2024121118.

Deroche-Gamonet, V., Belin, D., Piazza, P.V., 2004. Evidence for addiction-like behavior in the rat. Science 305, 1014–1017. https://doi.org/10.1126/science.1099020.

Deuis, J.R., Dvorakova, L.S., Vetter, I., 2017. Methods used to evaluate pain behaviors in rodents. Front. Mol. Neurosci. 10.

Domi, E., Xu, L., Toivainen, S., Nordeman, A., Gobbo, F., Venniro, M., Shaham, Y., Messing, R.O., Visser, E., van den Oever, M.C., Holm, L., Barbier, E., Augier, E., Heilig, M., 2021. A neural substrate of compulsive alcohol use. Sci. Adv. 7, eabg9045 https://doi.org/10.1126/sciadv.abg9045.

Durand, A., Girardeau, P., Freese, L., Ahmed, S.H., 2021. Increased responsiveness to punishment of cocaine self-administration after experience with high punishment. Neuropsychopharmacology. https://doi.org/10.1038/s41386-021-01159-3.

Earls, F., 1987. Sex differences in psychiatric disorders: origins and developmental influences. Psychiatr. Dev. 5, 1–23.

Evenden, J.L., Ryan, C.N., 1996. The pharmacology of impulsive behaviour in rats: the effects of drugs on response choice with varying delays of reinforcement. Psychopharmacology (Berl) 128, 161–170. https://doi.org/10.1007/s002130050121.

Figee, M., Pattij, T., Willuhn, I., Luigjes, J., van den Brink, W., Goudriaan, A., Potenza, M. N., Robbins, T.W., Denys, D., 2016. Compulsivity in obsessive–compulsive disorder and addictions. Eur. Neuropsychopharmacol 26, 856–868. https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2015.12.003.

Floresco, S.B., St Onge, J.R., Ghods-Sharifi, S., Winstanley, C.A., 2008. Cortico-limbic-striatal circuits subserving different forms of cost-benefit decision making. Cognit. Affect Behav. Neurosci. 8, 375–389. https://doi.org/10.3758/CABN.8.4.375.

Hodos, W., 1961. Progressive ratio as a measure of reward strength. Science 134, 943–944. https://doi.org/10.1126/science.134.3483.943.

Hogarth, L., 2020. Addiction is driven by excessive goal-directed drug choice under negative affect: translational critique of habit and compulsion theory. Neuropsychopharmacology 45, 720–735. https://doi.org/10.1038/s41386-020-0600-8.

Hubrecht, Carter, 2019. The 3Rs and humane experimental technique: implementing change. Animals 9, 754. https://doi.org/10.3390/ani9100754.

Jacobs, D.S., Moghaddam, B., 2020. Prefrontal cortex representation of learning of punishment probability during reward-motivated actions. J. Neurosci. 40, 5063–5077. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0310-20.2020.

Jean-Richard-Dit-Bressel, P., Ma, C., Bradfield, L.A., Killcross, S., McNally, G.P., 2019. Punishment insensitivity emerges from impaired contingency detection, not aversion insensitivity or reward dominance. Elife 8. https://doi.org/10.7554/eLife.52765.

Kanen, J.W., Apergis-Schoute, A.M., Yellowlees, R., Arntz, F.E., van der Flier, F.E., Price, A., Cardinal, R.N., Christmas, D.M., Clark, L., Sahakian, B.J., Crockett, M.J., Robbins, T.W., 2021. Serotonin depletion impairs both Pavlovian and instrumental reversal learning in healthy humans. Mol. Psychiatr. 26, 7200–7210. https://doi.org/10.1038/s41380-021-01240-9.

Kim, A.J., Anderson, B.A., 2020. The effect of concurrent reward on aversive information processing in the brain. Neuroimage 217, 116890. https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2020.116890.

Ko, D., Wanat, M.J., 2016. Phasic dopamine transmission reflects initiation vigor and exerted effort in an action- and region-specific manner. J. Neurosci. 36, 2202–2211. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1279-15.2016.

Krasnova, I.N., Marchant, N.J., Ladenheim, B., McCoy, M.T., Panlilio, L.V., Bossert, J.M., Shaham, Y., Cadet, J.L., 2014. Incubation of methamphetamine and palatable food craving after punishment-induced abstinence. Neuropsychopharmacology 39, 2008. https://doi.org/10.1038/npp.2014.50. –2016.

Kravitz, A.V., Tye, L.D., Kreitzer, A.C., 2012. Distinct roles for direct and indirect pathway striatal neurons in reinforcement. Nat. Neurosci. 15, 816–818. https://doi.org/10.1038/nn.3100.

Leander, J.D., 1973. Shock intensity and duration interactions on free-operant avoidance behavior. J. Exp. Anal. Behav. 19, 481–490. https://doi.org/10.1901/jeab.1973.19-481.

Li, Y., Simmler, L.D., Van Zessen, R., Flakowski, J., Wan, J.-X., Deng, F., Li, Y.-L., Nautiyal, K.M., Pascoli, V., Lüscher, C., 2021. Synaptic mechanism underlying serotonin modulation of transition to cocaine addiction. Science 373, 1252–1256. https://doi.org/10.1126/science.abi9086.

Marchant, N.J., Campbell, E.J., Kaganovsky, K., 2018. Punishment of alcohol-reinforced responding in alcohol preferring P rats reveals a bimodal population: implications for models of compulsive drug seeking. Prog. Neuro Psychopharmacol. Biol. Psychiatr. 87, 68–77. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2017.07.020.

Miller, N.E., 1960. Learning resistance to pain and fear: effects of overlearning, exposure, and rewarded exposure in context. J. Exp. Psychol. 60, 137–145. https://doi.org/10.1037/h0043321.

O'Brien, M.S., Anthony, J.C., 2005. Risk of becoming cocaine dependent: epidemiological estimates for the United States, 2000-2001. Neuropsychopharmacology 30, 1006–1018. https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300681.

Palminteri, S., Pessiglione, M., 2017. Opponent brain systems for reward and punishment learning. In: Decision Neuroscience. Elsevier, pp. 291–303. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805308-9.00023-3.

Panlilio, L.V., Thorndike, E.B., Schindler, C.W., 2003. Reinstatement of punishment-suppressed opioid self-administration in rats: an alternative model of relapse to drug abuse. Psychopharmacology 168, 229–235. https://doi.org/10.1007/s00213-002-1193-0.

Parker, C.C., Chen, H., Flagel, S.B., Geurts, A.M., Richards, J.B., Robinson, T.E., Solberg Woods, L.C., Palmer, A.A., 2014. Rats are the smart choice: rationale for a renewed focus on rats in behavioral genetics. Neuropharmacology 76, 250–258. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.05.047.

Pascoli, V., Terrier, J., Hiver, A., Lüscher, C., 2015. Sufficiency of mesolimbic dopamine neuron stimulation for the progression to addiction. Neuron 88, 1054–1066. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.10.017.

Pelloux, Y., Dilleen, R., Economidou, D., Theobald, D., Everitt, B.J., 2012. Reduced forebrain serotonin transmission is causally involved in the development of compulsive cocaine seeking in rats. Neuropsychopharmacology 37, 2505–2514. https://doi.org/10.1038/npp.2012.111.

Pelloux, Y., Everitt, B.J., Dickinson, A., 2007. Compulsive drug seeking by rats under punishment: effects of drug taking history. Psychopharmacology 194, 127–137. https://doi.org/10.1007/s00213-007-0805-0.

Rachlin, H., 1972. Response control with titration of punishment. J. Exp. Anal. Behav. 17, 147–157. https://doi.org/10.1901/jeab.1972.17-147.

Rachlin, H., Loveland, D., 1971. Titration of punishment. Psychonomic Sci. 22, 39–40. https://doi.org/10.3758/BF03335927.

Randall, P.A., Pardo, M., Nunes, E.J., Cruz, L.L., Vemuri, V.K., Makriyannis, A., Baqi, Y., Müller, C.E., Correa, M., Salamone, J.D., 2012. Dopaminergic modulation of effort-related choice behavior as assessed by a progressive ratio chow feeding choice task: pharmacological studies and the role of individual differences. PLoS One 7, e47934. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047934.

Reilly, S., 1999. Reinforcement value of gustatory stimuli determined by progressive ratio performance. Pharmacol. Biochem. Behav. 63, 301–311. https://doi.org/10.1016/S0091-3057(99)00009-X.

Richardson, N.R., Roberts, D.C., 1996. Progressive ratio schedules in drug self-administration studies in rats: a method to evaluate reinforcing efficacy. J. Neurosci. Methods 66, 1–11. https://doi.org/10.1016/0165-0270(95)00153-0.

Solinas, M., Goldberg, S.R., 2005. Motivational effects of cannabinoids and opioids on food reinforcement depend on simultaneous activation of cannabinoid and opioid systems. Neuropsychopharmacology 30, 2035–2045. https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300720.

Solinas, M., Panlilio, L.V., Antoniou, K., Pappas, L.A., Goldberg, S.R., 2003. The cannabinoid CB1 antagonist *N*- piperidinyl-5-(4-chlorophenyl)-1-(2,4-dichlorophenyl) -4-methylpyrazole-3-carboxamide (SR-141716A) differentially alters the reinforcing effects of heroin under continuous reinforcement, fixed ratio, and progressive ratio schedules of drug self-administration in rats. J. Pharmacol. Exp. Therapeut. 306, 93–102. https://doi.org/10.1124/jpet.102.047928.

Solmi, M., Radua, J., Olivola, M., Croce, E., Soardo, L., Salazar de Pablo, G., Il Shin, J., Kirkbride, J.B., Jones, P., Kim, J.H., Kim, J.Y., Carvalho, A.F., Seeman, M.V., Correll, C.U., Fusar-Poli, P., 2021. Age at onset of mental disorders worldwide: large-scale meta-analysis of 192 epidemiological studies. Mol. Psychiatr. https://doi.org/10.1038/s41380-021-01161-7.

Stephenson-Jones, M., Bravo-Rivera, C., Ahrens, S., Furlan, A., Xiao, X., Fernandes-Henriques, C., Li, B., 2020. Opposing contributions of GABAergic and glutamatergic ventral pallidal neurons to motivational behaviors. Neuron 105, 921–933. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.12.006 e5.

Stevens, S.S., 1957. On the psychophysical law. Psychol. Rev. 64, 153–181. https://doi.org/10.1037/h0046162.

Storms, L.H., 1963. Effects of punishment as a function of strain of rat and duration of shock. J. Comp. Physiol. Psychol. 56, 1022–1026. https://doi.org/10.1037/h0043165.

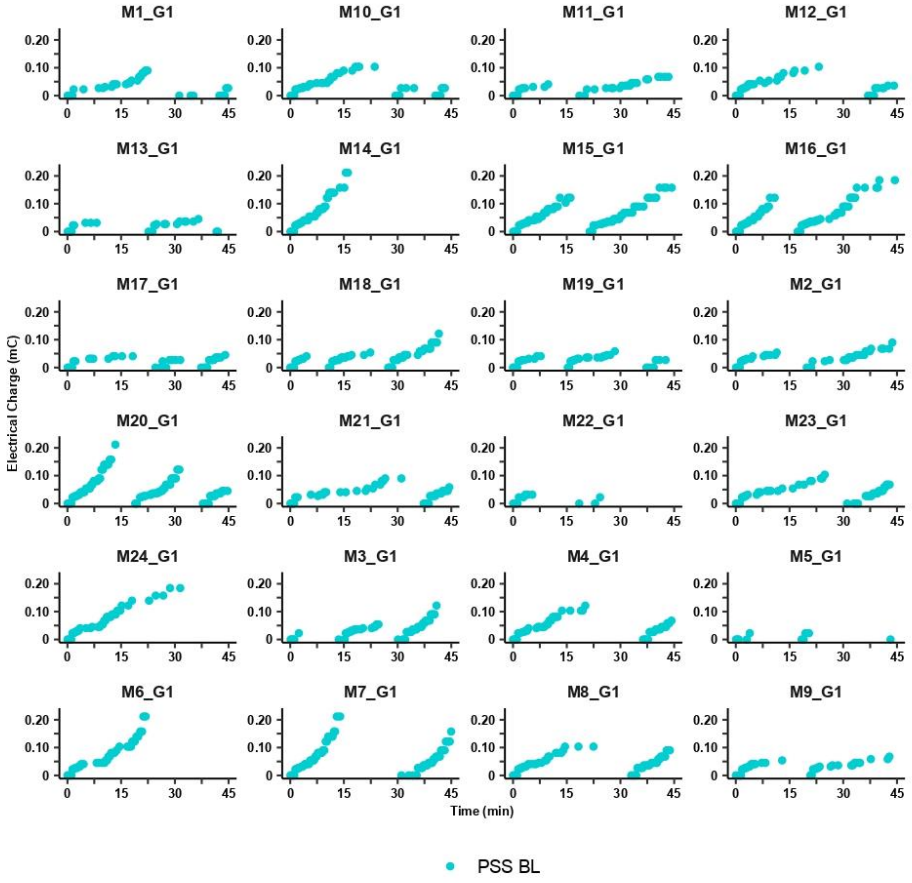
van Hest, A., van Haaren, F., van de Poll, N.E., 1988. The behavior of male and female Wistar rats pressing a lever for food is not affected by sex differences in food motivation. Behav. Brain Res. 27, 215–221. https://doi.org/10.1016/0166-4328(88)90118-0.

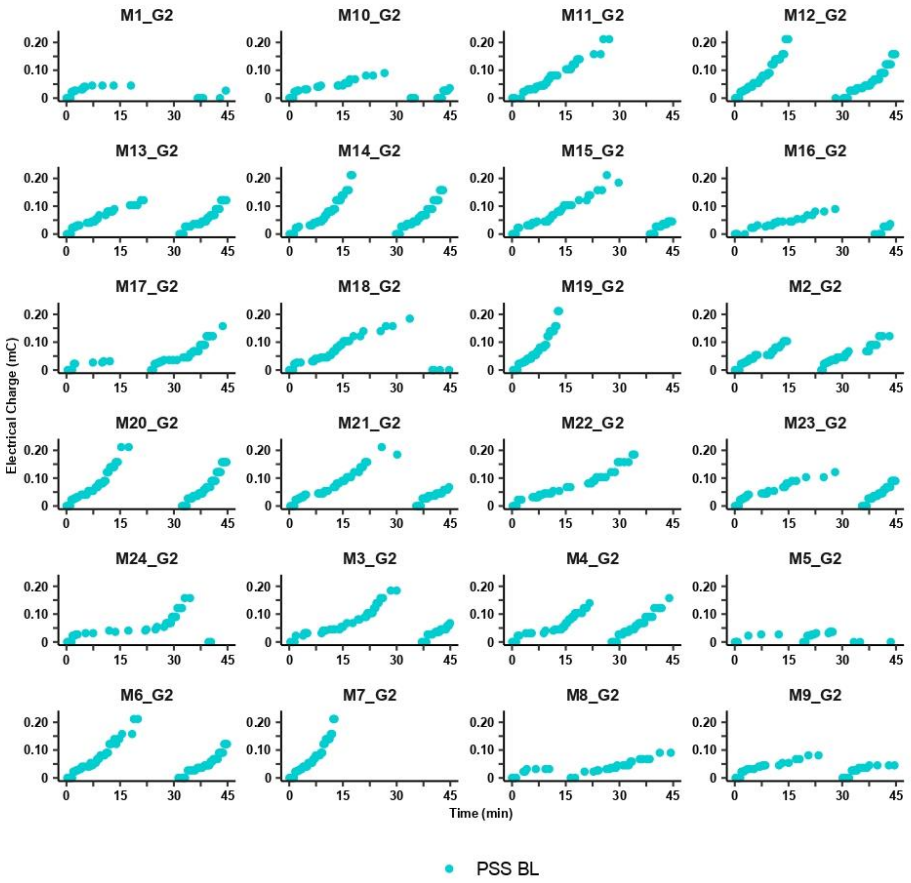
Venniro, M., Zhang, M., Caprioli, D., Hoots, J.K., Golden, S.A., Heins, C., Morales, M., Epstein, D.H., Shaham, Y., 2018. Volitional social interaction prevents drug addiction in rat models. Nat. Neurosci. 21, 1520–1529. https://doi.org/10.1038/s41593-018-0246-6.

Wahab, M., Panlilio, L.V., Solinas, M., 2018. An improved within-session self-adjusting delay discounting procedure for the study of choice impulsivity in rats. Psychopharmacology (Berl) 235, 2123–2135. https://doi.org/10.1007/s00213-018-4911-y.

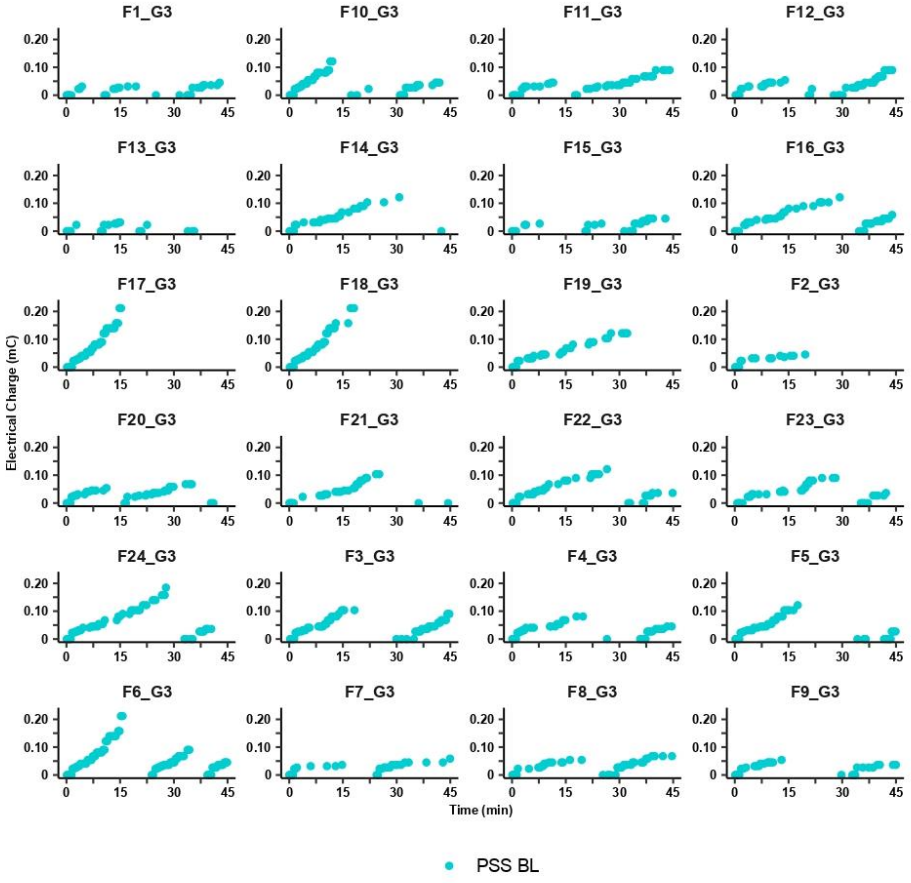
SUPPLEMENTARY INFORMATION
Supplementary figures and legends

Fig. S1. Individual event records for animals from the 3 cohorts (2 X 24 males and 24 females) in the PSS procedure under baseline conditions. Each page represents a cohort of rats: 1) 24 males; 2) 24 males and 3) 24 females. Data from the second session of baseline PSS are plotted. Each panel represents the behavior of an individual rat in a 45 min session. The X axis shows the time within the session, and the Y axis shows the intensity of each subsequent shock received. Circles show the delivery of the reward and the shock. Note that if rats stopped responding for 5 min, the shock level was reset to 0. The shock condition was signaled by a flashing light whose blinking speed was proportional to the intensity of the shock.



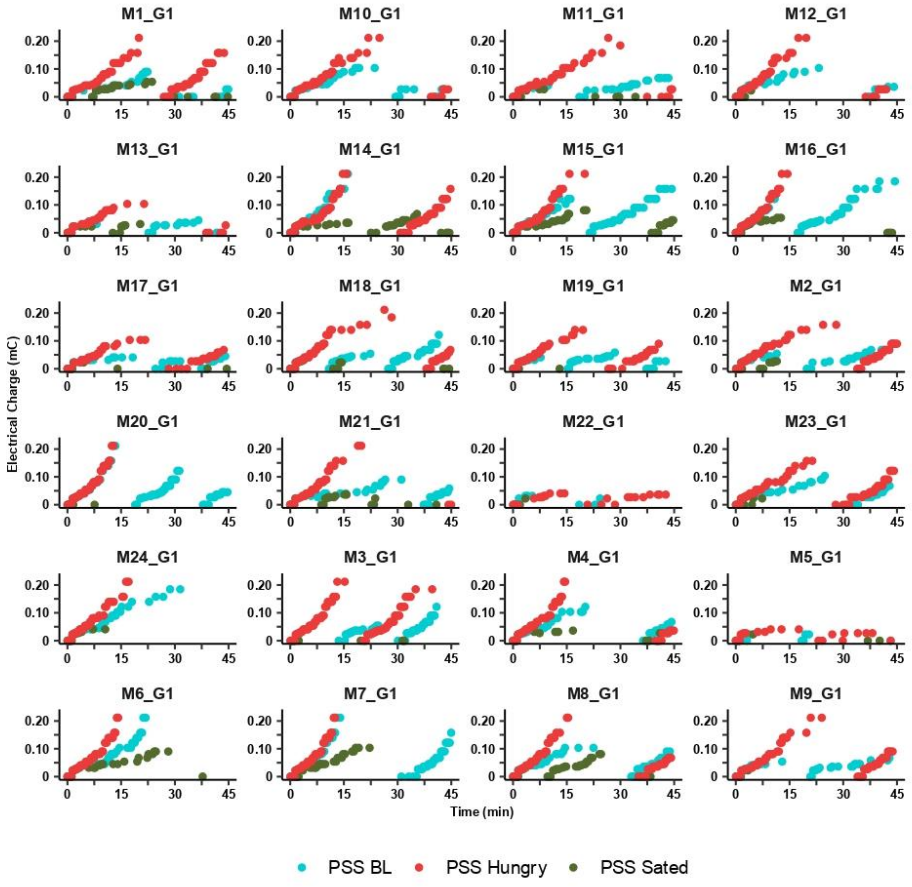

M1_G2
M10_G2
M11_G2
M12_G2
M13_G2
M14_G2
M15_G2
M16_G2
M17_G2
M18_G2
M19_G2
M2_G2
M20_G2
M21_G2
M22_G2
M23_G2
M24_G2
M3_G2
M4_G2
M5_G2
M6_G2
M7_G2
M8_G2
M9_G2
Electrical Charge (mC)
0.20
0.10
0
0
15
30
45
Time (min)
PSS BL

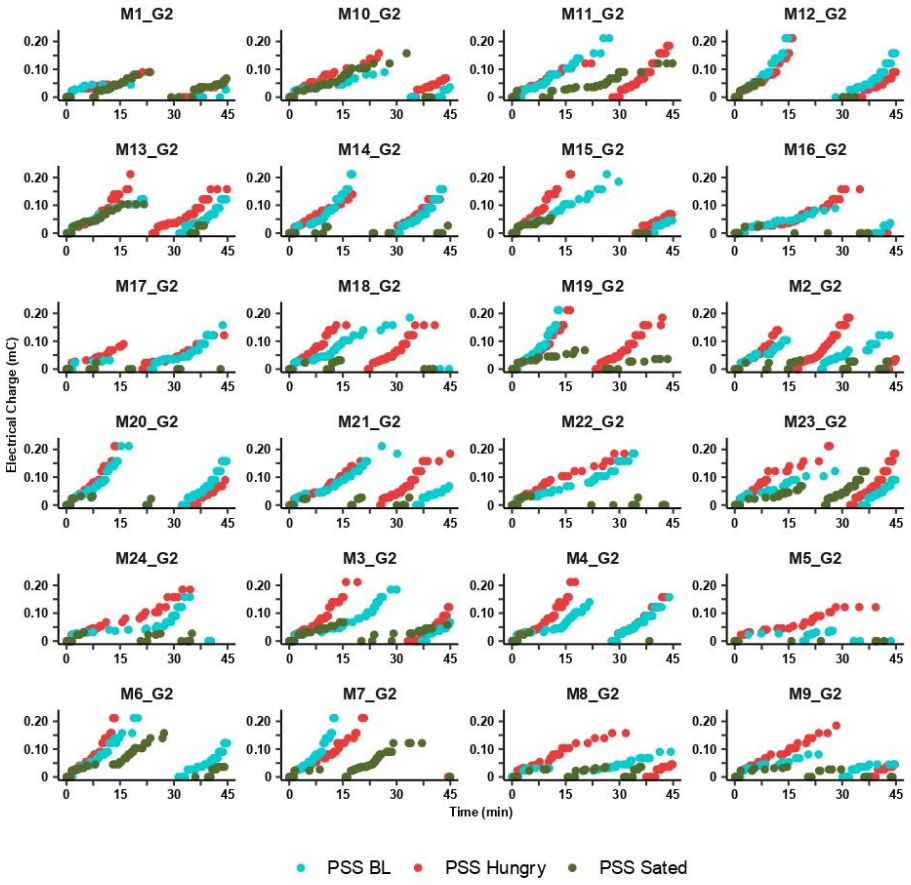
2


F1_G3
F10_G3
F11_G3
F12_G3
F13_G3
F14_G3
F15_G3
F16_G3
F17_G3
F18_G3
F19_G3
F2_G3
F20_G3
F21_G3
F22_G3
F23_G3
F24_G3
F3_G3
F4_G3
F5_G3
F6_G3
F7_G3
F8_G3
F9_G3
Electrical Charge (mC)
0.20
0.10
0
0
15
30
45
Time (min)
PSS BL

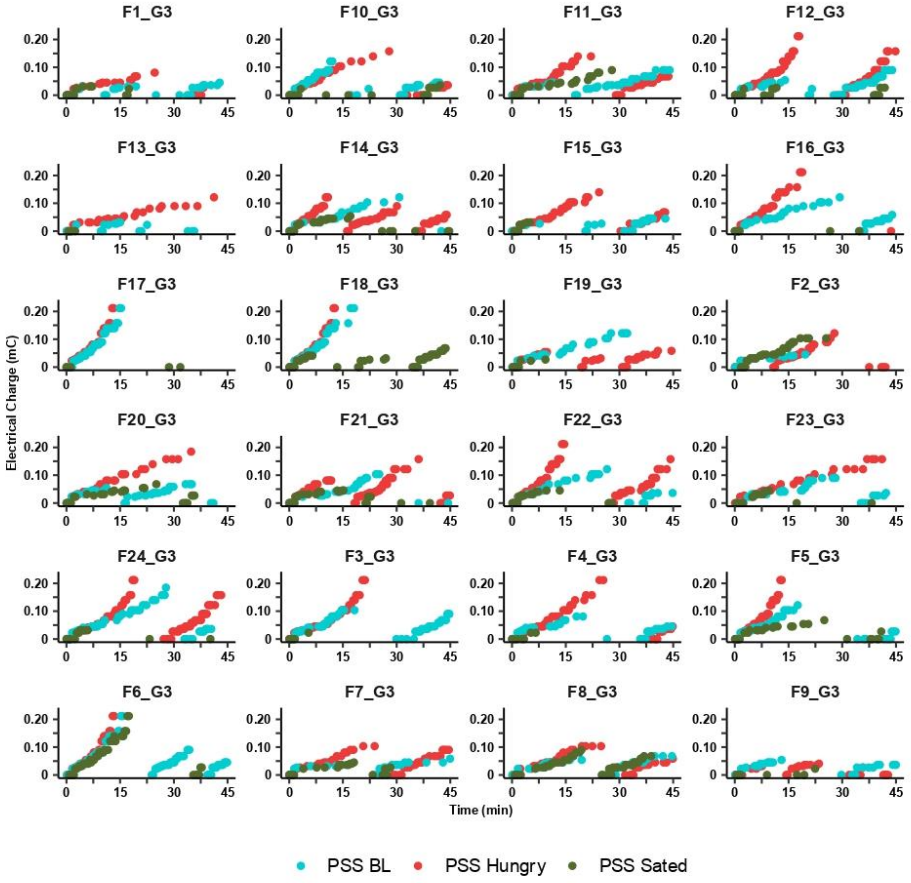
3

Fig. S2. Individual event records for animals from the 3 cohorts in the PSS procedure under baseline, restriction and satiation conditions. Each page represents a cohort of rats: 1) 24 males; 2) 24 males and 3) 24 females. Each panel represents the behavior of an individual rat in a 45 min session. The X axis show the time within the session and the Y axis shows the intensity each subsequent shock received. Circles show the delivery of the reward and the shock. Note that if rats stopped responding for 5 min, the shock level was reset to 0. The shock condition was signaled by a flashing light whose blinking speed was proportional to the intensity of the shock. Baseline data are the same as shown in fig S1.




M1_G2
M10_G2
M11_G2
M12_G2
M13_G2
M14_G2
M15_G2
M16_G2
M17_G2
M18_G2
M19_G2
M2_G2
M20_G2
M21_G2
M22_G2
M23_G2
M24_G2
M3_G2
M4_G2
M5_G2
M6_G2
M7_G2
M8_G2
M9_G2
Electrical Charge (mC)
0.20
0.10
0
0
15
30
45
Time (min)
PSS BL
PSS Hungry
PSS Sated

5


F1_G3
F10_G3
F11_G3
F12_G3
F13_G3
F14_G3
F15_G3
F16_G3
F17_G3
F18_G3
F19_G3
F2_G3
F20_G3
F21_G3
F22_G3
F23_G3
F24_G3
F3_G3
F4_G3
F5_G3
F6_G3
F7_G3
F8_G3
F9_G3
Electrical Charge (mC)
Time (min)
PSS BL
PSS Hungry
PSS Sated

6

Fig. S3. Lack of correlation between anxiety levels and pain levels and PSS break points. Linear regression between anxiety levels measured as % time spent in the center of an open field and PSS break points in A) male and B) female rats. Linear correlation between pain sensitivity measured as latence to escape from a hot-plate and PSS break points in C) male and D) female rats. Dotted curves in E and F indicates 95% confidence intervals.

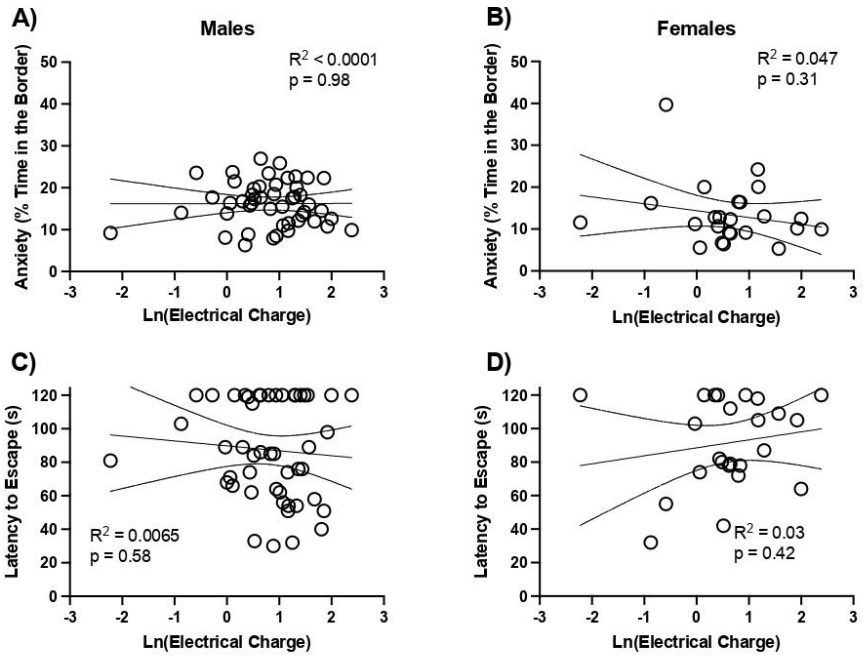
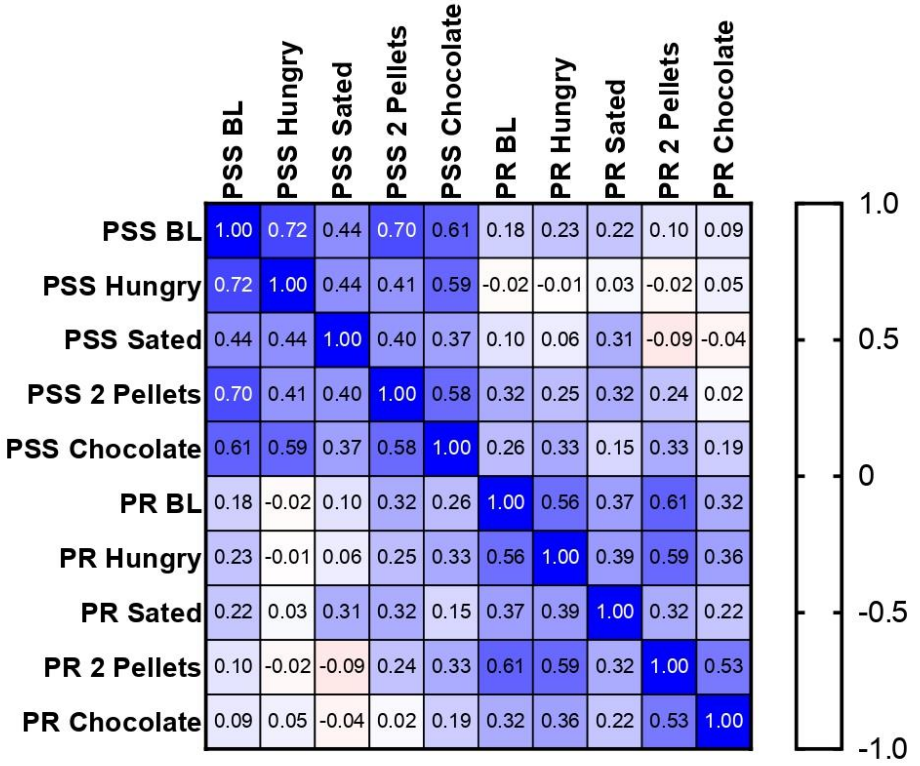


Fig. S4. Heatmap of within-subject correlation of PSS and PR values under different conditions in Male and Female rats. Notice that PSS break points were correlated throughout the experiments that lasted several months, showing consistency over time within individual rats. Similarly, PR break points were correlated over time. However, PSS and PR levels show no or little correlation under the different conditions tested.



8

Article 2

Effects of high fat, high sugar diet on motivation and compulsivity in rats: role of sex and age of exposure

Résumé : L'obésité et le surpoids ont augmenté de façon drastique dans le monde lors de ces dernières décennies et sont associés à une augmentation de la mortalité, de la morbidité et de la qualité de vie. Les études précliniques sont essentielles pour étudier les mécanismes comportementaux, physiologiques et neurobiologiques qui sous-tendent l'impact des régimes obésogènes riches en graisses et en sucres (HFSD) sur le développement de comportements inadaptés vis-à-vis de la nourriture. Ici, nous avons étudié les effets d'une exposition intermittente à un régime alimentaire HFSD sur l'auto-administration de nourriture et notamment sur la compulsivité et de motivation excessive. Nous avons constaté que, indépendamment du sexe ou de l'âge, lorsque les rats avaient accès au régime HFSD, leur schéma de consommation alimentaire était modifié avec une diminution de la consommation de nourriture standard entre les périodes d'exposition au régime HFSD. Cependant, le régime HFSD n'a pas produit d'altération persistante de la compulsivité ou de la motivation des animaux pour la nourriture. Ces résultats suggèrent que l'arrêt de ce régime stoppe les perturbations dans le temps et que ces perturbations causées par notre alimentation HFSD ne sont pas persistantes. L'ensemble de ces résultats suggère que les conséquences persistantes de l'exposition à des régimes obésogènes sur le développement de l'addiction à la nourriture sont limitées et subtiles.

Effects of high fat, high sugar diet on motivation and compulsivity in rats: role of sex and age of exposure

Stevenson Desmercieres[1], Virginie Lardeux[1], Jean-Emmanuel Longueville[1], Emilie Dugast[1,2], Nathalie Thiriet[1], Marcello Solinas[1]

[1] Université de Poitiers, INSERM, U-1084, Laboratoire des Neurosciences Expérimentales et Cliniques, Poitiers, France

[2]CHU de Poitiers, Poitiers, France

Corresponding author:

Dr Marcello Solinas

Université de Poitiers, INSERM U-1084

Laboratoire des Neurosciences Expérimentales et Cliniques

1, rue Georges Bonnet, TSA 51106

86073 Poitiers Cedex 9, France

Tel : 00 33 549366343

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

INTRODUCTION

Increase in obesity and overweight has dramatically increased in the last decades in the world (World Health Organization, www.who.int). Although obesity has increased in all categories, the increase appears to be more important for among children and adolescents and among women (WHO, www.who.int) suggesting that development and hormonal factors can have an impact on obesity. Importantly, obesity is associated with increased mortality, morbidity and impaired quality of life (Abdelaal et al. 2017) and, an analysis of its societal costs in 8 countries has estimated that the economic impact of obesity is on average 1.8% of Gross domestic product (GDP)and may increase up to 3.6 in 2050 (Okunogbe et al. 2021). Therefore, understanding the factors that influence obesity and the underlying biological mechanisms is critical to design strategies to limit the spreading of this conditions.

Obesity results from the energy imbalance between ingested and expanded calories (O'Connor and Kenny 2022). Although genetic factors play an important role in obesity (Loos and Yeo 2022), they cannot account for the rapid increases in obesity observed in the last decades. Therefore, changes in lifestyle and namely overconsumption of food rich in fat and sugar, and decrease in physical activity due to sedentary jobs, are likely the main drive behind the obesity epidemics (O'Connor and Kenny 2022). Importantly, in addition to their powerful metabolic impact, fat and sugary foods are believed to produce changes in the brain that are similar to those induced by drugs of addiction in humans and animals (Volkow et al. 2017; O'Connor and Kenny 2022).

Preclinical studies are critical to investigate the behavioral, physiological and neurobiological mechanisms underlying the impact of high-fat and high-sugar diets (HFSD) on the development of maladaptive behavior toward food. In animal models, two main measures have been used to characterize the addiction-like behavior induced by HFSD: excessive

motivation measured by progressive ratio (PR) schedules and compulsion measured by resistance to punishment (O'Connor and Kenny 2022). So far, the results in animals have been contradictory. For example, for motivation some studies have found increases (Wojnicki et al. 2006; la Fleur et al. 2007; Figlewicz et al. 2013; Garman et al. 2021), some decreases (Davis et al. 2008; Vendruscolo et al. 2010; Blaisdell et al. 2014; Tracy et al. 2015; Wong et al. 2017) and others no effect (Jong et al. 2013; Rossetti et al. 2014; Tracy et al. 2015). Similar for compulsivity, some studies have found increases (Johnson and Kenny 2010; Oswald et al. 2011; Rossetti et al. 2014), and one no effect (Jong et al. 2013). These discrepancies may be due to differences in the sex and the age of the animals, duration and type of exposure, the eventual discontinuation of treatment and the PR or punishment procedure used.

We have recently developed a self-adjusting procedure to investigate punishment in rats (Desmercieres et al. 2022). The progressive shock strength (PSS), similar to procedures commonly used in humans (Apergis-Schoute et al. 2017; Kim and Anderson 2020; Kanen et al. 2021), allows individual animals to titrate the level of punishment they are willing to receive in order to obtain a reward and provides PSS breakpoints that are sensitive to the motivation state and the value of the reward. Therefore, we aimed at using the PSS to assess the effects of HFSD on compulsivity and motivation. Because sex has been shown an important vulnerability factor for severe obesity (Hales 2020) and eating disorders (Kjelsås et al. 2004; Smink et al. 2012), we investigated the effects of HFSD in both male and female rats. In addition, because adolescence is a critical period for brain development (Spear 2000) and a window of vulnerability for the development of maladaptive behaviors including addiction food-related disorders (Larsen and Luna 2018), we investigated the effects of exposure to HFSD in both adolescence and adult rats.

METHODS

Subjects

Sprague-Dawley (Janviers Labs) rats of both sexes were used: 47 adolescents (4 weeks of age; 155 – 160g for female and 130 – 135g for male) and 48 adults (10 weeks of age; 230 – 250g female rat and 320 – 350g male rats). All rats, experimentally naïve at the start of the study, were housed in pairs with two wooden sticks for enrichment, in IVC cages (Techniplast, Sealsafe Plus GR900), in a temperature- and humidity-controlled room kept under reversed light-dark cycle conditions (12 hours light-dark cycle, lights off at 7 AM). All experiments were conducted during the dark phase and in accordance with European Union directives (2010/63/EU) for the care of laboratory animals and approved by the local ethics committees (COMETHEA).

General design of the experiments

First, rats were exposed to chronic HFSD or control diet for 8 weeks. At the end of this period, HFSD was discontinued, and standard diet was used for all groups and mild food restriction was implemented to motivate food responding and limit weight gain and maintain stable behavior until the end of the experiment. Food was given 1 hour after the end of the experimental sessions. Rats had unlimited access to water. Rats were allowed to self-administer food pellets for 9 training sessions and then resistance to punishment and food motivation were measured once every two weeks for 6 weeks. A typical week included 4 training and 1 test session. At the end of the experiment, anxiety levels and sensitivity to pain were measured on the same day.

We performed 4 separate experiments: 1) effects of HFSD in adolescent males; 2) effects of HFD in adolescent females; 3) effects of HFSD in adult males; and 4) effects of HFSD in adult females.

Exposure to HFSD

We used the HFSD exposure procedure described by Rossetti et al., which was shown an increase of compulsive feeding in females (Rossetti et al. 2014). Briefly, half of the rats were assigned to HFSD condition and the control condition. HFSD rats had access to 5TCY Tablets (Test diets, LabTreat^{TM} OmniTreat^{TM} Enrichment Tablet, 5g/Tablet) for the weekends (Friday 6:00 p.m. to Monday 9:00 a.m.) and the rest of the week, they had access to standard food (4RF21, Mucedola, Italy) in their homecage for eight weeks. Control rats had access only to standard food (4RF21, Mucedola, Italy) for the same period of time.

HFSD and standard diets had a similar number of calories (see Table. 1) and were given ad libitum during the exposure.

	Energy density	*Macronutrient composition (kcal%)*		
Food	*(kcal/g)*	*Carbohydrate*	*Protein*	*Fat*
4RF21 Mucedola (standard food)	3.150	46.31	18.5	2.6
5TCY Test diets (High fat Sugar Diet)	3.290	63.6	22.5	13.9
Precision pellet 5TUT 45 mg (sweet pellets)	3.404	100	0	0

Table 1: Diet composition

Food Reinforcement Apparatus and training procedure

Experimental chambers (MedAssociates, www.medassociates.com) were enclosed individually in sound-attenuation chests. Each experimental chamber had a recessed food tray, and two levers in the right wall. The floor was constituted by bars that were connected to shockers that could deliver foot shock, with electric current set to 0.45 mA. Each chamber was equipped with a food-pellet dispenser, which could deliver 45 mg pellets to the food tray. Experimental events were controlled by computers using MedAssociates interface and Med-PC IV software; Med-PC code used to conduct the procedures is available upon request. A diode light was present on each lever. One lever was assigned to be the active

lever and the corresponding light was used as a conditioned stimulus for food reinforcement. A third diode light was installed on the opposite wall, and its flashing was used as a discriminative stimulus to indicate that food reinforcement would be associated with a foot shock.

The general training schedule involved 45-min sessions of a fixed-ratio 1 (FR1) schedule of food reinforcement in which one lever press was required to obtain a 45 mg sucrose pellet. Rats initially learned to respond for food during nine sessions under this schedule. During these sessions, food availability was signalled by turning off the house-light, indicating that a single response on the active lever would immediately result in the delivery of one food pellet, accompanied by flashing of the diode light above the lever for 2 secs. Subsequently, the house light was turned on for an additional 18-sec time-out period, during which responding had no programmed consequences. Following the time-out, a new trial started and the next response on the right lever was again reinforced. Responses on the inactive lever were recorded but never reinforced.

Self-adjusting progressive shock strength (PSS) procedure

Resistance to punishment was measured during the 10th and 20th sessions was measured as previously described (Desmercieres et al. 2022). In the PSS procedure, active lever presses resulted in the delivery of food rewards and foot shocks of different magnitudes. The PSS consisted of steps in which the shock duration was increased each time the animal obtained 2 separate rewards at a given duration. The duration of the first step was 0 sec (no shock), the second step was a low duration of 0.05 sec and subsequent shocks increased of 15% at each step for 20 steps. Thus, the step sequence of durations was: 0, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.10, 0.12, 0.13, 0.15, 0.18, 0.20, 0.23, 0.27, 0.31, 0.35, 0.41, 0.47, 0.54, 0.62, 0.71 sec. At the beginning of each shock trial, the light on the opposite side of the levers and food

tray, was switched on and off intermittently for the entire trial for periods of time proportional to the duration of the shock to signal the presence of shock contingencies according to the formulas: Duration On = 0.1 sec times step number and Duration Off = 2 sec – Duration On. If animals reached the final step, the duration of the shock was not further increased, and all subsequent shock were set at 0.71 sec. If rats did not emit any response for 5 min, shock duration was reset to 0 sec and the shock progression was reinitialized. The 5 min threshold for reset was chosen based on pilot experiments showing that this level allowed most animals to reinitiate their operant behavior within a single session. Thus, animals could at any moment avoid higher magnitude of shock by limiting the frequency of food reinforcement until shock duration returned to 0 sec, which was signalled by the absence of the blinking light. The magnitude of the shock was measured by the electrical charge in millicoulombs (mC) that an animal would tolerate to obtain food pellets and was calculated by multiplying the fixed current of the shock (0.45 mA) by the duration in sec. The PSS session finish after 45 minutes and the break point was calculated by the cumulated electrical charge sustained during the session.

Progressive-ration (PR) schedule

Animal motivation was measured during the 15th and 25th sessions. Under the PR schedule of food reinforcement, the number of responses required to obtain a food pellet increased with each successive food pellet. The steps of the exponential progression were the same as those previously developed by Roberts and colleagues (Richardson and Roberts 1996) adapted for food reinforcement (Solinas et al. 2003; Solinas and Goldberg 2005), based on the equation: response ratio = $(5e^{(0.2 \times \text{reinforcer number})}) - 5$, rounded to the nearest integer. Thus, the values of the steps were 1, 2, 4, 6, 9, 12, 15, 20, 25, 32, 40, 50, 62, 77, 95, 118, 145, 178, 219, 268, 328, 402, 492, 603, and 737. Sessions under the progressive-ratio schedule

lasted until 10 min passed without completing a step, which, under basal conditions, occurred within 1 h.

Anxiety-related behaviors: Elevated plus maze procedure

The elevated plus maze (Viewpoint, Lyon, France) was composed of 4 arms (50 cm long * 10 cm wide at 42,5cm from the floor). Two arms had no walls (considered as open arms) and two had black walls on its edges (considered as closed arms). Each arm was placed on the opposite side of its copy separated by a central square (10*10 cm) in the middle giving access to all the arms. Rats position was recorded automatically and in real time by a camera and video tracking software (Viewpoint, Lyon, France). The software defined 4 virtual areas delimiting with a center zone. Anxiety was measured as the time spent in open arms so that more time spent in open arms indicated a lower level of anxiety.

Pain sensitivity: Hot plate test

The hot-plate (Ugo Basile, model-DS 37) was maintained at 48 °C (Deuis et al. 2017). After a habituation of 10 min, animals were placed into a glass cylinder of 25 cm diameter on the heated surface and 47cm walls. The latency before escape or jumping, was recorded. Experiments were stopped after a cut-off of 120 sec to prevent unnecessary pain or tissue damage.

Statistical Analysis

Data obtained were analyzed in GraphPad Prism. Data were checked for normality distribution on using the Shapiro–Wilk test. Weight gain and food consumption were assessed by two-way-ANOVA for repeated measures followed by Sidak's multiple comparisons post hoc test. The statistical evaluation data included a 2-way analysis of variance (ANOVA) corrected by the Greenhouse–Geisser method when datas have no gaussian distribution. PSS data were normalized using natural logarithm transformation as

previously done (Desmercieres et al. 2022). For baseline measures of PSS and PR break points, we used two-way ANOVA for repeated measures with time and diet as factors followed by Sidak's multiple comparisons post hoc test. Anxiety level and pain sensibility, data were assessed with a Mann-Whitney test after to confirm the no-gaussian distribution of groups by a Shapiro-Wilk test. Differences were considered significant when $p < 0.05$.

RESULTS

HFSD does not alter body weight but alters food consumption during the period of exposure

In adult male rats, before the exposure to HFSD, both groups had similar weights (359 ± 4 g for the control group and 355 ± 3 g for the HFSD group) (Fig. 1a). Over 8 weeks of exposure to HFSD, both groups increased their body weight similarly and at the end they showed similar weights (610 ± 8 g for the control group and 618 ± 9 g for the HFSD group) (Fig. 1a). Statistical analysis on body weight revealed a significant effect of time ($F(1.584, 34.85) = 1966$, $P<0.0001$; Greenhouse–Geisser $\varepsilon = 0.20$), no effect of diet ($F(1, 22) = 0.03016$, $P=0.8637$) and no significant time X diet interaction ($F(8, 176) = 0.9746$, $P=0.4574$) (Fig. 1a). During the weekends, when HFSD group had access to fat and sugar food and control group to standard food, food consumption was similar in the two groups except in the first (30.5 ± 0.2 g/day for the control group compared to 29.1 ± 0.2 g/day for the HFSD group) and third weekend where the control group had a higher daily consumption (Fig. 2a). Then, both groups stabilized their consumption at about 31 g/day (Fig. 2a). Statistical analysis revealed a significant effect of time ($F(3.440, 75.69) = 38.73$, $P<0.0001$; Greenhouse–Geisser $\varepsilon = 0.49$), no effect of diet ($F(1, 22) = 0.3539$, $P=0.5580$) and a significant time X diet interaction ($F(7, 154) = 15.95$, $P<0.0001$). Sidak's multiple comparisons test revealed a significative effect during the first and third weekend ($P<0.05$). Concerning daily food consumption during the rest of the week, when all groups had access only to standard food, the control group had a higher consumption than the HFSD group (~31g/day for the control group and ~27 g/day for the HFSD group) (Fig. 3a). Statistical analysis revealed a significant effect of time ($F(2.987, 65.72) = 24.18$, $P<0.0001$; Greenhouse–Geisser $\varepsilon = 0.43$), a significant effect of diet ($F(1, 22) = 15.38$, $P=0.0007$) and a significant time X diet interaction ($F(7, 154) = 7.371$, $P<0.0001$).

Sidak's multiple comparisons test revealed a significative effect the first (P<0.01) and the third weekend (P<0.01).

In adult female rats, initially HFSD and controls had similar weights (243 ± 3 g for the control group and 244 ± 3 g for the HFSD group) (Fig. 1b). Over 8 weeks of exposure to HFSD, both groups increased their body weight similarly and at the end they showed similar weights (309 ± 5 g for the control group and 311 ± 4 g for the HFSD group) (Fig. 1b). Statistical analysis on body weight revealed a significant effect of time (F (3.448, 75.86) = 433.6, P<0.0001; Greenhouse–Geisser ε = 0.43), no effect of diet (F (1, 22) = 0.4023, P=0.5325) and no significant time X diet interaction (F (8, 176) = 0.4958, P=0.8581). During the weekends, the HFSD group had a lower consumption of food than the control group for the 5 first weekends (20.0 ± 0.2 g/day for the control group and 21.8 ± 0.3 g/day for the HFSD group) (Fig. 2b). Then, the consumption stabilized and became similar in two groups at about 19 g/day (Fig. 2b). Statistical analysis on daily consumption revealed a significant effect of time (F (3.194, 70.26) = 20.53, P<0.0001; Greenhouse–Geisser ε = 0.46), a significant effect of diet (F (1, 22) = 11.21, P=0.0029) and a significant time X diet interaction (F (7, 154) = 4.108, P=0.0004). Sidak's multiple comparisons test revealed a significative effect during the first week (P<0.0001), the third (P<0.01) and the fifth weekend (P<0.01). During the rest of the week, the HFSD group had a lower daily consumption than the control group (18.7 ± 0.3 g/day for the control group and 16.3 ± 0.2g/day for the HFSD group) (Fig. 3b). Statistical analysis revealed a significant effect of time (F (1.768, 38.90) = 8.768, P=0.0011; Greenhouse–Geisser ε = 0.25), a significant effect of diet (F (1, 22) = 39,70, P<0.0001) and a significant time X diet interaction (F (7, 154) = 2.133, P=0.0433). Sidak's multiple comparisons test revealed a significative effect during the week 2 (P<0.01); 3 (P<0.05); 4 (P<0.0001); 6 (P<0.001); 7 (P<0.0001) and 8 (P<0.01).

In adolescent male rats, initially HFSD and controls had similar weights (130 ± 2 g for the control group and 136 ± 2 g for the HFSD group) (Fig. 1c). Over 8 weeks of exposure to HFSD, both groups increased their body weight similarly and at the end, they showed similar weights (547 ± 6 g for the control group and 544 ± 7 g for the HFSD group) (Fig. 1c). Statistical analysis on revealed a significant effect of time ($F(2.295, 50.50) = 7326$, $P<0.0001$; Greenhouse–Geisser $\varepsilon = 0.29$), no effect of diet ($F(1, 22) = 0.4127$, $P=0.5272$) but a significant time X diet interaction ($F(8, 176) = 1.993$, $P=0.0498$). During the first 2 weekends, the HFSD group had a lower daily consumption than the control group (~25 g/day for the control group ~23 g/day for the HFSD group) then, on the last weekend, the consumption of HFSD group was higher than control group (~31g/day for the control group and ~34g/day for the HFSD group) (Fig. 2c). Statistical analysis revealed a significant effect of time ($F(3.762, 82.77) = 235.1$, $P<0.0001$; Greenhouse–Geisser $\varepsilon = 0.54$), no significant effect of diet ($F(1, 22) = 0.8806$, $P=0.3582$) and a significant time X diet interaction ($F(7, 154) = 11.88$, $P<0.0001$). Sidak's multiple comparisons test revealed a significative effect during the first ($P<0.01$), the second (0.01) and the last weekend ($P<0.05$). During the rest of the week, HFSD and control group initially had similar consumptions but in the last 4 weeks the consumption of HFSD rats was lower than the control (32.2 ± 0.2 g/day for the control group and 29.6 ± 0.2 g/day for the HFSD group). Statistical analysis revealed a significant effect of time ($F(1.545, 34.00) = 77.16$, $P<0.0001$; Greenhouse–Geisser $\varepsilon = 0.22$) a significant effect of diet ($F(1, 22) = 32.98$, $P<0.0001$) and a significant time X diet interaction ($F(7, 154) = 10.42$, $P<0.0001$). Sidak's multiple comparisons test revealed a significative effect during the week 5 ($P<0.05$); 6 ($P<0.01$); 7 ($P<0.0001$) and 8 ($P<0.0001$).

In adolescent female rats, initially HFSD and controls had similar weights (159 ± 2 g for the control group and 156 ± 3 g for the HFSD group) (Fig. 1d). Over 8 weeks of exposure to HFSD,

both groups increased their body weight similarly and at the end they showed similar weights (304 ± 7 g for the control group and 307 ± 4 g for the HFSD group) (Fig. 1d). Statistical analysis on body weight revealed a significant effect of time ($F(2.887, 60.64) = 499.4$, $P<0.0001$; Greenhouse–Geisser $\varepsilon = 0.36$), no effect of diet ($F(1, 21) = 0.1359$, $P=0.7161$) and no significant time X diet interaction ($F(8, 168) = 0.8958$, $P=0.5214$). During the weekends, the HFSD and control group initially had a similar daily consumption of food but after 3-4 weeks HFSD rats started consuming more food than controls (19.5 ± 0.4 g/day for the control group and 21.2 ± 0.5 g/day for the HFSD group) (Fig. 2d). Statistical analysis revealed a significant effect of time ($F(3.322, 69.77) = 5,515$, $P=0.0013$; Greenhouse–Geisser $\varepsilon = 0.47$), a significant effect of diet ($F(1, 21) = 8.067$, $P=0.0098$) and no significant time X diet interaction ($F(7, 147) = 1.772$, $P=0.0971$). During the rest of the week, the HFSD group had a lower consumption of food the control (21.5 ± 0.3 g/day for the control group and 20.0 ± 0.4 g/day for the HFSD group about the first weekend and 19.7 ± 0.4 g/day for the control group and 18.6 ± 0.3 g/day for the HFSD group on the last weekend) (Fig. 3d). Statistical analysis revealed a significant effect of time ($F(3.951, 82.98) = 16.38$, $P<0.0001$; Greenhouse–Geisser $\varepsilon = 0.56$), a significant effect of diet $F(1, 21) = 5.383$, $P=0.0305$) and a significant time X diet interaction ($F(7, 147) = 3.055$, $P=0.0050$). Sidak's multiple comparisons test revealed a significative effect during the first week ($P<0.05$).

Exposure to HFSD does not produce a persistent alteration in compulsive food taking

During the training, no significant differences were found between control and HFSD groups in term of sugar pellet taking. Statistical analysis revealed in adult males a significant effect of time ($F(3.094, 66.90) = 239.3$, $P<0.0001$; Greenhouse–Geisser $\varepsilon = 0.39$), no significant effect of diet ($F(1, 22) = 3.214$; $P = 0.087$) and no significant interaction Time*Diet ($F(8, 173) = 1.117$; $P = 0.3539$). In adult female, a significant effect of time ($F(3.846, 84.62) = 78.27$;

P<0.0001; Greenhouse–Geisser ε = 0.48); no significant effect of diet (F (1, 22) = 3.017, P = 0.1) and no interaction time * diet (F (8, 176) = 1.890, P = 0.06) were found. In adolescent males, a significant effect of time (F (1.945, 42.78) = 355.3; P<0,0001; Greenhouse–Geisser ε = 0.24); no significant effect of diet (F (1, 22) = 1.623; P = 0.22) and no significant interaction time * diet (F (8, 176) = 0.2959; P = 0.97) were found. In adolescent females, a significant effect of time (F (3.188, 66.95) = 90.53; P < 0.0001; Greenhouse–Geisser ε = 0.40); no significant effect of diet (F (1, 21) = 0.05652; P=0.81) and no significant interaction time * diet (F (8, 168) = 0.3419; P=0.95) were found.

In adult males (Fig. 4a) and female rats (Fig 4b), as well as in adolescent male (Fig 4c) and female rats (Fig 4d), HFSD and control groups had a similar PSS break point (adult males: 1,35 ± 0,5 mC for the control group and 0,80 ± 0,3 for the HFSD group (P = 0.09; t = 1.77; DF = 22); adult females: 1.6 ± 0.4 mC for the control group and 1.4 ± 0,5 (P = 0.40; t = 0.85; DF = 22); adolescent males: 1.1 ± 0.2 mC for the control group and 0.8 ± 0,1 (P = 0.20; t = 1.331; DF = 22); Adolescent females: 0.5 ± 0.1 mC for the control group and 0.8 ± 0,1 (P = 0.87; t = 0.16; DF = 21).

Exposure to HFSD does not produce a persistent alteration in the motivation for food.

In adult males (Fig. 5a) and female rats (Fig 5b), as well as in adolescent male (Fig 5c) and female rats (Fig 5d), HFSD and control groups had a similar PR break point (adult males: 581 ± 45 for the control group and 480 ± 42 active responses for the HFSD group (P = 0.12; t = 1.64; DF = 22) adult females: 413 ± 64 for the control group and 407 ± 45 active responses for the HFSD group (P = 0.93; t = 0.08; DF = 22); adolescent males: 397 ± 38 for the control group and 380 ± 45 active responses for the HFSD group (P = 0.77; t = 0.30; DF = 22); Adolescent females: 236 ± 32 for the control group and 188 ± 35 active responses for the HFSD group (P = 0.34; t = 0.99; DF = 21).

Effects of Exposure to HFSD on anxiety-like behaviors and pain sensitivity

In adult male rats, HFSD and control groups spent similar amount of in the open arms (94 ± 31 s for the control group and 88 ± 54 s for HFSD group) (Fig. 6a). Statistical analysis on time spent in open arms revealed no significant effect of diet (Mann-Whitney U = 38.50; P = 0.053). During the hot plate test, HFSD and control groups had similar latency before to trying to escape (93 ± 6 s for the control group and 91 ± 9 s for the HFSD group) (Fig. 7a). Statistical analysis on the latency before escape revealed no significant effect of diet (Mann-Whitney U = 67; P = 0.78).

In adult female rats, HFSD and control groups spent similar amount of in the open arms (115 ± 33 s for the control group and 77 ± 20 s for HFSD group) (Fig. 6b) Statistical analysis on time spent in open arms revealed no significant effect of diet (Mann-Whitney U = 59; P = 0.48). During the hot plate test, HFSD and control groups had similar latency before to trying to escape (100 ± 9 s for the control group and 92 ± 7 s for the HFSD group) (Fig. 7b). Statistical analysis on the latency before escape revealed no significant effect of diet (Mann-Whitney U = 56; P = 0.35).

In adolescent male rats, HFSD and control groups spent similar amount of in the open arms (58 ± 12 s for the control group and 54 ± 12s for the HFSD group) (Fig. 6c). Statistical analysis on time spent in open arms revealed no significant effect of diet (Mann-Whitney U = 69.50; P = 0.90). During the hot plate test, HFSD group spent less time before to escape compared to control group (109 ± 9s for the control group and 84 ± 9s for the HFSD group) suggesting that in males exposure to HFSD during adolescence produces long-lasting increases in pain sensitivity (Fig. 7c). Statistical analysis on the latency before escape revealed a significant effect of diet (Mann-Whitney U = 36; P=0.03).

In adolescent female rats, HFSD and control groups spent similar amount of in the open arms (142 ± 25 s for the control group and 107 ± 14 s for the HFSD group) (Fig. 6c). Statistical analysis on time spent in open arms revealed no significant effect of diet (Mann-Whitney U = 48, P = 0.29). During the hot plate test, HFSD and control groups had similar latency before to trying to escape (79 ± 13 s for the control group and 67 ± 14 s for the HFSD group) (Fig. 7c). Statistical analysis on the latency before escape revealed a significant effect of diet (Mann-Whitney U = 49; P=0.30).

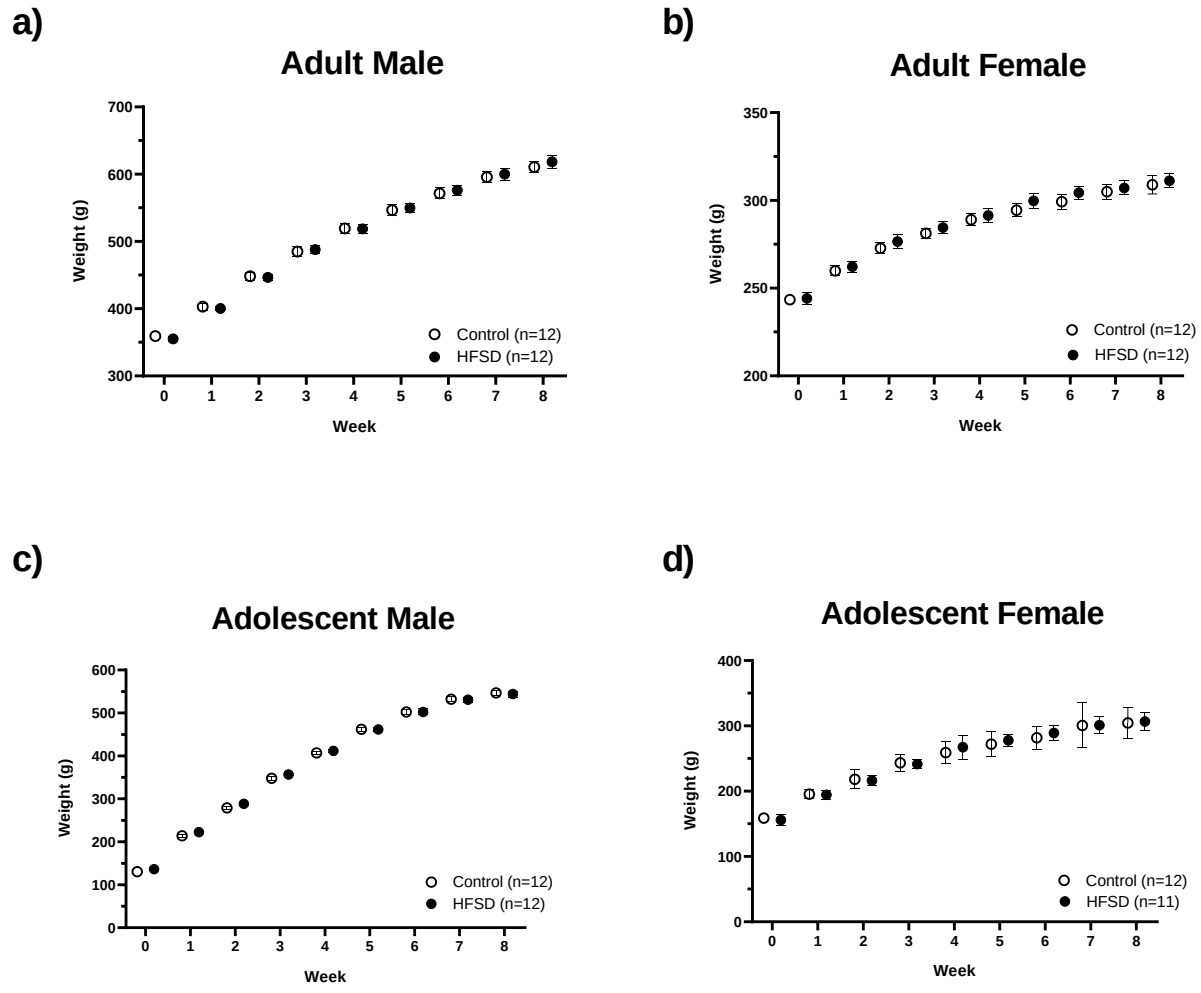


Fig 1: Effects of HFSD on body weight

Time course of body weight during the 8 weeks of exposure to HFSD in rats exposed to standard food (Control) and rats exposed to HFSD (HFSD). a) Adult males; b) Adult females; c) Adolescent males and d) Adolescent females. Data are expressed as mean ± SEM.

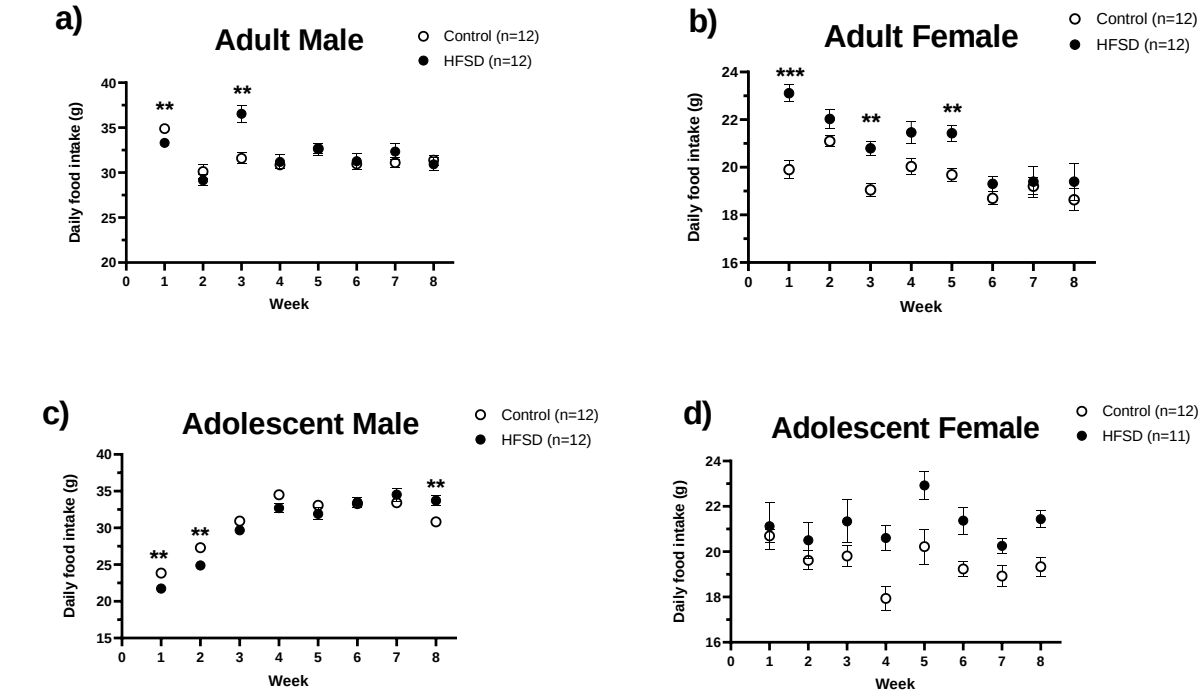


Fig 2: Effects of HFSD on daily food consumption during weekends

Time course of daily food consumption in the weekends during the 8 weeks of exposure to HFSD in rats exposed to standard food (Control) and rats exposed to HFSD (HFSD). a) Adult males; b) Adult females; c) Adolescent males and d) Adolescent females. Data are expressed as mean ± SEM. * $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$

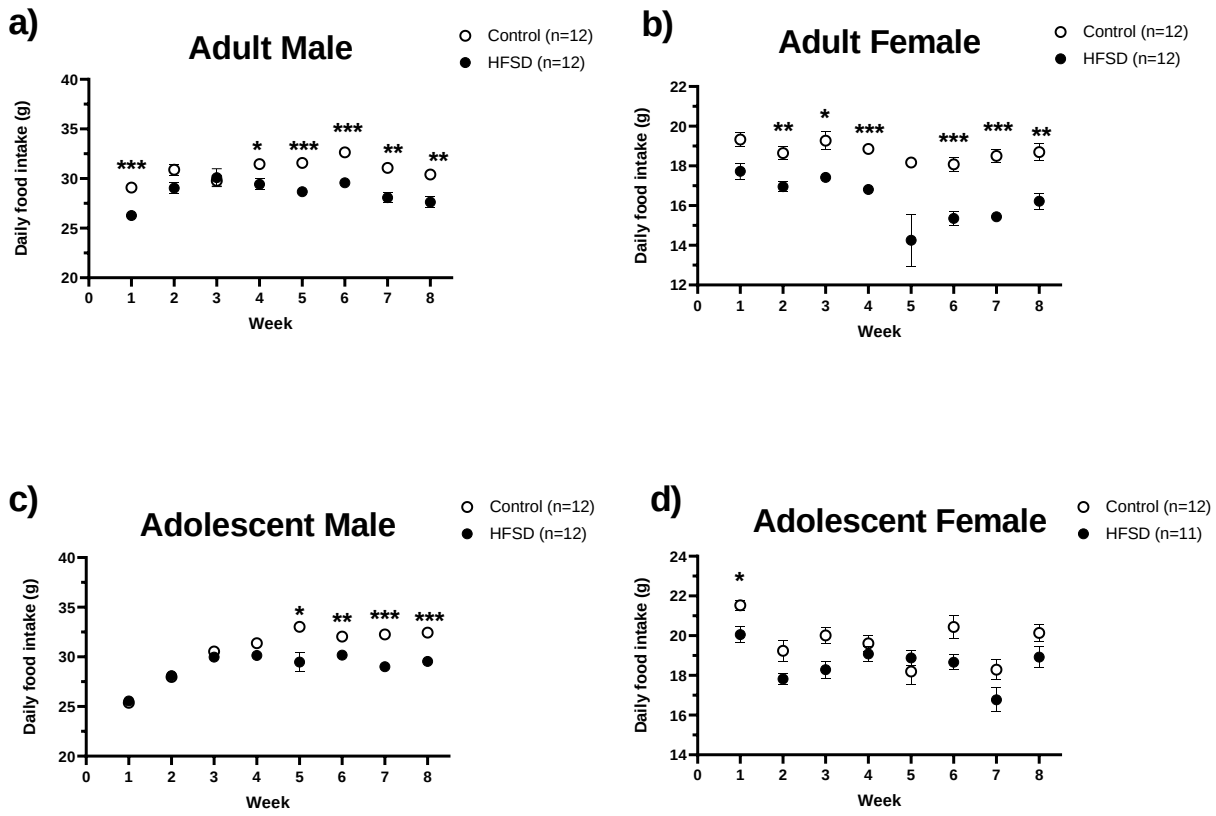


Fig 3: Effects of HFSD on daily food consumption during weeks

Time course of daily food consumption in the week during the 8 weeks of exposure to HFSD in rats exposed to standard food (Control) and rats exposed to HFSD (HFSD). It should be noted that only standard food was available during the week for both HFSD and controls. a) Adult males; b) Adult females; c) Adolescent males and d) Adolescent females. Data are expressed as mean ± SEM. * p<0.05 ; ** p<0.01 ; *** p<0.001

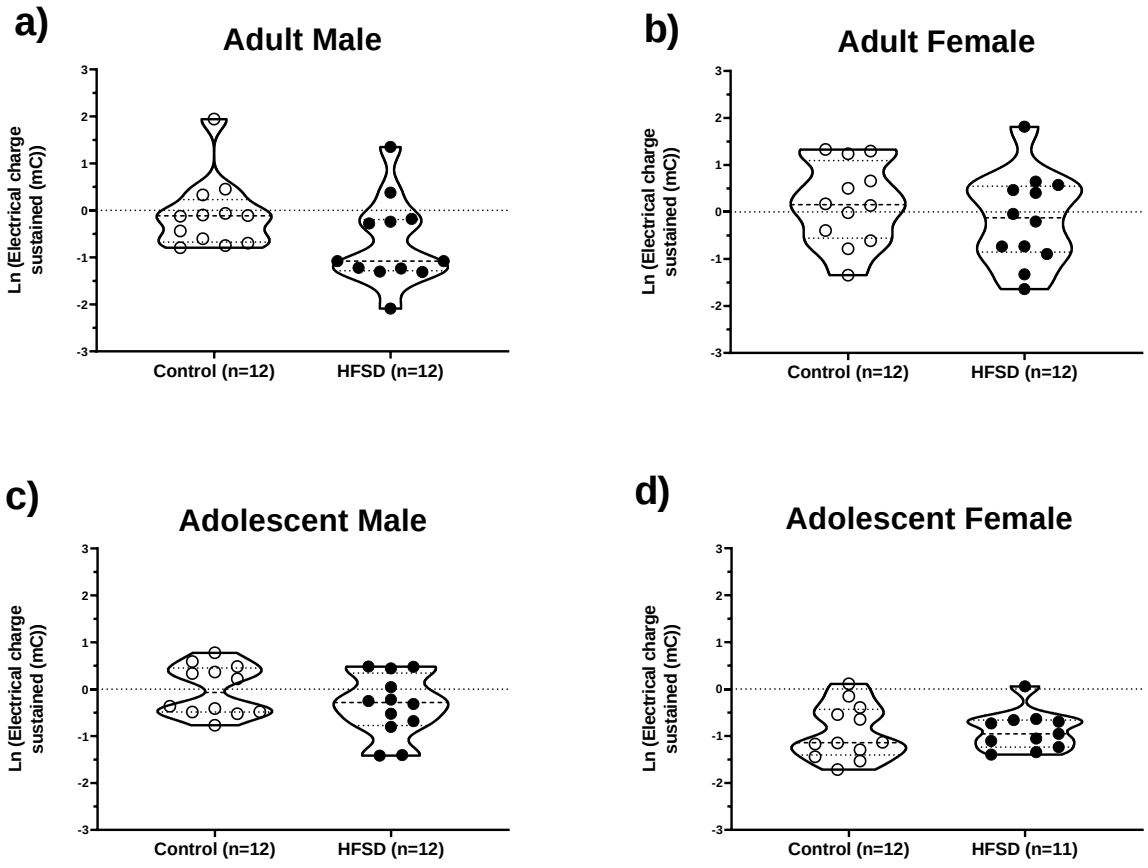


Fig 4: Effect of HFSD on PSS procedures

Natural logarithm of electric charge sustained in the PSS tests in rats exposed to standard food (Control) and rats exposed to HFSD (HFSD). a) Adult males; b) Adult females; c) Adolescent males and d) Adolescent females. Data are the average of two sessions and are expressed as mean ± SEM.

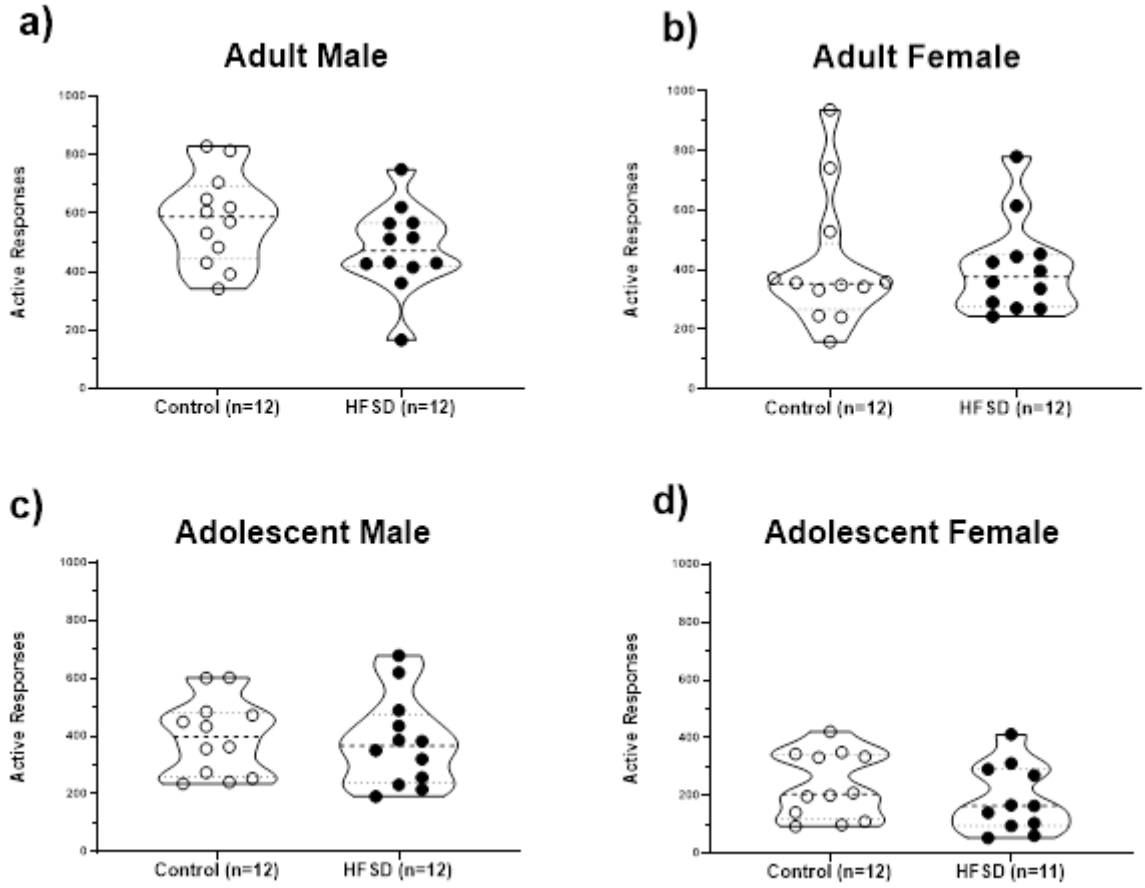


Fig 5: Effect of HFSD on PR procedures

Total active responses in the PR tests in rats exposed to standard food (Control) and rats exposed to HFSD (HFSD). a) Adult males; b) Adult females; c) Adolescent males and d) Adolescent females. Data are the average of two sessions and are expressed as mean ± SEM.

Elevated Plus Maze

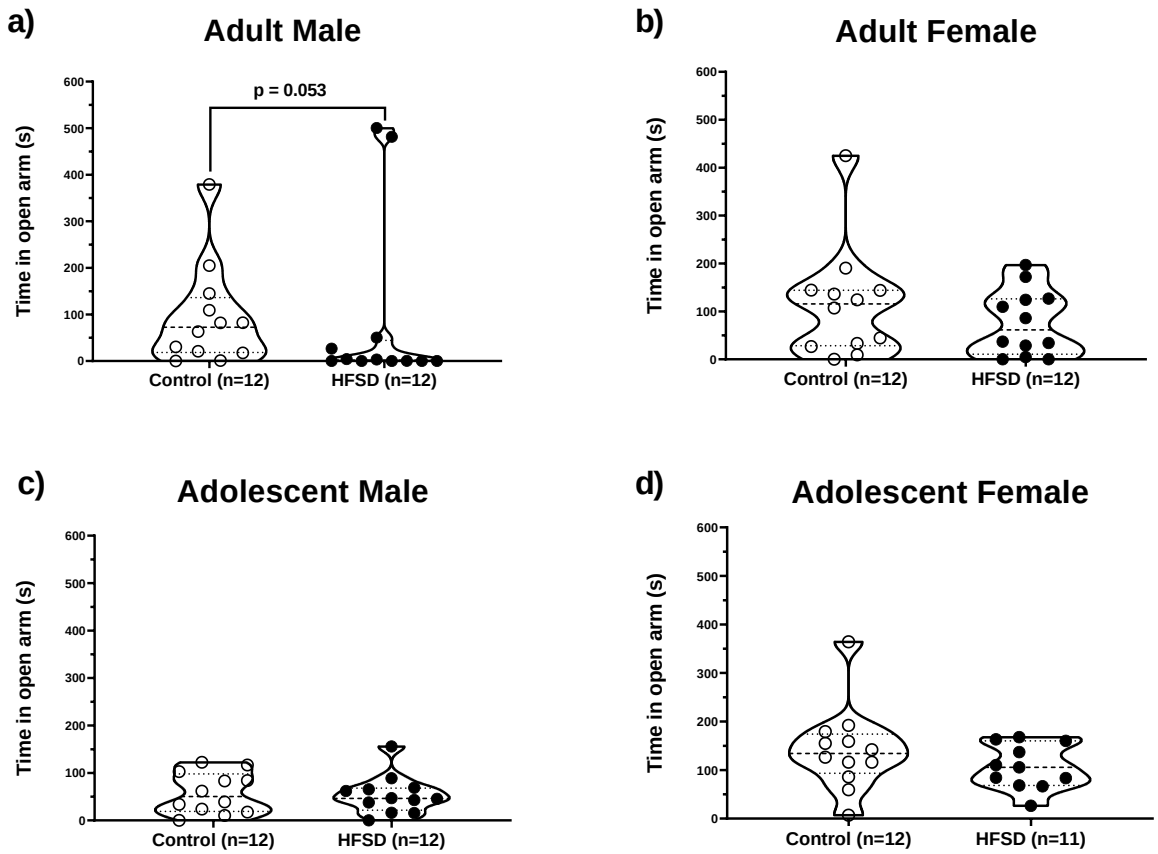


Fig 6: Effects of HFSD on anxiety like behavior

Time spent in second in the open arms of an elevated plus maze in rats exposed to standard food (Control) and rats exposed to HFSD (HFSD). a) Adult males; b) Adult females; c) Adolescent males and d) Adolescent females. Data are expressed as mean ± SEM.

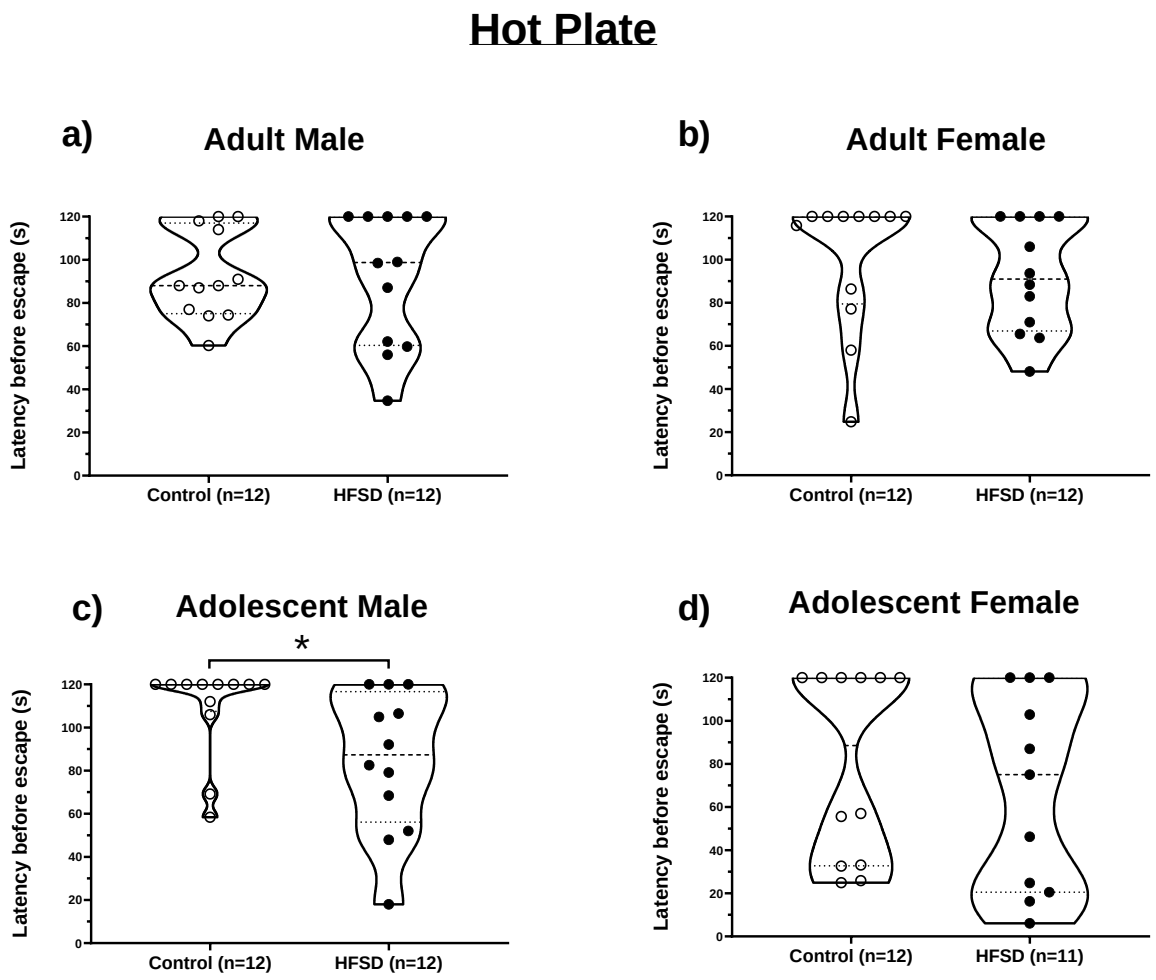


Fig 7: Effects of HFSD on pain reactivity by hot plate test

Latency in second before escape in the hot plate test in rats exposed to standard food (Control) and rats exposed to HFSD (HFSD). a) Adult males; b) Adult females; c) Adolescent males and d) Adolescent females. Data are expressed as mean ± SEM. * $p<0.05$.

Discussion

In this study, we investigated the effects of intermittent exposure to HFSD on subsequent food self-administration and notably, on indexes of compulsivity and excessive motivation. We found that, irrespectively of sex or age, when rats had access to HFSD, their pattern of food intake was altered with decrease of consumption of standard chow in between periods of HFSD exposure. However, HFSD did not produce persistent alterations in compulsivity or motivation for food.

Resistance to punishment has been often used as index of compulsivity for food or drugs. In many procedures in rodents, punishment is provided as a footshock of a fixed intensity that allows characterizing animals in resistant (i.e., compulsive) and sensitive (i.e., no-compulsive) (Rossetti et al. 2014; Blaisdell et al. 2014). However, using an arbitrary threshold forces a dichotomic classification ignoring the fact that compulsivity may be a more continuous phenomenon. To avoid this problem and to better mimic tests of compulsivity used in humans (Apergis-Schoute et al. 2017; Kim and Anderson 2020; Kanen et al. 2021), we recently developed a self-adjusting procedure that allows individual animals to titrate the level of shock that they are willing to tolerate to obtain rewards (Desmercieres et al. 2022). Consistent with our previous study, we found that compulsivity measured by the PSS break point is log-normally distributed suggesting that resistance to punishment is a continuous rather than dichotomic phenomenon regardless of sex or exposure to HFSD. In addition, we found that regardless of sex or age of HFSD exposure PSS and PR do not correlate (Supplementary Fig. 3) confirming that they measure independent biobehavioral processes.

Previous studies have found that exposure to high fat and sugar diet increases (Wojnicki et al. 2006; la Fleur et al. 2007; Reichelt et al. 2016; Garman et al. 2021), decreases (Davis et al. 2008; Vendruscolo et al. 2010; Blaisdell et al. 2014; Tracy et al. 2015) or has no effect (Mitra

et al. 2009; Jong et al. 2013; Rossetti et al. 2014) on motivation for food measured by progressive ratio schedules. Some of these discrepancies could be due to the sex of animals since most studies investigated males and females separately. One study that directly investigated male and female rats exposed to and obesogenic diet found that increases motivation in female, but it decreases in male rats (Reichelt et al. 2016). Differently from that study, we found that HFSD did not change motivation for sweet sucrose rewards in males and females exposed to HFSD as adults and adolescents. Another possible reason for discrepancies found in previous studies is the age at which animals were exposure to obesogenic diets because most studies investigated the effects of exposure at adolescence or adulthood separately. Indeed, adolescence is a window of vulnerability for the development of maladaptive behaviors including addiction food-related disorders (Larsen and Luna 2018; Murray and Chen 2019) and it has been shown that exposure to obesogenic diets at adolescence leads to increased (Figlewicz et al. 2013b) or decreased (Vendruscolo et al. 2010) motivation compared to exposure at adulthood. However, in our study, motivation for sweet food was equally unaffected by exposure at adolescence or adulthood.

Concerning compulsivity measured as resistance to punishment, the results in the literature show also contrasting results with some studies reporting increases (Oswald et al. 2011; Rossetti et al. 2014) and other no change (Jong et al. 2013) after exposure to obesogenic diets. In addition, Johnson and Kenny found that prolonged access to an obesogenic diet blunted the ability of an aversive conditioned stimulus to disrupt food seeking and taking (Johnson and Kenny 2010). In the present study, using the PSS procedure we found no effect of exposure to HFSD on compulsivity regardless of sex and age of exposure to HFSD suggesting that these factors may not explain by themselves the differences in the literature.

In this study, we wanted to investigate the long-lasting rather than the immediate consequences of exposure to obesogenic diets because if diet-induced dysfunctions persist even when bad eating habits are changed for healthier ones, this would have more serious consequence on health. For this after 8 weeks of exposure to HFSD, rats were switched to normal chow for several days before being tested for excessive motivation or resistance to punishment. This may have contributed to the lack of effects of HFSD as several studies have found that the some of the deleterious effects of obesogenic diets tend to disappear upon discontinuation (Boitard et al. 2016; Carlin et al. 2016; Rabasa et al. 2016). We based our protocol of exposure on the one used by Rossetti et al. (Rossetti et al. 2014) with the only notable difference that we discontinued HFSD diet several days before the beginning of operant training. Whereas they found increases in resistance to punishment in females exposed to HFSD at adolescence (Rossetti et al. 2014), we did not find significant differences in this and other groups. However, it should be noticed that some studies have found long-lasting effects of obesogenic diets on motivation (Vendruscolo et al. 2010; Tracy et al. 2015; Reichelt et al. 2016; Garman et al. 2021) and compulsivity. Therefore, the contribution of discontinuation of HFSD diet on our results is unclear. Importantly, consistent with previous results (Desmercieres et al. 2022), resistance to punishment and motivation did not correlate with measures of anxiety or pain except in the control group of adolescent females between pain and motivation, and the control group of adolescent males between pain and PSS group (Fig. S4-7). This suggests that resistance to punishment measured in the PSS is not due to changes in anxiety and pain sensitivity.

In humans, obesity is often associated with anxiety (Gariepy et al. 2010; Fulton et al. 2022) but the causal relationship between the two conditions remains unclear. Some studies in rats have shown that obesogenic diets induce increases in some tests of anxiety (Sivanathan

et al. 2015; Dutheil et al. 2016) but little or no effect in the elevated plus maze (Rossetti et al. 2014; Sivanathan et al. 2015; Dutheil et al. 2016). Consistent with these findings, we found no significant effect of HFSD on anxiety in the elevated plus maze in any group although there was a general trend for increased anxiety in all groups and the trend almost reached significance in the adult male groups. It remains to be investigated whereas significant changes in related-anxiety behavior could be revealed using other tests such as the dark-light box or novelty-induced suppression of feeding.

In humans, obesity is associated with pain and the relationship appears bidirectional (McVinnie, 2013). According to a metanalysis of the field, experiments in rodents mostly found a decrease in pain sensitivity in a variety of conditions and tests (Marques Miranda et al. 2021). However, some studies have also found increased pain sensitivity (Tramullas et al. 2016; Song et al. 2017; Roane and Porter) and this may be due to inflammatory processes (Tramullas et al. 2016; Song et al. 2017). In our study, consistent with these latter studies, we found a general trend for increased sensitivity in all groups that reached statistical significance in adolescent male rats. It is possible that HFSD produce a temporary increase in pain sensitivity which tends to recover upon discontinuation of HFSD even if we did not see an effect during resistance to punishment measure.

An important issue in the study of the effects of obesogenic diets on brain and behavior is the actual composition of diets and the protocol of exposure. Indeed, some studies, similar to what we did, have used enriched tablets (Rossetti et al. 2014), others sucrose solutions (Vendruscolo et al. 2010; Reichelt et al. 2016; Wong et al. 2017) and others different kinds of commercial or home-made sugary and fat diets (la Fleur et al. 2007; Johnson and Kenny 2010; Oswald et al. 2011; Jong et al. 2013; Tracy et al. 2015). In addition, the duration of the exposure varies from a few days (Oswald et al. 2011) to six months (Blaisdell et al. 2014).

Finally, the timing of the exposure could be continuous (la Fleur et al. 2007; Davis et al. 2008; Vendruscolo et al. 2010; Figlewicz et al. 2013b; Blaisdell et al. 2014; Tracy et al. 2015; Garman et al. 2021), intermittent with periods of several days (Johnson and Kenny 2010; Rossetti et al. 2014) or a few hours per day (Wojnicki et al. 2006; Reichelt et al. 2016; Wong et al. 2017). It is impossible to determine which procedure better mimics human exposure to obesogenic diets because human food selection and intake varies enormously not only in different cultures and in different socio-economical classes, but also within them and in many instances even within the same person at different times. Whereas all these differences are likely to account for the discrepancies in the literature, we should probably embrace the richness provided by this variety of protocols because findings that are consistent among different procedures are likely to have the highest translational value for human condition. Keeping this in mind, the lack of effects of exposure to HFSD found in this study regardless sex or age of exposure, together the great number of contradicting results found in the literature appears to suggest that the persistent consequences of exposure to obesogenic diets on the development of food addiction are limited and subtle.

REFERENCES

Abdelaal M, le Roux CW, Docherty NG (2017) Morbidity and mortality associated with obesity. Ann Transl Med 5:161. https://doi.org/10.21037/atm.2017.03.107

Apergis-Schoute AM, Gillan CM, Fineberg NA, et al (2017) Neural basis of impaired safety signaling in Obsessive Compulsive Disorder. Proceedings of the National Academy of Sciences 114:3216–3221. https://doi.org/10.1073/pnas.1609194114

Blaisdell AP, Lau YLM, Telminova E, et al (2014) Food quality and motivation: A refined low-fat diet induces obesity and impairs performance on a progressive ratio schedule of instrumental lever pressing in rats. Physiology & Behavior 128:220–225. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.02.025

Boitard C, Parkes SL, Cavaroc A, et al (2016) Switching Adolescent High-Fat Diet to Adult Control Diet Restores Neurocognitive Alterations. Frontiers in Behavioral Neuroscience 10:

Carlin JL, McKee SE, Hill-Smith T, et al (2016) Removal of high-fat diet after chronic exposure drives binge behavior and dopaminergic dysregulation in female mice. Neuroscience 326:170–179. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.04.002

Davis JF, Tracy AL, Schurdak JD, et al (2008) Exposure to elevated levels of dietary fat attenuates psychostimulant reward and mesolimbic dopamine turnover in the rat. Behavioral Neuroscience 122:1257–1263. https://doi.org/10.1037/a0013111

Desmercieres S, Lardeux V, Longueville J-E, et al (2022) A self-adjusting, progressive shock magnitude procedure to investigate resistance to punishment: characterization in male and female rats. 2022.03.12.481595

Deuis JR, Dvorakova LS, Vetter I (2017) Methods Used to Evaluate Pain Behaviors in Rodents. Frontiers in Molecular Neuroscience 10:

Dutheil S, Ota KT, Wohleb ES, et al (2016) High-Fat Diet Induced Anxiety and Anhedonia: Impact on Brain Homeostasis and Inflammation. Neuropsychopharmacol 41:1874–1887. https://doi.org/10.1038/npp.2015.357

Figlewicz DP, Jay JL, Acheson MA, et al (2013) Moderate high fat diet increases sucrose self-administration in young rats. Appetite 61:19–29. https://doi.org/10.1016/j.appet.2012.09.021

Fulton S, Décarie-Spain L, Fioramonti X, et al (2022) The menace of obesity to depression and anxiety prevalence. Trends in Endocrinology & Metabolism 33:18–35. https://doi.org/10.1016/j.tem.2021.10.005

Gariepy G, Nitka D, Schmitz N (2010) The association between obesity and anxiety disorders in the population: a systematic review and meta-analysis. Int J Obes 34:407–419. https://doi.org/10.1038/ijo.2009.252

Garman TS, Setlow B, Orsini CA (2021) Effects of a high-fat diet on impulsive choice in rats. Physiology & Behavior 229:113260. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2020.113260

Hales CM (2020) Prevalence of Obesity and Severe Obesity Among Adults: United States, 2017–2018. 8

Johnson PM, Kenny PJ (2010) Dopamine D2 receptors in addiction-like reward dysfunction and compulsive eating in obese rats. Nat Neurosci 13:635–641. https://doi.org/10.1038/nn.2519

Jong JW de, Meijboom KE, Vanderschuren LJMJ, Adan RAH (2013) Low Control over Palatable Food Intake in Rats Is Associated with Habitual Behavior and Relapse Vulnerability: Individual Differences. PLOS ONE 8:e74645. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074645

Kanen JW, Apergis-Schoute AM, Yellowlees R, et al (2021) Serotonin depletion impairs both Pavlovian and instrumental reversal learning in healthy humans. Mol Psychiatry 26:7200–7210. https://doi.org/10.1038/s41380-021-01240-9

Kim AJ, Anderson BA (2020) The effect of concurrent reward on aversive information processing in the brain. NeuroImage 217:116890. https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2020.116890

Kjelsås E, Bjørnstrøm C, Götestam KG (2004) Prevalence of eating disorders in female and male adolescents (14–15 years). Eating Behaviors 5:13–25. https://doi.org/10.1016/S1471-0153(03)00057-6

la Fleur SE, Vanderschuren LJMJ, Luijendijk MC, et al (2007) A reciprocal interaction between food-motivated behavior and diet-induced obesity. Int J Obes 31:1286–1294. https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0803570

Larsen B, Luna B (2018) Adolescence as a neurobiological critical period for the development of higher-order cognition. Neuroscience & Biobehavioral Reviews 94:179–195. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.09.005

Loos RJF, Yeo GSH (2022) The genetics of obesity: from discovery to biology. Nat Rev Genet 23:120–133. https://doi.org/10.1038/s41576-021-00414-z

Marques Miranda C, de Lima Campos M, Leite-Almeida H (2021) Diet, body weight and pain susceptibility – A systematic review of preclinical studies. Neurobiology of Pain 10:100066. https://doi.org/10.1016/j.ynpai.2021.100066

McVinnie DS (2013) Obesity and pain. Br J Pain 7:163–170. https://doi.org/10.1177/2049463713484296

Mitra A, Alvers KM, Crump EM, Rowland NE (2009) Effect of high-fat diet during gestation, lactation, or postweaning on physiological and behavioral indexes in borderline hypertensive rats. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology 296:R20–R28. https://doi.org/10.1152/ajpregu.90553.2008

Murray S, Chen EY (2019) Examining Adolescence as a Sensitive Period for High-Fat, High-Sugar Diet Exposure: A Systematic Review of the Animal Literature. Front Neurosci 13:1108. https://doi.org/10.3389/fnins.2019.01108

O'Connor RM, Kenny PJ (2022) Utility of 'substance use disorder' as a heuristic for understanding overeating and obesity. Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry 118:110580. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2022.110580

Okunogbe A, Nugent R, Spencer G, et al (2021) Economic impacts of overweight and obesity: current and future estimates for eight countries. BMJ Global Health 6:e006351. https://doi.org/10.1136/bmjgh-2021-006351

Oswald KD, Murdaugh DL, King VL, Boggiano MM (2011) Motivation for palatable food despite consequences in an animal model of binge eating. Int J Eat Disord 44:203–211. https://doi.org/10.1002/eat.20808

Rabasa C, Winsa-Jörnulf J, Vogel H, et al (2016) Behavioral consequences of exposure to a high fat diet during the post-weaning period in rats. Hormones and Behavior 85:56–66. https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2016.07.008

Reichelt AC, Abbott KN, Westbrook RF, Morris MJ (2016) Differential motivational profiles following adolescent sucrose access in male and female rats. Physiology & Behavior 157:13–19. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.01.038

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. https://doi.org/10.1016/0165-0270(95)00153-0

Roane DS, Porter R Nociception and Opioid-Induced Analgesia in Lean (Fa/-) and Obese (fa/fa) Zucker Rats I. 4

Rossetti C, Spena G, Halfon O, Boutrel B (2014) Evidence for a compulsive-like behavior in rats exposed to alternate access to highly preferred palatable food. Addiction Biology 19:975–985. https://doi.org/10.1111/adb.12065

Sivanathan S, Thavartnam K, Arif S, et al (2015) Chronic high fat feeding increases anxiety-like behaviour and reduces transcript abundance of glucocorticoid signalling genes in the hippocampus of female rats. Behavioural Brain Research 286:265–270. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.02.036

Smink FRE, van Hoeken D, Hoek HW (2012) Epidemiology of Eating Disorders: Incidence, Prevalence and Mortality Rates. Curr Psychiatry Rep 14:406–414. https://doi.org/10.1007/s11920-012-0282-y

Solinas M, Goldberg SR (2005) Motivational effects of cannabinoids and opioids on food reinforcement depend on simultaneous activation of cannabinoid and opioid systems. Neuropsychopharmacology 30:2035–2045. https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300720

Solinas M, Panlilio LV, Antoniou K, et al (2003) The Cannabinoid CB1 Antagonist N- Piperidinyl-5-(4-chlorophenyl)-1-(2,4-dichlorophenyl) -4-methylpyrazole-3-carboxamide (SR-141716A) Differentially Alters the Reinforcing Effects of Heroin under Continuous Reinforcement, Fixed Ratio, and Progressive Ratio Schedules of Drug Self-Administration in Rats. J Pharmacol Exp Ther 306:93–102. https://doi.org/10.1124/jpet.102.047928

Song Z, Xie W, Chen S, et al (2017) High-fat diet increases pain behaviors in rats with or without obesity. Sci Rep 7:10350. https://doi.org/10.1038/s41598-017-10458-z

Spear LP (2000) The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. Neuroscience & Biobehavioral Reviews 24:417–463. https://doi.org/10.1016/S0149-7634(00)00014-2

Tracy AL, Wee CJM, Hazeltine GE, Carter RA (2015) Characterization of attenuated food motivation in high-fat diet-induced obesity: Critical roles for time on diet and reinforcer familiarity. Physiology & Behavior 141:69–77. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.01.008

Tramullas M, Finger BC, Dinan TG, Cryan JF (2016) Obesity Takes Its Toll on Visceral Pain: High-Fat Diet Induces Toll-Like Receptor 4-Dependent Visceral Hypersensitivity. PLoS ONE 11:e0155367. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0155367

Vendruscolo LF, Gueye AB, Darnaudéry M, et al (2010) Sugar Overconsumption during Adolescence Selectively Alters Motivation and Reward Function in Adult Rats. PLoS ONE 5:e9296. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009296

Volkow ND, Wise RA, Baler R (2017) The dopamine motive system: implications for drug and food addiction. Nat Rev Neurosci 18:741–752. https://doi.org/10.1038/nrn.2017.130

Wojnicki FHE, Roberts DCS, Corwin RLW (2006) Effects of baclofen on operant performance for food pellets and vegetable shortening after a history of binge-type behavior in non-food deprived rats. Pharmacology Biochemistry and Behavior 84:197–206. https://doi.org/10.1016/j.pbb.2006.04.015

Wong A, Dogra VR, Reichelt AC (2017) High-sucrose diets in male rats disrupt aspects of decision making tasks, motivation and spatial memory, but not impulsivity measured by operant delay-discounting. Behavioural Brain Research 327:144–154. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.03.029

SUPPLEMENTARY FIGURES

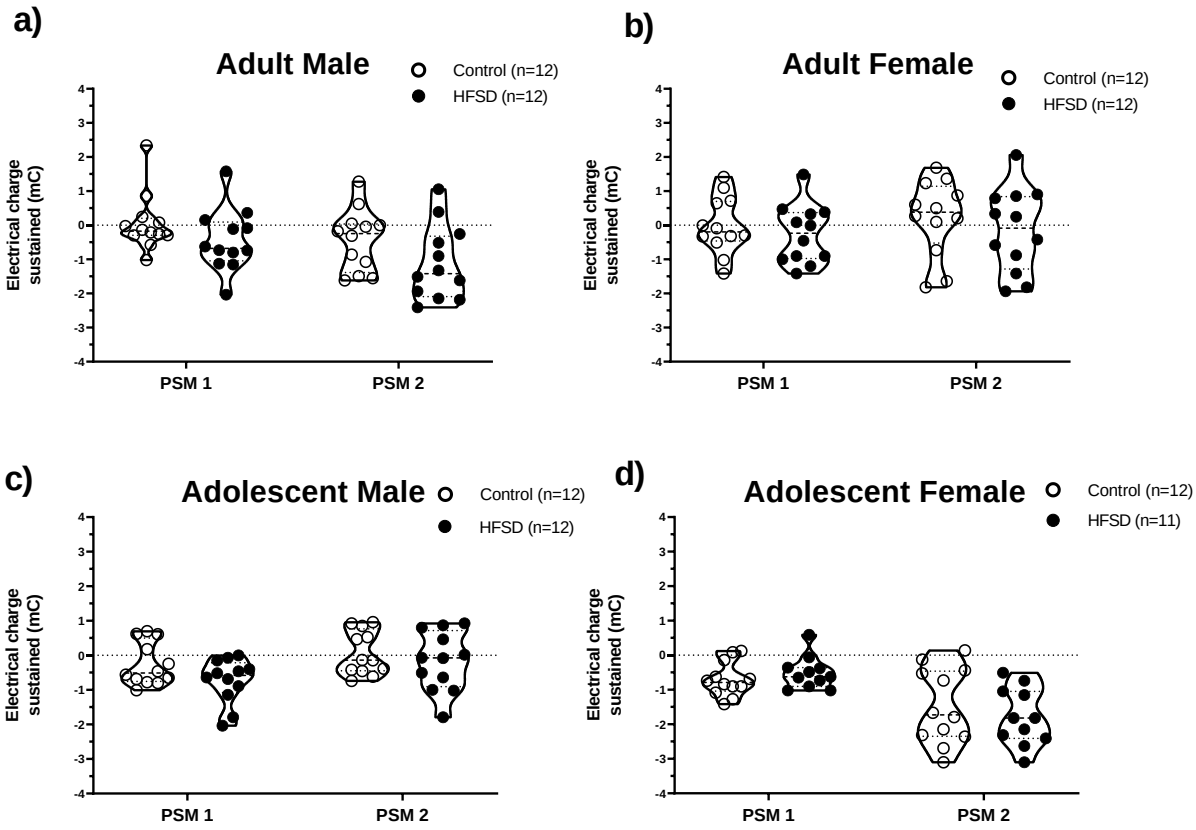


Fig. S1: Effect of HFSD on PSS individual tests

Natural logarithm of electric charge sustained in millicoulombs in the two PSS tests in rats exposed to standard food (Control) and rats exposed to HFSD (HFSD). a) Adult males; b) Adult females; c) Adolescent males and d) Adolescent females. Data are expressed as mean ± SEM.

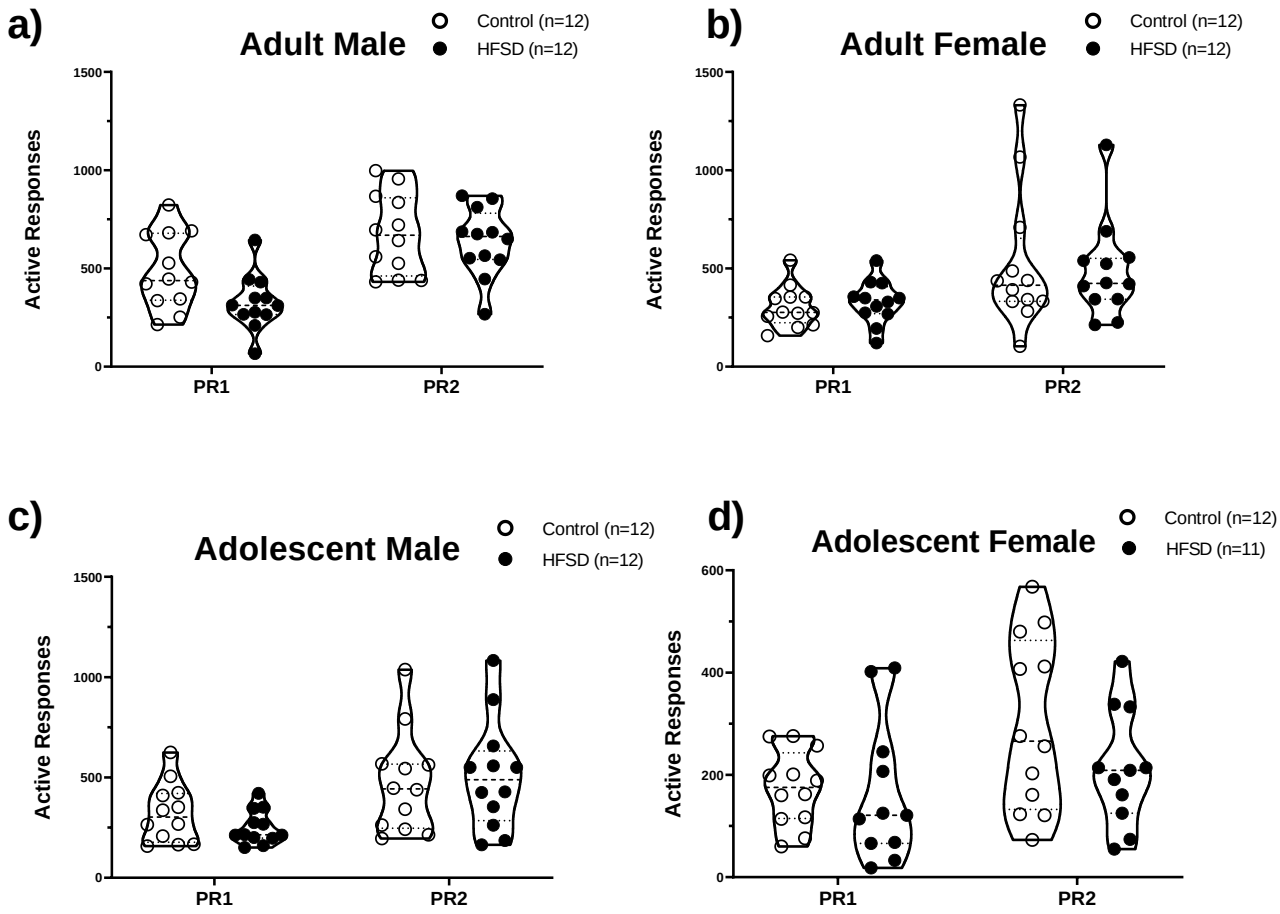


Fig. S2: Effect of HFSD on PR individual tests

Total active responses in the two PR tests in rats exposed to standard food (Control) and rats exposed to HFSD (HFSD). a) Adult males; b) Adult females; c) Adolescent males and d) Adolescent females. Data are expressed as mean ± SEM.

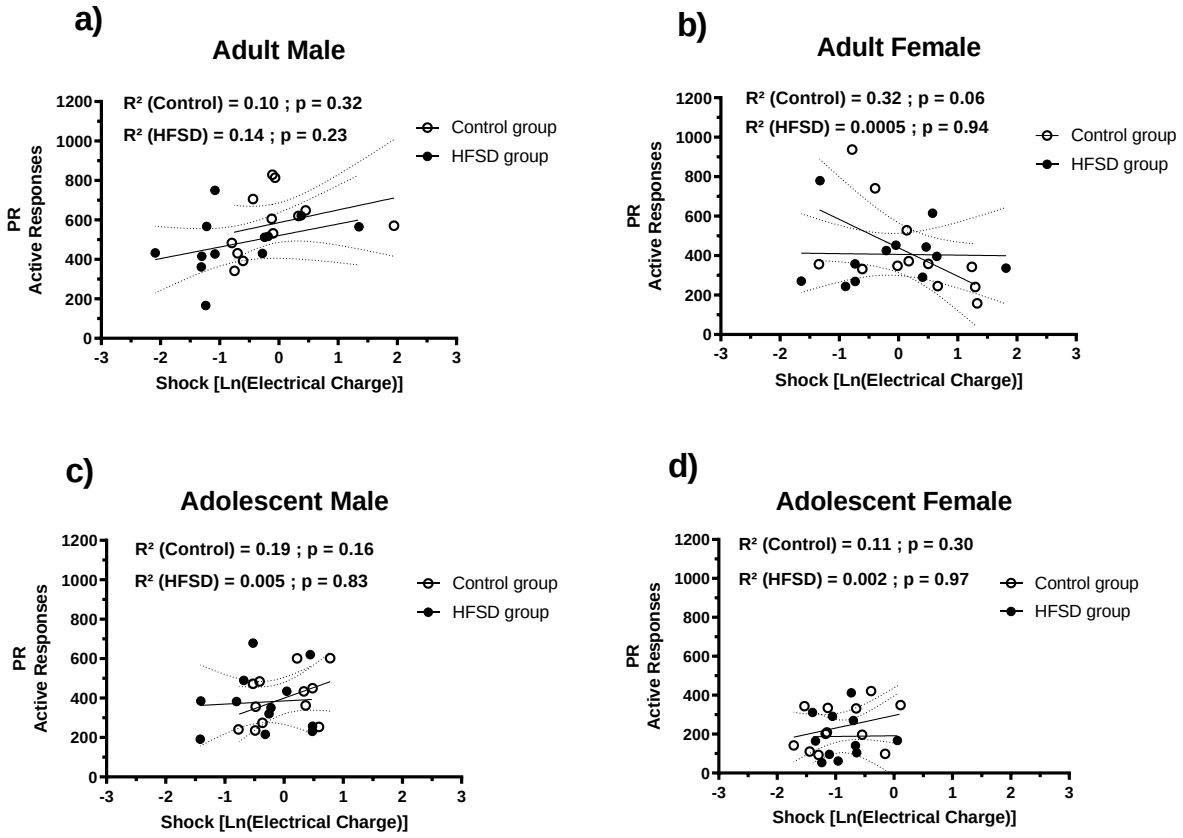


Fig. S3: Correlation between PSS and PR

Correlation between natural logarithm of Electrical charge sustained in the PSS procedure and actives responses in the PR procedure in rats exposed to standard food (Control) and rats exposed to HFSD (HFSD). a) Adult males; b) Adult females; c) Adolescent males and d) Adolescent females. Dotted curves indicate 95% confidence intervals.

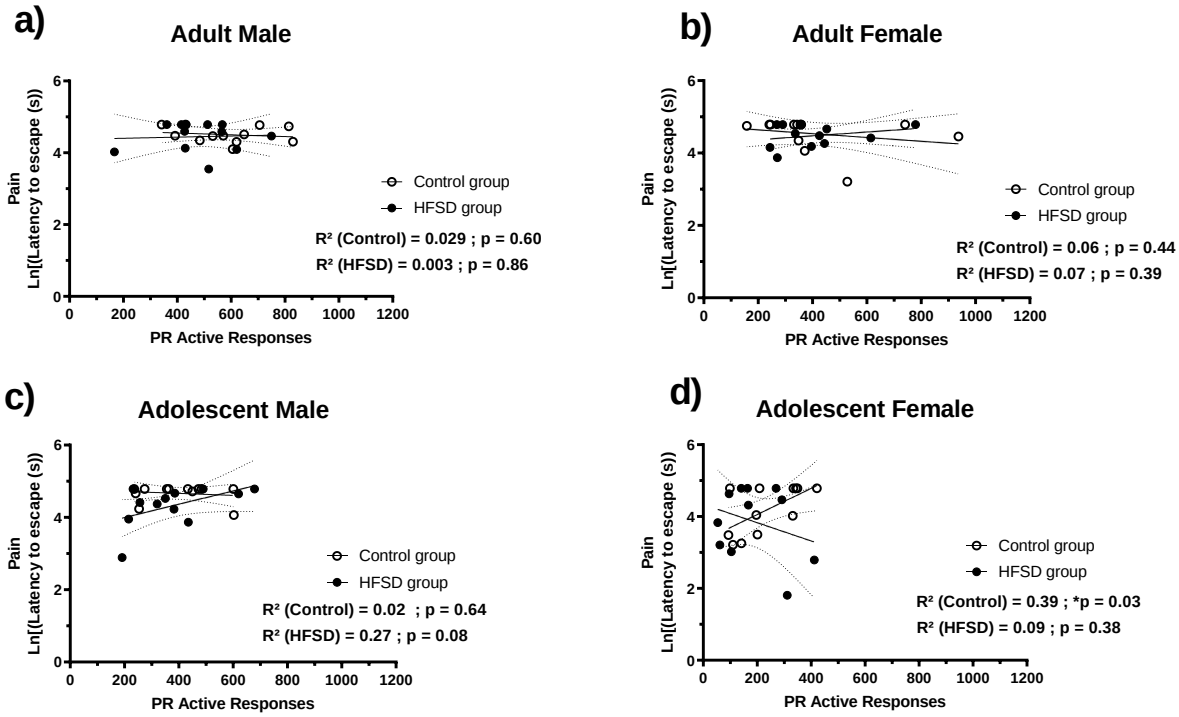


Fig. S4: Correlation between PR and pain reactivity

Correlation between natural logarithm of latency to escape in the hot plate test and actives responses in the PR procedure in rats exposed to standard food (Control) and rats exposed to HFSD (HFSD). a) Adult males; b) Adult females; c) Adolescent males and d) Adolescent females. Dotted curves indicate 95% confidence intervals. P values is significant < 0.05

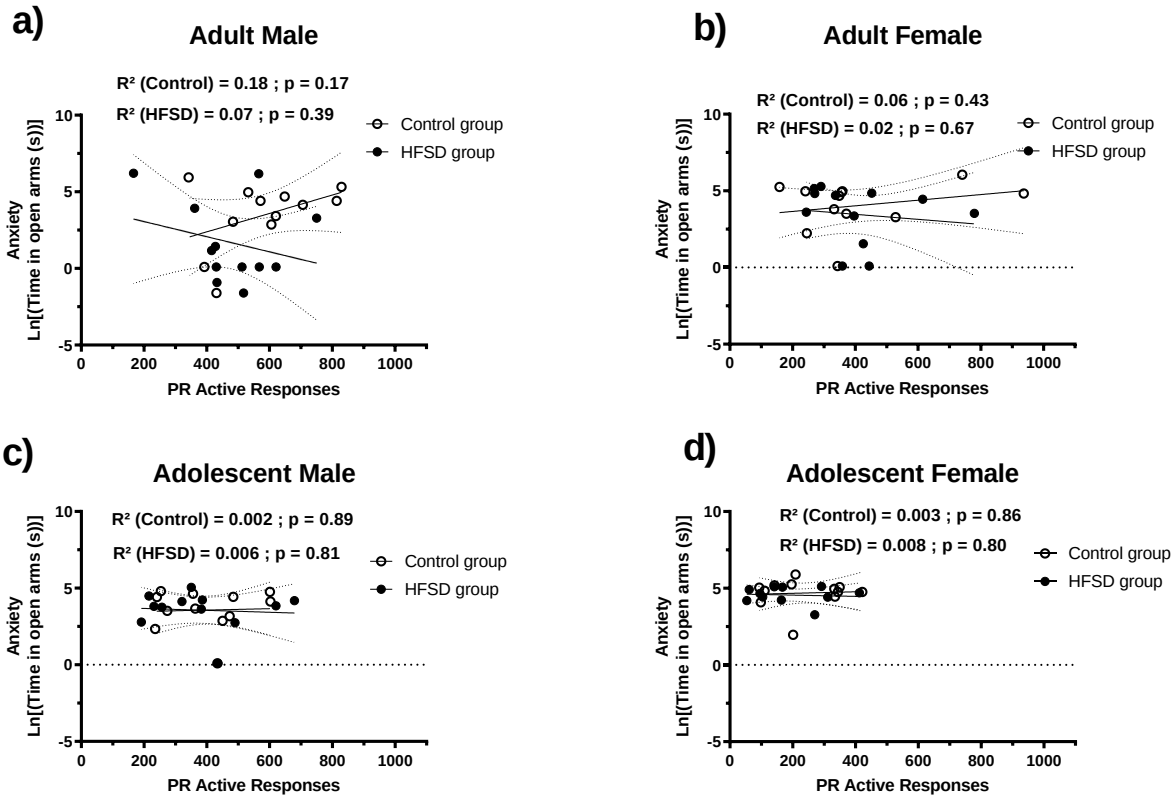


Fig. S5: Correlation between PR and anxiety

Correlation between natural logarithm of time spent in second in the open arms of an elevated plus maze and actives responses in the PR procedure in rats exposed to standard food (Control) and rats exposed to HFSD (HFSD). a) Adult males; b) Adult females; c) Adolescent males and d) Adolescent females. Dotted curves indicate 95% confidence intervals.

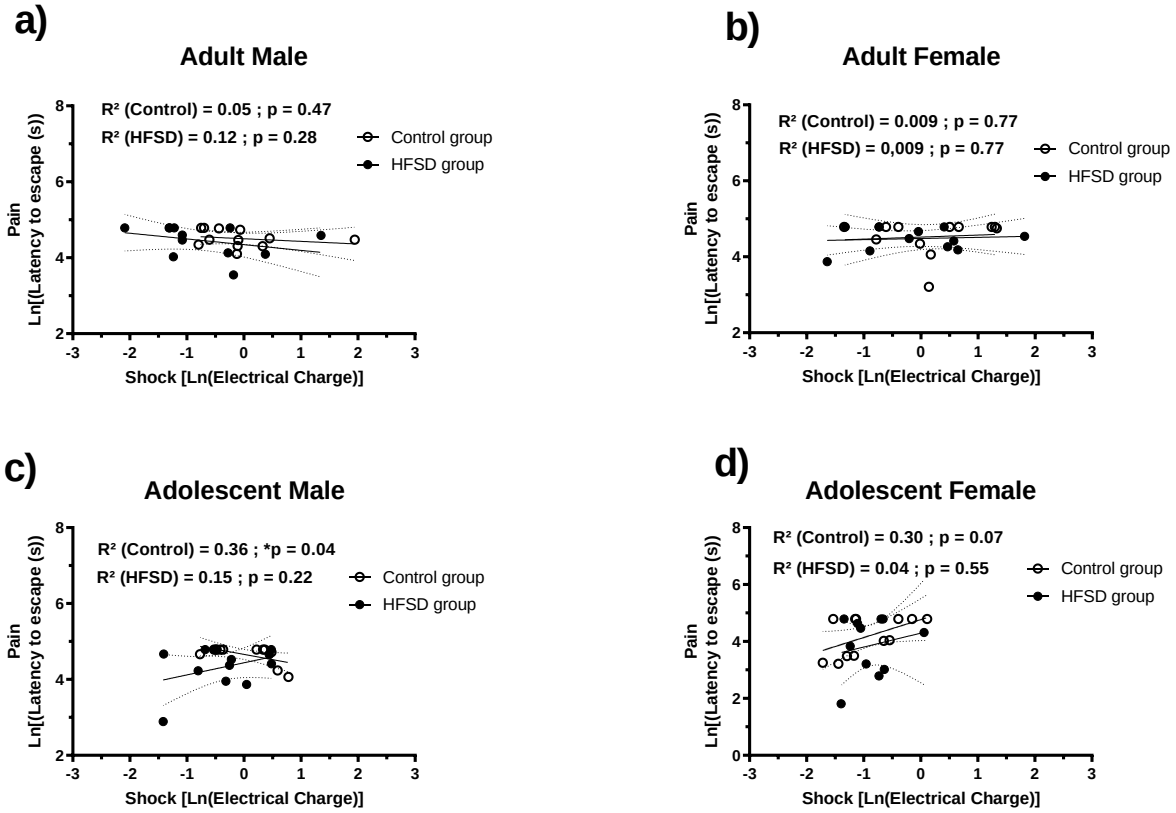


Fig. S6: Correlation between PSS and pain reactivity

Correlation between natural logarithm of latency to escape in the hot plate test and natural logarithm of electrical charge sustained in the PSS procedure in rats exposed to standard food (Control) and rats exposed to HFSD (HFSD). a) Adult males; b) Adult females; c) Adolescent males and d) Adolescent females. Dotted curves indicate 95% confidence intervals. P values is significant < 0.05

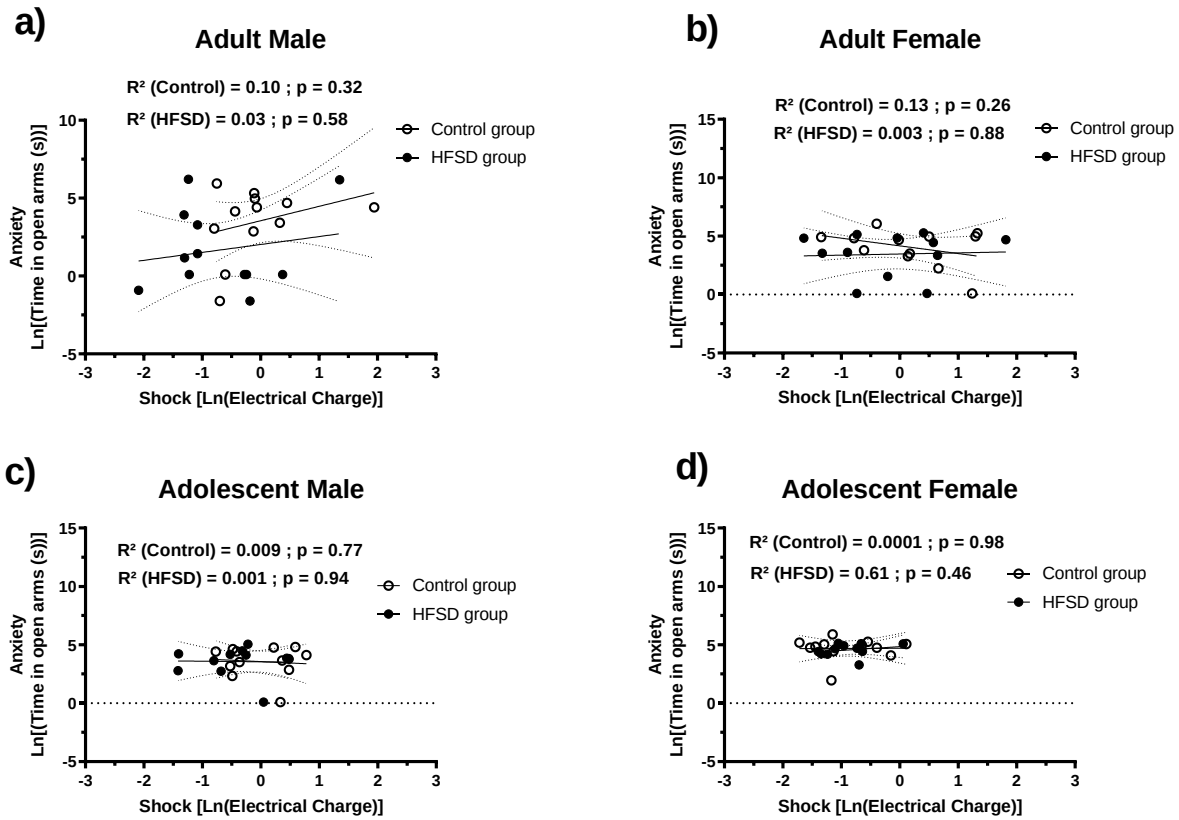


Fig. S7: Correlation between PSS and anxiety

Correlation between and natural logarithm of time spent in second in the open arms of an elevated plus maze and natural logarithm of electrical charge sustained in the PSS procedure in rats exposed to standard food (Control) and rats exposed to HFSD (HFSD). a) Adult males; b) Adult females; c) Adolescent males and d) Adolescent females. Dotted curves indicate 95% confidence intervals.

Article 3

Manipulation of cholesterol metabolism in the dorsal striatum decreases the risks of relapse to cocaine addiction

Résumé : Plusieurs preuves suggèrent que les drogues modifient l'homéostasie du cholestérol cérébral. Le cholestérol cérébral est indépendant du cholestérol retrouvé en périphérie et il possède son propre métabolisme. Le cholestérol joue un rôle majeur dans le fonctionnement du cerveau, notamment dans les processus de neuroadaptations. Ici, nous avons cherché à savoir si la manipulation du métabolisme du cholestérol dans des structures cérébrales spécifiques pouvait modifier des comportements associés à l'addiction. Nous nous sommes d'abord concentrés sur la recherche de drogue induite par les indices contextuels associés à la drogue après une période d'abstinence.

Les résultats ont indiqué que la surexpression de la CYP46A1, l'enzyme responsable de la dégradation du cholestérol cérébral, dans le striatum dorsal, a diminué la recherche de cocaïne après 6 semaines d'abstinence. En revanche, sa surexpression dans le cortex cingulaire antérieur ou le noyau accumbens n'a pas eu d'effet. Les tests complémentaires ont indiqué que la surexpression de la CYP46A1 dans le striatum dorsal n'a pas altéré la recherche de nourriture. De plus, nous avons montré que la surexpression de la CYP46A1, avant la toute première exposition à la drogue, dans le striatum dorsal n'a pas affecté la motivation pour la drogue, la résistance à la punition et la perte de contrôle de l'animal pour celle-ci.

L'ensemble de ces résultats suggère que modifier le métabolisme du cholestérol dans le striatum dorsal pourrait réduire les risques de rechute à la drogue et ne perturbe pas la motivation des animaux pour les récompenses naturelles pendant l'abstinence. Le métabolisme du cholestérol pourrait donc être une cible thérapeutique intéressante contre l'addiction.

Manipulations of cholesterol metabolism decrease risks of relapse to cocaine addiction

Stevenson Desmercières[1], Emilie Dugast[1], Virginie Lardeux[1], Josette Alseebaly[1], Sandrine Betuing[2], Nicolas Heck[2], Marcello Solinas[1], Nathalie Thiriet[1]

[1]*Université de Poitiers, INSERM, U-1084, Laboratoire des Neurosciences Expérimentales et Cliniques, Poitiers, France*

[2]*Neuronal Signaling and Gene Regulation, Neuroscience Paris Seine, Institute of Biology Paris-Seine, Sorbonne Université, INSERM/UMR-S 1130, CNRS/UMR 8246, 75005 Paris, France*

Running Title: Cocaine use disorder and brain cholesterol metabolism

Correspondence:

Dr Nathalie THIRIET
Laboratory of Experimental and Clinical Neurosciences
INSERM U-1084, University of Poitiers
1, rue Georges Bonnet, TSA 51106
86073 Poitiers Cedex 9, France
Tel : 00 33 549366209
E-mail: nathalie.thiriet@univ-poitiers.fr

ABSTRACT

Sparse but converging evidence suggests that exposure to drugs of abuse alters cholesterol homeostasis in the brain. Brain cholesterol is independent from peripheral cholesterol and possess its own local metabolism. Cholesterol plays major role in brain functioning, notably as a key factor of neuroplasticity processes. In this study, we investigated whether manipulations of cholesterol metabolism in specific brain areas could alter addiction-related behaviors. We initially focused on drug seeking triggered by exposure to drug-associated cues after a period of forced abstinence. We found that overexpression of the enzyme mainly responsible for brain cholesterol degradation, namely cholesterol 24-hydroxylase (or CYP46A1) in the dorsal striatum, but not in the prefrontal cortex or the nucleus accumbens, significantly reduced cocaine-seeking measured 6 weeks after the last drug exposure. On the other hand, CYP46A1 overexpression in the DSt did not affect food seeking in similar paradigm. We then evaluated whether CYP46A1 overexpression in the DSt could reduce drug intake during self-administration by evaluating drug seeking during time-out, motivation for the drug and resistance to punishment. We didn't find any effect of CYP46A1 overexpression in the DSt on these 3 criteria. Our results suggest that manipulating cholesterol metabolism in the DSt during abstinence might reduce risks of relapse to addiction, without changing motivation for natural rewards or the direct rewarding effects of the drug. Therefore, we propose that cholesterol metabolism might represent a new therapeutic target to prevent relapse to cocaine addiction.

Keywords: Addiction, Cocaine, Cholesterol metabolism, addiction-related behaviors

INTRODUCTION:

One of the hallmarks of addiction and one of its most troubling aspects is the long-lasting risk of relapse (Dackis and O'Brien, 2001). Unfortunately, although a great deal of information has been collected on the psychological, neurobiological, cellular and molecular mechanisms of drug addiction, effective therapies for addiction, are still very limited (O'Brien 2005). Thus, the discovery of new mechanisms participating to addiction and relapse is still a pressing necessity to identify new strategies that can help people suffering from substance abuse disorders in their recovery efforts. In the present study, we focused on brain cholesterol and its metabolic pathway as a potential target to prevent relapse to addiction.

The synthesis of cholesterol requires a multistep pathway called the "mevalonate pathway" see review (Buhaescu and Izzedine, 2007). This pathway begins with the conversion of two molecules of acetyl coenzyme A (CoA) into 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA (HMG-CoA). HMGCoA is converted into mevalonate by HMG-CoA reductase (Buhaescu and Izzedine, 2007), this corresponds to rate-limiting step in cholesterol synthesis. Cholesterol biosynthesis pathway then involves about 20 enzymes, that convert mevalonate into 3-isopenenyl pyrophosphate, farnesyl pyrophosphate, squalene, lanosterol and finally cholesterol (Berg et al., 2002). Brain cholesterol metabolism is independent from the peripheral metabolism (Russell et al., 2009). In the brain, cholesterol is synthetized locally and in adult, this synthesis is believed to occur mainly in astrocytes (Saher and Stumpf, 2015). Cholesterol is then transferred to neurons after complexation with lipoproteins, such as the apolipoprotein E, through specific transporters (Martin et al. 2014). Cholesterol degradation mainly takes place in neurons and is performed by the cholesterol 24-hydroxylase (CYP46A1) enzyme that produces 24S-hydroxycholesterol, which is excreted from the brain to the blood (Martin et al. 2014). In the brain, cholesterol turnover is highly

controlled in order to maintain stable levels and to assure the high metabolic requirements of neurons (Goritz et al., 2005; Pfenninger, 2009).

At the cellular level, cholesterol has several functions (Dietschy and Turley, 2004). Being a membrane constituent, cholesterol influences both biophysical and biological properties of cell membranes (Egawa et al., 2016; Korade and Kenworthy, 2008), and thereby is involved in important brain processes such as synaptic transmission, synaptogenesis, and synaptic plasticity (for details, see reviews Dietschy and Turley, 2004; Egawa et al., 2016; Pikuleva and Cartier, 2021). Interestingly, recent evidence suggests that dysregulations of the brain cholesterol metabolism could be involved in brain dysfunctions associated with aging (Murman, 2015), neurodegenerative diseases (Bar-On et al., 2008, 2006); and psychiatric disorders, such as depression and anxiety (Ghaemi et al., 2000) or autism and Rett syndrome (Segatto et al., 2019). In particular, CYP46A1 appears dysregulated in several diseases and has emerged as a therapeutic target (Pikuleva and Cartier, 2021). Interestingly, its manipulation has been shown to regulate cholesterol turnover in vitro (Mast et al., 2017) and in vivo (Lund et al., 2003; Petrov et al., 2019).

Recent evidence suggests that drug abuse and addiction are associated to dysregulations of the cholesterol metabolism. In human, a transcriptomic post-mortem study has found that the expression of genes involved in the synthesis and trafficking of cholesterol is changed in the cortex of individuals with a history of cocaine, cannabis and phencyclidine abuse (Lehrmann et al., 2006). In vitro, Cotto and collaborators have found that exposure of astrocytes to cocaine affects the levels of proteins involved in cholesterol metabolism (Cotto et al., 2018). In vivo, our laboratory and others have also found that alcohol consumption changes expression of several proteins of the cholesterol metabolism in brain areas related to addiction (Alsebaaly et al., 2018; McClintick et al., 2018, 2016).

Given these drug-induced changes, we hypothesized that cholesterol metabolism could be involved in addiction and addiction-related behaviors. First, we investigated whether cocaine injections could alter the expression of several genes encoding proteins of the cholesterol metabolism. Then, we used a viral approach to overexpress the gene CYP46A1 encoding the enzyme cholesterol hydroxylase responsible for brain cholesterol degradation in specific brain areas such as anterior cingulate cortex (ACC), dorsal striatum (DSt) and nucleus accumbens (NAc) and investigated the impact on drug-seeking induced by exposure to context and cues associated to cocaine. We also evaluated whether such manipulation would affect natural rewards (sucrose) seeking or direct reinforcing effects of cocaine. To rule out CYP-induced effects on cognition, we investigated the effects of CYP overexpression in the DSt on behavioral flexibility.

MATERIALS AND METHODS

Animals

Eight-week-old male Sprague Dawley rats, weighing 300-350g at the beginning of the experiment (Janvier labs, France), were used in this study. After habituation to the animal facility, rats were housed in a controlled environment under a 12 h light/dark cycle (lights on at 8 a.m.) with food available ad libitum. After arrival, they were housed two per cages until surgery and subsequently they were individually housed for recovery. All experiments were conducted during the light phase and in accordance with the European Union directives (2010/63/EU) for the care of laboratory animals and approved by the local ethics committee (COMETHEA).

Drugs

Cocaine HCl (Cooper, Melun, France) was dissolved in sterile saline solutions (0.9%), filtered and stored at room temperature (21 ± 2 °C).

Acute cocaine treatment and tissue collection

After 15 minutes of habituation in an open field, rats were injected with either cocaine (15 mg/kg, i.p.) (n = 8) or saline (NaCl 0.9 g/l, i.p.) (n = 8), and were immediately placed back in the open field for 1 hour before being sacrificed for qPCR analysis of gene expression. Rats were anesthetized with pentobarbital (120 mg/kg, Euthasol® Vetoquinol France), decapitated and brains were removed and dissected using a rat matrix (WPI, London). Brain structures were isolated by blunt dissection and stored at -80°C until used.

RNA isolation, Reverse Transcription and quantitative PCR

Total RNA was isolated using Trizol Reagent and chloroform and then purified using Macherey Nagel kit (Macherey Nagel, France). The RNA concentration was determined using the NanoDrop ND-1000 spectrophotometer (Thermo Fisher scientific, Waltham, USA) and the RNA integrity was evaluated by the Agilent 2100 Bioanalyzer System (Agilent 2100 bioanalyzer). All RNAs had a RIN (RNA integrity number) above eight. Equal amounts of RNA input (1 µg) were reverse-transcripted using Verso cDNA synthesis kit (Thermo Fisher scientific, Waltham, USA; Dutscher, France). Real-time qPCR was performed using the LightCycler480 detection system (Roche, France). Reaction mix was exposed to the amplification program consisting in one cycle (95°C for 5 min), followed by 45 cycles, including 3 phases (phase 1: 95°C for 20 s; phase 2: 64°C for 15 s for all primers except for hrpt1 = 60°C); phase 3: 72°C for 20 s). The sequences of primers used (Supplementary Table S1) were either designed using Primer-BLAST software. Results were normalized to three housekeeping genes (gapdh, actin and hrpt1) and reported as RNA fold changes according to the ΔΔCT method ($2^{-\Delta\Delta CT} = 2^{-\Delta CT \text{ sample - mean } \Delta CT \text{ ''control animal''}}$).

Production and stereotaxic injection of AAVrh10-GFP and AAVrh10-CYP46A1

All AAV vectors were produced and purified by Atlantic Gene therapies (INSERM U1089, Nantes, France). The viral constructs for AAVrh10-GFP and AAVrh10-CYP46A1-HA contained the expression cassette consisting of either the GFP or the human *CYP46A1*, driven by a CMV/β-actin hybrid promoter (CAG) surrounded by inverted terminal repeats of AAV2.

For the nucleus accumbens, rats received 2 stereotaxic injections (1 per side, 1 µl per injection corresponding to 3×10^9 genomic particles viral particles, injection rate: 0.2 µl/min) using the

following coordinates from bregma: antero-posteriority (AP) +1.6 mm; laterality (L) ± 1.4 mm and verticality (V) -7.8 mm. For the anterior cingulate cortex, rats received 4 stereotaxic injections (2 per hemisphere, 0.7 µl per injection corresponding to 4.2×10^9 viral particles/hemisphere, injection rate: 0.2 µl/min) using the following coordinates from bregma: AP +1.2 and +1.7 mm; L ± 0.3 mm and V -2.9 mm ventral. For the dorsal striatum, rats received 4 stereotaxic injections (2 per hemisphere, 0.7 µl per injection corresponding to 4.2×10^9 viral particles/hemisphere, injection rate: 0.2 µl/min) in using the following coordinates from bregma: AP +1 and +1.6 mm; L ± 2.6 mm and V -4.8 mm.

Cocaine self-administration

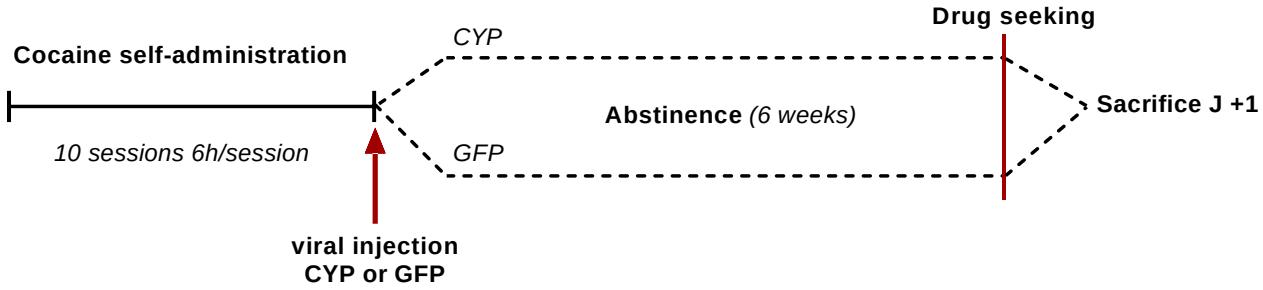


Figure 1: *General design of experiments measuring cocaine seeking. Rats were allowed to self-administer cocaine for 10 sessions in a FR1 schedule (1 session/day, 6 hours).*

Three days after the last self-administration session, CYP46A1 or GFP virus were injected in specific brain areas (ACC, NAc and DSt). After 6 weeks of abstinence, cocaine seeking was evaluated by placing back the animals in the operant chambers, without access to the drug. The number of active lever presses was used as a measure of cocaine-seeking.

The design of drug-seeking experiments is shown in figure 1. Rats were anesthetized with isoflurane (5% induction, 2.5% surgery) and a catheter was implanted in the right jugular vein. After surgery, animals were housed individually and were allowed to recover for 5-7 days before the drug self-administration sessions began. Rats were allowed to self-administer cocaine for 10 sessions of 6 hours according to a FR1 schedule in twelve identical

Med-Associates operant chambers controlled by Med PC IV software (MedAssociates Inc, www.med-associates.com). Immediately after each press on the active lever, rats received intravenous injections of the drug (cocaine dose 0.6mg/kg), this was associated with the retraction of both levers, with the blinking of a light cue above the lever and with the beginning of a 8-second time-out. The house light was always turned on except during drug delivery and time-out period.

Measure of cocaine-seeking after abstinence

To evaluate the impact of CYP overexpression on cocaine-seeking, future GFP and future CYP46A1 rats were allowed to self-administer cocaine as described in the previous section. At the end of the 10 self-administration sessions, rats were placed in abstinence for 6 weeks. Different groups of rats received the virus to overexpress CYP46A1 or GFP in DSt (GFP n = 12; CYP46A1 n =14), NAc (GFP n = 14; CYP46A1 n = 16) or PFC (GFP n = 15; CYP46A1 n = 9) by stereotaxic surgery. These surgeries were done at the beginning of the abstinence period. After 6 weeks of abstinence, rats were placed back in the operant chambers under extinction conditions during a single 6-h session divided into six 1-h segments. During these sessions, active lever presses resulted in contingent presentations of the light cue for 8 seconds, but no cocaine was delivered, while inactive nose pokes had no programmed consequence. The number of active lever presses was used as a measure of cocaine-seeking.

Natural reward (sucrose) seeking

To check the impact of CYP46A1 overexpression on natural reward seeking, we used a similar protocol, but cocaine was replaced by sucrose (saccharose pellets). The design of the experiment is presented in Figure 6a. Sucrose self-administration was performed in

Coulbourn operant chambers equipped with lever as operanda and controlled by Graphic State software (Coulbourn Instruments, www.coulbourn.com). Rats were first allowed to self-administer sucrose pellets for 15 sessions according to a FR1 schedule and then for five sessions, the duration of sessions was changed from 1 to 4 h to maximize rates of responding with a time-out going from 10 to 60s. Immediately after each press on the active lever, a food-pellet dispenser delivered 45 mg sucrose pellets (5TUT, Test Diet, USA), a light cue above the lever started to blink and a time-out period started. To study the impact of CYP46A1 overexpression on sucrose seeking, rats underwent a 6-week period of abstinence and received stereotaxic injection of virus to overexpress CYP46A1 (n = 6) or GFP (n = 7) at the beginning of 6 weeks of viral expression. Sucrose-seeking was measured under extinction conditions in the presence of the sucrose-associated cues during a single 3-h session divided into three 1-h segments. During these sessions, active lever presses resulted in contingent presentations of the light cue for 10 seconds, but no sucrose pellet was delivered, while inactive lever had no programmed consequence. The number of active lever presses was used as a measure of sucrose-seeking.

Measure of addiction-related behaviors

To evaluate whether CYP overexpression will affect cocaine self-administration behavior itself, other rats were injected with the CYP and GFP virus before any exposure to the drug. Rats received injections of virus to overexpress CYP46A1 (n = 8) or GFP (n = 10) 5 weeks before catheter implantation and 6 weeks before the self-administration session. Then, they were allowed to self-administer cocaine schedule for 35 sessions as described above.

Drug intake and drug seeking during time-out

For the training sessions, FR1 procedure was used with a duration of 3.5 hours. These sessions were divided in 3 segments of 1h with drug access separated by 2 periods of 15 minutes with "no access" to the drug indicated by the illumination of the house light. The loss of control on the drug intake was evaluated during the period of no access (Deroche-Gamonet, 2004).

Self-adjusting progressive shock strength procedure

The resistance to punishment was measured during the 20th, 27th and 33rd sessions using a self-adjusting progressive shock strength procedure (PSS) adapted from Desmercieres et al., 2022 during 3-hour sessions. In this procedure, active lever presses resulted in immediate delivery of drug infusion and of foot-shocks of different magnitudes. The self-adjusting procedure consisted of steps in which the shock duration was increased each time the animal obtained 2 separate drug infusion at a given duration. The duration of the first step was 0 sec (no shock), the second step was a low duration of 0.05 sec and subsequent shocks increased of 15% at each step for 20 steps. Thus, the step sequence of durations was: 0, 0.05, 0.06, 0.07, 0.08, 0.09, 0.10, 0.12, 0.13, 0.15, 0.18, 0.20, 0.23, 0.27, 0.31, 0.35, 0.41, 0.47, 0.54, 0.62, 0.71 sec. If animals reached the final step, the duration of the shock was not further increased, and all subsequent shock were set at 0.71 sec. If rats did not emit any response for 5 min, shock duration was reset to 0 sec and the shock progression was reinitialized. Thus, animals could at any moment avoid higher magnitude of shock by limiting the frequency of food reinforcement until shock duration returned to 0 sec, which was signaled by the absence of the blinking light. This feature suppressed but did not completely

extinguish operant responding, allowing a rapid return to baseline responding in the following training session. The magnitude of the shock was measured by the electrical charge in millicoulombs (mC) that an animal would tolerate to obtain drug and was calculated by multiplying the fixed current of the shock (0.45 mA) by the duration in sec. The break point was calculated by the cumulated magnitude of the shock received during the session.

Progressive-ratio procedure

To measure the motivation for drug, we used a progressive ratio procedure during the 23rd, 30th and 35th sessions. Under the progressive-ratio schedule, the number of responses required to obtain a drug delivery increased with each successive drug delivery. The steps of the exponential progression were the same as those previously developed by Roberts and colleagues (Arnold and Roberts, 1997) adapted for food reinforcement (Solinas and Goldberg, 2005), based on the equation: response ratio = ($5e^{(0.2 \times \text{reinforcer number})}$) – 5, rounded to the nearest integer. Thus, the values of the steps were 1, 2, 4, 6, 9, 12, 15, 20, 25, 32, 40, 50, 62, 77, 95, 118, 145, 178, 219, 268, 328, 402, 492, 603, and 737. Sessions under the progressive-ratio schedule lasted until 60 min passed without completing a step. Otherwise, the session stops after 6 hours.

Behavioral flexibility measurement using probabilistic reversal learning

Probabilistic reversal learning was conducted in operant conditioning chambers (Coulbourn Instruments, Allentown, PA, USA; www.coulbourn.com). The behavioral task was adapted from Verharen et al., (2019), and represented in the figure 8a. Briefly, after an injection of viral vector in the DSt, and 6 weeks to allow CYP46A1 (n = 6) or GFP (n = 5) overexpression,

rats were trained for 10 sessions under a fixed-ratio 1 schedule for 30 minutes. Both levers of the chamber were active, and a delivery of sugar pellet was indicated by a light in the food dispenser. After the consumption of pellet, detected by an infrared light sensor, the cue lights were turned off and a new trial was initiated after a time out of 10 seconds. In the case where animals pressed the same lever 8 times consecutively, it was deactivated and a light above the second lever lit up to avoid a lever preference and favor lever switching.

After this phase of operant learning, in 4 sessions of 45 minutes, one of the two levers was randomly assigned as the "high-probability lever" that gave 80% chance on reward and 20% risk on a time-out, and the other lever was assigned as the "low-probability lever", which gave 20% chance on reward and 80% risk on a time-out. Immediately after a "win" response (i.e., a response that resulted in pellet delivery), the lights above the two levers were turned off, a sucrose pellet was delivered into the food receptacle and cue lights into the food receptacle were turned on. Consumption of the reward was measured by an infrared light sensor in the food receptacle, after which the cue lights were extinguished, and a new trial was initiated after 10 seconds of time out. After a "lose" response (i.e., a response that were not reinforced), the house light was turned on, and a 10-s time-out started associated with a tone of 0.5s repeated 3 times. After 10s, a new trial was automatically initiated, signaled to the animal by the extinction of the house light.

Subsequently, a 45-min reversal test was performed. When the animal made 8 consecutive responses on the high-probability lever, the contingencies switched, so that the previously high-probability lever became the low-probability lever, and vice versa. Flexibility of rats was measured by the ability to adapt to the new rule. A higher percentage of correct responses after the rule has been switched were considered as a higher flexibility. Once the probability of the levers was reversed, we evaluated the percentage of correct responses during the

perseverative phase (i.e., the period of learning the new contingency), and the percentage of correct responses during the regressive phase (i.e., the period when animals were considered to have assimilated the new contingency). We considered that the regressive phase began when the animals had performed 8 consecutive correct responses.

Histological verification of the injection site and CYP and GFP expression

A systematic evaluation and localization of the injection sites was performed by immunodetection of GFP or of haemagglutinin (HA) that tagged the CYP46A1 protein. For this, rats were deeply anaesthetized with pentobarbital (120 mg/kg) then transcardially perfused with 4% paraformaldehyde. Sections (40µm) obtained using microtome were incubated with the following primary antibodies overnight at 4°C: rabbit anti-HA antibody (1:4000, H6908) and rabbit anti-GFP antibody (1:10000, A6455, Thermofisher). Sections were then incubated with the second antibody (goat anti-rabbit biotinylated antibody (1:750 BA1000, Vector Laboratories Inc.) for 1 hour. For 3,3' diaminobenzidine staining, sections were then incubated with anti-mouse biotinylated antibody (1:250; Vector Laboratories Inc.) and visualized by the ABC amplification system (Vectastain ABC kit, Vector Laboratories) and 3,3'-diaminobenzidine tetrahydrochloride (peroxidase substrate kit, DAB, Vector Laboratories) as the substrate. All sections were then mounted on gelatin-coated slide, dried, dehydrated and covered with Depex.

Statistical analysis

Statistical analyses were performed with GraphPad Prism 9. All data are represented as mean ± SEM. For real-time RT-PCR, we used a Student t-test to compare cocaine-exposed rats and control rats. For behavioral measures, a two-way ANOVA analysis corrected by the

post hoc Bonferroni was performed with time and treatment as independent factors and Unpaired t tests were performed for measure of motivation and resistance to punishment. The statistical evaluation data included a 2-way analysis of variance (ANOVA) corrected by the Greenhouse–Geisser method when datas have no gaussian distribution. Differences were considered significant when $P<0.05$.

RESULTS

Effects of acute injection of cocaine on expression of genes of the cholesterol metabolism in ACC, NAc and DSt

The effects of an acute injection of cocaine on the expression of genes encoding proteins of the cholesterol metabolism are presented in figure 2. In the ACC, we found an increase in the expression of the genes encoding HMGCoAR and APOE, involved respectively in synthesis and transport of cholesterol, one hour after acute injection of cocaine (n = 8) compared to control group (n = 8). We found a 35% increase for HMGCoAR ($p < 0.01$) and a 21% increase for APOE ($p < 0.01$). In the NAc, we found an increase (+62%) in the expression of the gene encoding SREBF2, a regulator of the cholesterol metabolism in function of cholesterol levels, one hour after acute injection of cocaine (n = 8) compared to control group (n = 8) ($p<0.05$).

In the DSt, we found a decrease in the expression of the genes encoding HMGCoAR, APOE, SREBF2 one hour after acute injection of cocaine (n = 8) compared to control group (n = 8). We also found a decrease in the expression of the genes encoding LxRb and CYP46A involved respectively in regulation and degradation of cholesterol. We found a 18% decrease for HMGCoAR ($p<0.5$), 21% decrease for APOE ($p<0.5$), 38% decrease for SREBF2 ($p<0.01$), 25% decrease for LxRb ($p<0.001$) and 23% decrease for CYP46A1 ($p<0.01$).

Effects of CYP 46A1 overexpression in DSt on cocaine-seeking

When viruses were injected at the following coordinates (AP +1 and +1.6 mm; L ± 2.6 mm and V -4.8 mm from bregma), we found a viral expression in sections taken from Bregma +

2.20 mm to Bregma -0.36 mm. This expression was found mostly in the dorsal striatum, without diffusion in more ventral part (Fig 3a). During self-administration training, both groups increased similarly the number of cocaine injections to reach approximately 80 ± 5 injections per session in the 3 last sessions for both future GFP and future CYP group (Fig. 3b). Statistical analysis revealed a significant effect of time ($F (2.088, 50.12) = 57.68$, $P<0.0001$; Greenhouse–Geisser $\varepsilon =0.23$), no significant effect a virus ($F (1, 24) = 0.08703$, $P=0.7705$) and no significant interaction time X virus ($F (9, 216) = 0.3859$, $P=0.9411$).

Overexpression of CYP46A1 in DSt produced a significant reduction in cocaine-seeking behavior compared to the control group (Fig. 3c). We found a decreased number of active lever presses (54 ± 5) during the first hour in rats that overexpressed CYP46A1 in DSt in comparison to the GFP group (84 ± 8). Statistical analysis revealed a significant time effect ($F (2,522, 60,52) = 84,91$, $P<0,0001$; Greenhouse–Geisser $\varepsilon =0.50$) a significant virus effect ($F (1, 24) = 4.609$, $P=0.0421$) and a significant interaction of time X virus ($F (5, 120) = 5.217$, $P=0.0002$). Sidak's multiple comparisons test revealed a significative effect during the first hour ($P = 0.045$).

Effects of CYP 46A1 overexpression in ACC on cocaine-seeking

Using the coordinate AP +1.2 and +1.7 mm; L ± 0.3 mm and V -2.9 mm ventral, we found a viral expression from Bregma 2.20 mm to Bregma 0.12 mm. This expression was found mostly in the ACC (Fig. 4a). During self-administration training, both groups increased similarly the number of cocaine injections to reach approximately 95 ± 4 injections per session in the 3 last sessions for future GFP group and 84 ± 1 injection for future CYP group (Fig. 4b). Statistical analysis revealed a significant effect of time ($F (2.633, 57.93) = 27.36$,

P<0.0001; Greenhouse–Geisser ε = 0.29), no significant effect a virus (F (1, 22) = 2.462, P=0.1309) and no significant interaction time X virus F (9, 198) = 0.6416, P=0.7606).

Overexpression of CYP46A1 in ACC did not produced changes in cocaine-seeking behavior compared to the control group (Fig. 4c). During the first hour, the number of active lever presses was similar in both group (107 ± 12 for CYP group and 98 ± 7 for GFP group). Statistical analysis revealed a significant effect of time (F (2.611, 56.91) = 125.8, P<0.0001; Greenhouse–Geisser ε =0.52), no significant effect of virus (F (1, 22) = 0.1086, P=0.7449) and no significant interaction of time X virus (F (5, 109) = 0.3947, P=0.8515).

Effects of CYP 46A1 overexpression in NAc on cocaine-seeking

Using the coordinate AP +1.6 mm; L ± 1.4 mm and V -7.8 mm, we found a viral expression from 2.20 mm to Bregma 1.08mm. This expression was found mostly in NAc (Fig. 5a). During self-administration training, rats increased the number of cocaine injections to reach approximately 85 ± 3 injections per session in the 3 last sessions for both future GFP and future CYP group (Fig. 5b). Statistical analysis revealed a significant effect of time (F (2.210, 61.88) = 50.59, P<0.0001; Greenhouse–Geisser ε =0.25), no significant effect a virus (F (1, 28) = 0.01595, P=0.9004) and no significant interaction time X virus (F (9, 252) = 0.7429, P=0.6694).

Overexpression of CYP46A1 in NAc did not produce changes in cocaine-seeking behavior compared to the control group (Fig 5c). During the first hour, the number of active lever presses was similar in both group (81 ± 10 for CYP group and 92 ± 15 for GFP group). Statistical analysis revealed a significant effect of time (F (1.740, 48.71) = 60.13, P<0.0001;

Greenhouse–Geisser ε =0.35), no significant effect of virus (F (1, 28) = 0.6178, p=0.4385) and no significant interaction time X virus (F (5, 140) = 0.2052, P=0.9598).

Effects of CYP 46A1 overexpression in DSt on natural reward seeking

We investigated whether the effects of CYP46A1 overexpression in DSt were specific for drug seeking or whether they could be generalized to natural rewards such as food (Fig. 6). During the last 10 days of training, both groups similarly increased the number of pellets received (Fig. 6b) and finished with a similar number of pellets taken (210 ± 7 pellet for the GFP group and 200 ± 11 pellet for the CYP group) (Fig. 6b). Statistical analysis on food intake during training revealed a significant time effect (F (3.888, 42.77) = 190.9, P<0.0001; Greenhouse–Geisser ε =0.24), no significant difference between both groups (F (1, 11) = 0.3791, P=0.5506) and no significant interaction time X groups (F (16, 176) = 0.2942, P=0.9965).

After 6-week of viral expression in their home cage, we measured the animal food-seeking during a 3hrs- session without food reward (Fig. 6c). Overexpression of CYP46A1 in DSt did not produce changes in sucrose-seeking behavior compared to the control group. Statistical analysis revealed a significant time effect (F (1.165, 12,81) = 53.48, P<0.0001; Greenhouse–Geisser ε =0.58), no significant effect of virus (F (1, 11) = 0.1031, p = 0.75) and no significant interaction of time X virus (F (2, 22) = 0.1074, P=0.8987).

Effects of CYP46A1 overexpression in DSt on behavioral flexibility

Behavioral flexibility can accelerate extinction by favoring the switch from responding when lever presses are rewarded to not responding when lever presses are not rewarded. Therefore, we evaluated whether CYP46A1 overexpression could increase behavioral

flexibility in naïve animals. During training sessions, both GFP and CYP46A1 rats increased similarly their percentage of correct responses (Fig. 7b). At the end of training session, both groups had a similar percentage of correct around 97 ± 1 %. During the test session (Fig. 7c), the level of flexibility of the animals was assessed by their percentage of correct responses. Statistical analysis revealed a significant effect of time ($F(1.659, 29.87) = 63.81$, $p<0.0001$; Greenhouse–Geisser $\varepsilon = 0.55$), no significant effect of virus ($F(1, 18) = 3.009$, $P=0.0999$) and a significant interaction time X virus ($F(3, 54) = 7.883$, $P=0.0002$).

During reversal test, both groups had a similar percentage of correct during the first phase before the rule was changed (92 ± 3% for the CYP group and 98 ± 1 % for the GFP group), and after and after the rule was changed during the perseverative phase (28 ± 6 % for the CYP group and 25 ± 5% for the GFP group) and the regressive phase (77 ± 4% for the CYP group and 76 ± 5 % for the GFP group). Statistical analysis revealed a significant effect of phases ($F(1.695, 38.15) = 156.6$, $P <0.0001$; Greenhouse–Geisser $\varepsilon = 0.85$), no significant effect of virus ($F(1, 45) = 0.009231$, $P=0.9239$) and no interaction phases X virus ($F(2, 45) = 0.6179$, $P=0.5436$).

Effects of prior CYP 46A1 overexpression in DSt on cocaine self-administration behavior

Then, we tested whether CYP46A1 in the DSt would influence active cocaine self-administration when overexpressed before any exposure to the cocaine. The design of this experiment is presented in Figure 8a. Animals were injected with virus 6 weeks before the first self-administration session. After verification of correct viral expression in the DSt, the animal behavior was analyzed. During self-administration training, both CYP46A1 and GFP rats rapidly started to self-administer cocaine (Fig. 8b).

The number of injections rapidly increased in both groups. During self-administration training, CYP and GFP group had a similar number of injections per session (46 ± 4 injections per session in the 3 last sessions for the GFP group and 48 ± 6 injections for the CYP group) (Fig. 8b). Statistical analysis revealed a significant effect of time ($F(2.671, 42.59) = 7.629$, $P=0.0005$; Greenhouse–Geisser $\varepsilon = 0.15$), no significant effect of virus $F(1, 16) = 0.02124$, $p = 0.89$) and no significant interaction of time X virus ($F(18, 287) = 0.2646$, $p = 0.999$). During training session, the number of active lever presses during no access period was similar in both groups (37 ± 11 for the control group; 33 ± 7 for the CYP group) (Fig 8c). Statistical analysis revealed no significant difference was found in no access period between groups ($p = 0.80$). In PSS sessions, the PSS break point measured by the electrical charge sustained was similar in both groups (0.97 ± 0.23 mC for the GFP group and 1.16 ± 0.34 for the CYP) (Fig 8d). Statistical analysis revealed no significant difference in the PSS break point was found between groups ($p = 0.64$; $t = 0.48$; $DF = 16$). In PR sessions, the PR break point measured by the number of active responses was similar in both groups (830 ± 100 for the GFP animals compared to 1044 ± 246 for the CYP46A1) (Fig. 8e). Statistical analysis revealed no significant difference in the PR break point was found between groups ($p = 0.40$; $t = 0.87$; $DF = 16$).

DISCUSSION:

In this study, we show that cocaine injections induce changes in the expression of genes encoding proteins of the cholesterol metabolism in brain areas involved in addiction. In particular, in the DSt we found reduced expression of CYP46A1, the main enzyme involved in cholesterol degradation. We then found that CYP46A1 overexpression in this brain area significantly reduces cocaine-seeking measured 6 weeks after the last drug exposure. This effect was specific for the DSt since no change in cocaine-seeking was found after overexpression of CYP46A1 in the NAc and the ACC. CYP46A1 overexpression in the DSt did not affect food seeking suggesting that its effects are selective for drug-related behavior. In addition, CYP46A1 overexpression before any drug exposure did not alter active cocaine self-administration suggesting that it does not interfere with the direct reinforcing effects of the drug. This study is the first demonstration that the cholesterol metabolism is altered by cocaine exposure and that manipulation of cholesterol metabolism could be beneficial to prevent relapse.

Our laboratory has previously shown that the administration of statins, drugs that inhibit cholesterol synthesis, during a period of forced abstinence reduces cocaine seeking in rats and that this effect is specific for brain-penetrating statins (Chauvet et al., 2016). A recent study also showed that treatment with statins blocks the reinstatement of cocaine-induced conditioned place preference in male mice (Xu et al., 2021). Unfortunately, these results do not appear to easily translate to humans, since we did not find any beneficial effects of simvastatin on smoking cessation (Ingrand et al., 2018). This was probably due to low brain penetration of statins in humans. Therefore, understanding the brain mechanisms

underlying the effects of statins is critical to design approaches to directly target these mechanisms. In the brain, statins produce a variety of effects in addition to their inhibitory effects on the HMGCoAR, the rate limiting enzyme of the mevalonate pathway (Laufs and Liao, 2003; Wu et al., 2008; Yang et al., 2012). For example, statins increase the expression of BDNF (Wu et al, 2008; Yang et al, 2012), interact with the PI3K/Akt and ERK pathways (Wu et al., 2008; Yang et al., 2012) interact with small G proteins such as Rho and Rack1 (Laufs and Liao, 2003) and activate neurogenesis in hippocampus (Lu et al., 2007; Wu et al., 2008). Our present results suggest that the beneficial effects of statins against relapse (Chauvet et al., 2016) might be related to their action on cholesterol metabolism.

In this study, we used a viral approach to manipulate the cholesterol metabolism by increasing its degradation in specific brain areas. Cholesterol metabolism is highly regulated in the brain to maintain stable levels and to assure the high metabolic requirements of neurons and astrocytes (Goritz et al., 2005; Pfenninger, 2009). Previous studies have also used CYP46A1 to modulate the brain cholesterol metabolism and found that such manipulations, rather than changing the levels of cholesterol, appear to affect the turnover of cholesterol. On one hand, decreased expression of CYP46A1 produced a reduction of cholesterol turnover and synthesis in the brain, but no alterations in tissue levels of cholesterol (Russell et al., 2009). On the other hand, CYP46A1 overexpression in transgenic mice increases the expression of HMGCoAR enzymes, which might compensate the increased cholesterol degradation by increasing its synthesis (Maioli et al., 2013). In the present study, we found that cocaine administration results in decreased expression of both HMGCoAR and CYP46A1 in DSt suggesting that cocaine reduces the activity of the mevalonate pathway. This effect could participate in the long-term adaptations induced by

cocaine and could be counter-balanced by the viral overexpression of CYP46A1 we performed.

Our data indicate that manipulations of cholesterol metabolism is beneficial specifically in the DSt, a brain area known to participate in addiction, and more specifically in relapse and context-induced cocaine seeking (for review see Crombag et al., 2008). In fact, DSt has been found to be activated during cue-elicited cocaine craving in humans (Garavan et al., 2000). In rats, the level of the marker of neuronal activity FOS was increased in the DSt during cue-induced reinstatement after a forced abstinence (Kufahl et al., 2009). Interestingly, inactivation of the DSt decreases cocaine seeking induced by cues, regardless of whether extinction or abstinence occurred after cocaine self-administration (Fuchs et al., 2006). This reactivity of the DSt to cues might be the consequences of drug-induced long-term adaptations within this brain area. For example, a transcriptomic study compared the transcriptional profile of rats vulnerable or resistant to addiction in the ventral and dorsal striatum and found that several genes of the glutamate neurotransmission were modulated in the DSt of vulnerable rats (Brown et al., 2011). Other studies have shown that repeated cocaine administrations increase both membrane AMPA receptors density (Yamamoto and Zahniser, 2012) and the ratio AMPA/NMDA in the DSt (Yamaguchi et al., 2002; Yamamoto and Zahniser, 2012). These changes in glutamate neurotransmission might be associated with dysfunctions in neuronal plasticity, and several laboratories have described impaired LTD in the striatum in response to cocaine self-administration (Kasanetz et al., 2010; Moussawi et al., 2009) and other drugs, such as alcohol (Cui et al., 2011) and nicotine (Licheri et al., 2018). Manipulation of cholesterol metabolism allowed by CYP46A1 overexpression might prevent relapse by correcting this impairment of neuroplasticity

induced by drugs in the DSt. In support to this hypothesis, cholesterol level changes have been proposed to act as a regulator of AMPAR synaptic delivery during LTP after NMDAR activation (Brachet et al., 2015). In agreement with a role of cholesterol in NDMAR transduction, it was shown the NMDAR activity and function was reduced in CYP46A1$^{-/-}$ transgenic mice (Sun et al., 2016). Brachet and coll also showed that a reduction in cholesterol leads to the mobilization of GluA1-containing AMPA receptors into the synaptic membrane (Brachet et al., 2015). Furthermore, efavirenz, a pharmacological activator of CYP46A1, restored LTP and synaptic transmission hippocampal neuron cultures from NPC-1 mice (Mitroi et al., 2019). Conversely, pharmacological inhibition of hippocampal sections with voriconazole inhibits LTD (Popiolek et al., 2020). Interestingly, statins have also been shown to modulate synaptic functions. For example, statins promote NMDA receptor-mediated synaptic transmission with a distribution of the GluN2B subunit at the membrane in hippocampal sections (Parent et al., 2015). A second study showed that reducing cholesterol levels by methyl β-cyclodextrin on neuronal cultures decreased the NMDA receptor response and reduced LTP firing (Korinek et al., 2015). All the data suggest that cholesterol plays a key role in synaptic plasticity processes. Thus, CYP46A1 overexpression in the DSt, by increasing the turnover of cholesterol, may counteract the long-term adaptations left by drugs in the DSt by allowing new changes in synaptic communication.

Accumulating evidence also demonstrates a major role of dorsostriatal DA in craving and relapse (Cerruti et al., 1994; Frankowska et al., 2019; Ito et al., 2002; Vanderschuren et al., 2005; Xia et al., 1992). For example, chronic administration of cocaine has been shown to decrease mRNA levels of the membrane DA transporter (DAT) in the substantia nigra (Xia et al., 1992) and the ventral tegmental area (Cerruti et al., 1994), suggesting reduced

expression of DAT protein in targeted regions such as the NAc and the DSt. In addition, cocaine self-administration followed by forced abstinence produced a reduction in dopamine D2-like receptor density in the DSt (Frankowska et al., 2019) and the infusion of the DA receptor antagonist alpha-flupenthixol into the dorsal striatum decreased cocaine seeking under a second-order schedule of reinforcement (Vanderschuren et al., 2005). In addition, DA transmission has been shown to be enhanced in the DSt during cocaine seeking under a second-order schedule of reinforcement, which depends on the conditioned reinforcing properties of cocaine-associated stimuli (Ito et al., 2002). Cholesterol has been shown to affect the conformation and function of the DAT (Jones et al., 2012). In addition, cholesterol concentrations have been shown to influence the signal transduction of dopamine D1 receptors (Maguire and Druse, 1989). Thus, changes in cholesterol homeostasis may interfere with dopamine signaling in the striatum leading to decrease drug seeking behavior.

Consistent with previous findings with statins (Chauvet et al., 2016), CYP overexpression in the DSt reduced cocaine seeking but did not alter food seeking suggesting that cholesterol homeostasis is specific for drug seeking whereas natural rewards are spared. In addition, CYP overexpression did not affect self-administration of cocaine under different schedules of reinforcements indicating that the cholesterol homeostasis does not play a major role in the reinforcing effects of cocaine. These results are also in agreement with previous findings with statins (Chauvet et al., 2016) and suggest that targeting cholesterol homeostasis may not be effective in initiating abstinence but only to help maintaining abstinence. In addition to these effects on reward-related processes, CYP overexpression in the DSt did not alter behavioral flexibility in rats suggesting that its effects are not due to cognitive effects but are specific for the motivational effects of context and cue on seeking behavior.

In conclusion, we demonstrate that cocaine alters brain cholesterol homeostasis in several brain areas involved in addiction processes, but only targeting cholesterol homeostasis by overexpressing CYP 461A in the DSt has beneficial effects on relapse to cocaine. These results point to cholesterol homeostasis as a new target for the treatment of addiction.

Funding: This study was funded by the IReSP (Institut de Recherche en Santé Publique); Reference: 21II105-00

Acknowledgements: This work has benefited from the facilities and expertise of PREBIOS platform (University of Poitiers).

Figures and Legends:

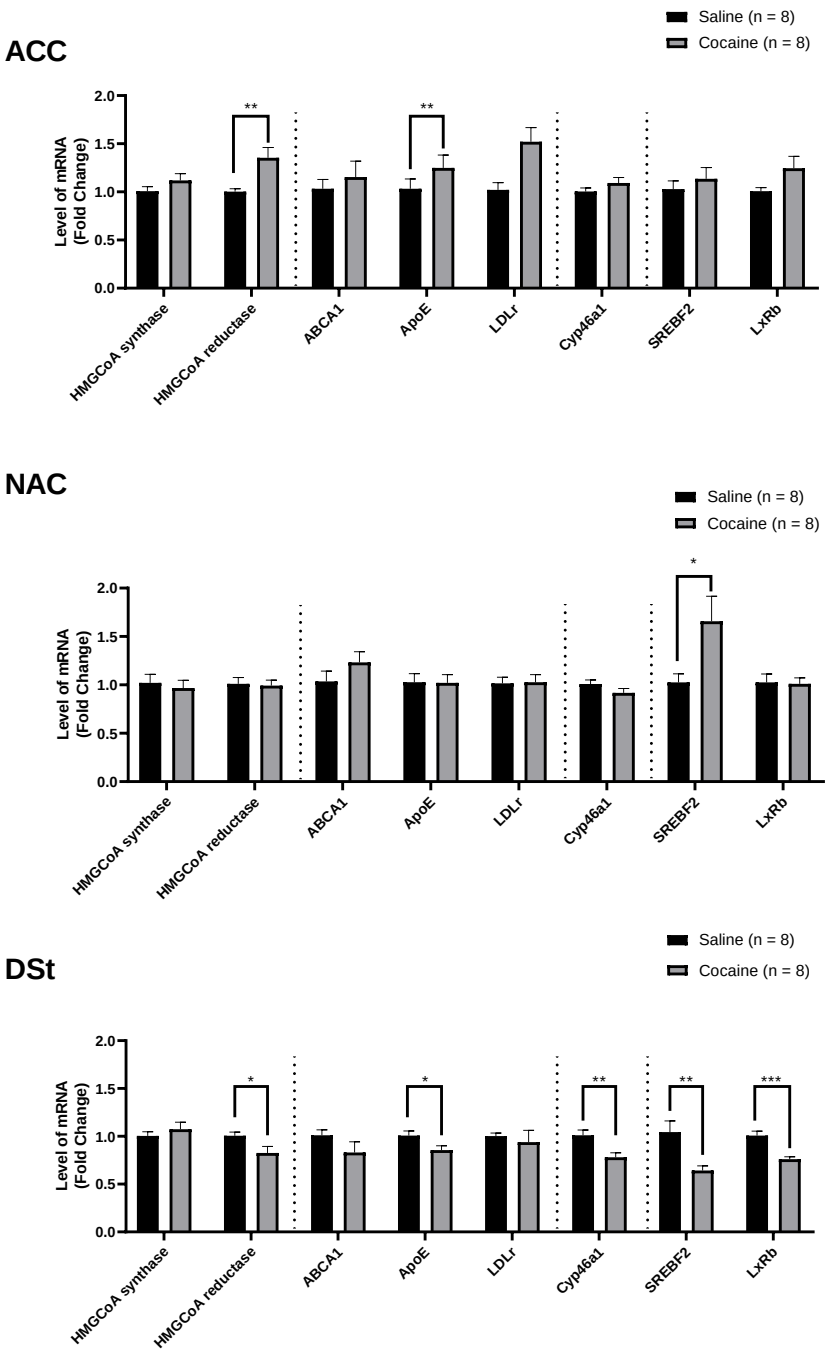


Figure 2: Changes in genes expression involved in cholesterol metabolism in anterior cingulate cortex (ACC), nucleus accumbens (NAc), and dorsal striatum (DSt) after acute injection of cocaine (15mg/kg).

Values represent the means ± SEM of 2-ΔΔCT normalized to the control group. Black bars correspond to control animals (n = 10) and black bars correspond to cocaine animals (n = 10). Student t-test, *p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001 different from saline group. HMGCoA: 3-hydroxyl-3-methylglutaryl- coenzyme A, ABCA1: ATP-binding cassette A1, ApoE: Apolipoprotein E, Ldlr: Low density lipoprotein receptor, Cyp46a1: 24S-cholesterol hydroxylase, Srebf2: sterol-regulatory element binding factor, Lxr beta: liver X receptor beta.

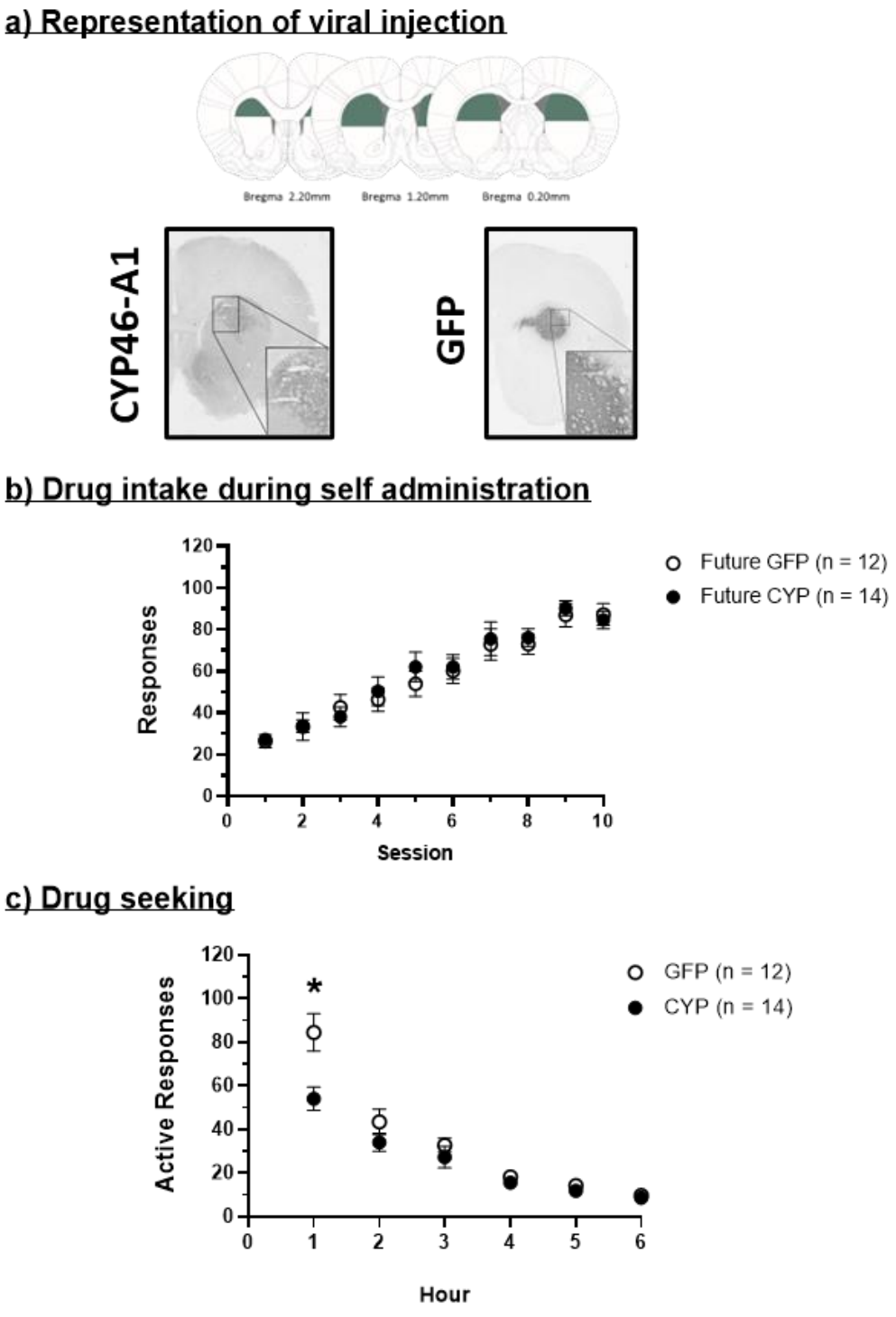


Figure 3: Overexpression of CYP46A1 in DSt reduced cocaine seeking during an extinction session, but not after cocaine priming.

a) Representation of viral expression and photos illustrating viral infections by CYP46-A1 and GFP in the DSt ; b) Drug intake during self-administration in the future CYP (n = 14) and GFP (n = 12) groups. c) Drug seeking after 6 weeks of abstinence during an extinction session. Results represent the means ± SEM in GFP group (n = 12) and CYP group (n = 14). *p<0.5

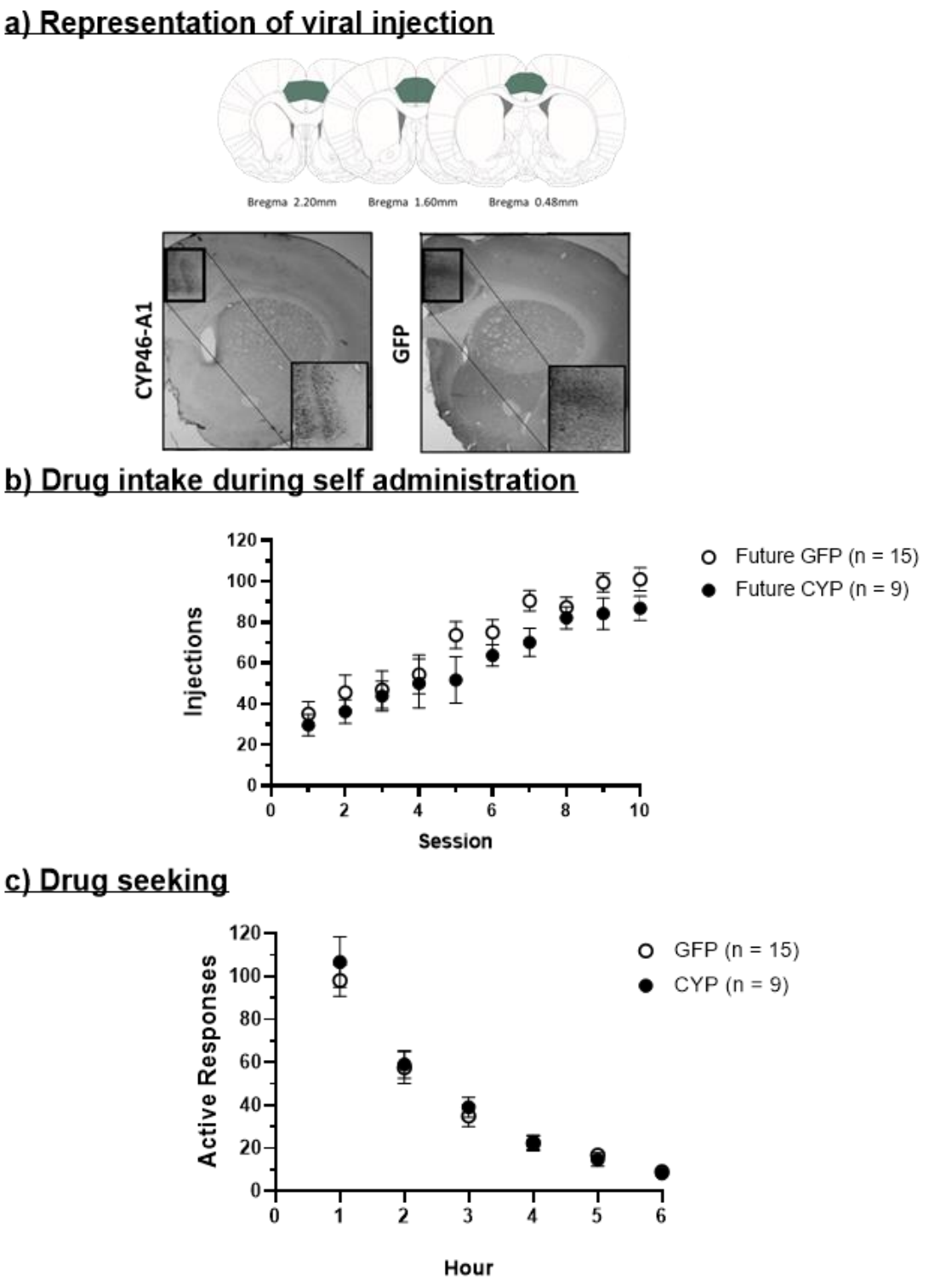


Figure 4: Overexpression of CYP46A1 in ACC did not reduce cocaine seeking.

a) Representation of viral expression and photos illustrating viral infections by CYP46-A1 and GFP in the ACC; b) Drug intake during self-administration in the future CYP (n = 9) and GFP (n = 15) groups. c) Drug seeking after 6 weeks of abstinence during an extinction session. Results represent the means ± SEM in CYP (n = 9) and GFP (n = 15) groups.

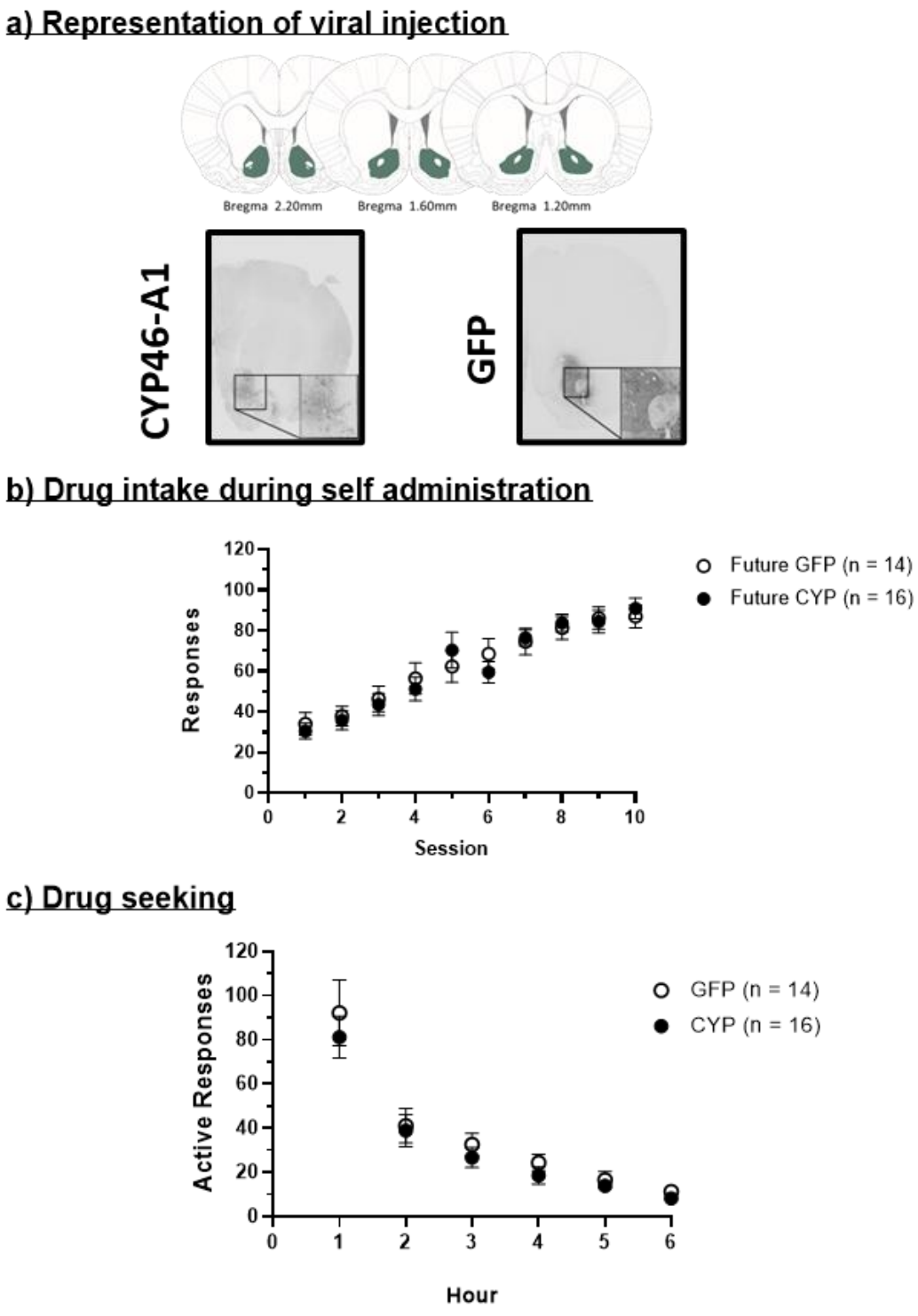


Figure 5: Overexpression of CYP46A1 in the NAc did not reduce cocaine seeking.

a) Representation of viral expression and photos illustrating viral infections by CYP46-A1 and GFP in the NAc; b) Drug intake during self-administration in the future CYP (n = 16) and GFP (n = 14) groups. c) Drug seeking after 6 weeks of abstinence during an extinction session. Results represent the means ± SEM in CYP (n = 16) and GFP (n = 14) groups.

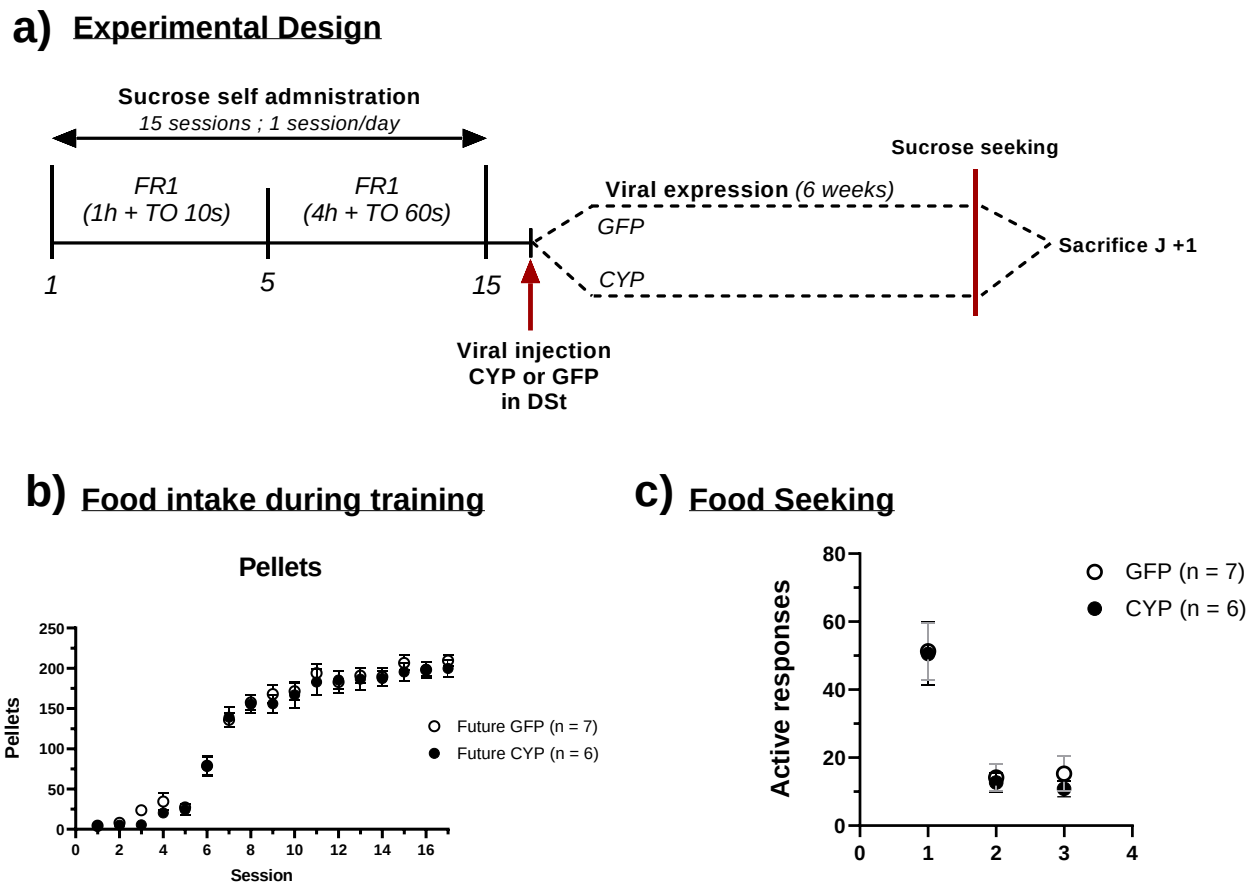


Figure 6: Overexpression of CYP46A1 in DSt did not alter food seeking.

a) Experimental design used to measure food seeking. b) Time course of pellet intake during self-administration in the future CYP (n = 6) and GFP (n = 7) groups. c) Evaluation of drug seeking after 6 weeks of viral expression during extinction session. Results represent the means ± SEM in GFP group (n = 7) and CYP group (n = 6).

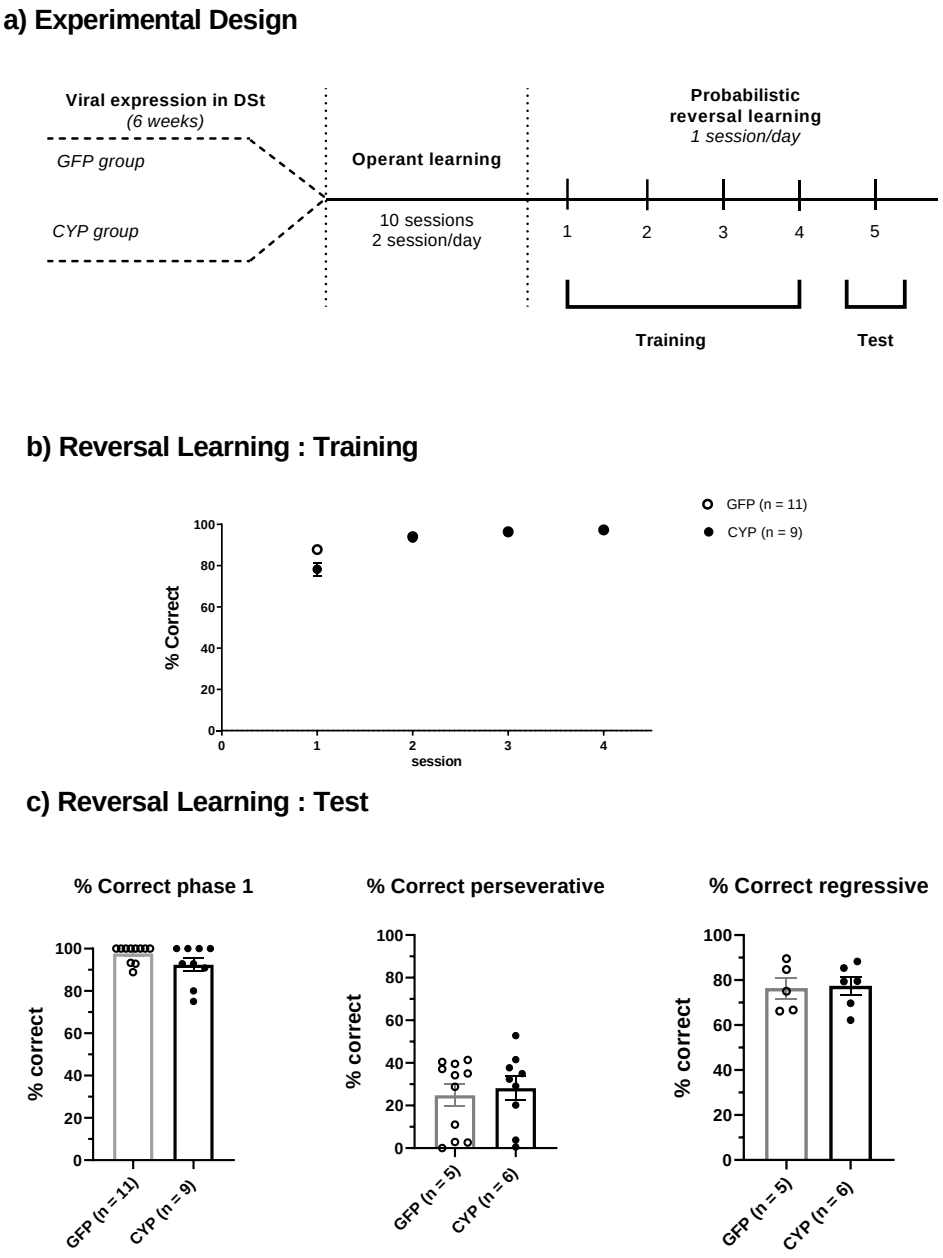


Figure 7: Overexpression of CYP46A1 in the DSt did not alter flexibility in a probabilistic reversal learning task.

a) Representation of the probabilistic reversal learning task. b) Time course of percentage of correct responses. c) Evaluation of animal flexibility during test session. The level of flexibility of the animals was assessed by their percentage of correct responses. During the phase 1 represented the period before the probability of the 2 levers is reversed. The percentage of correct responses during the perseverative phase represent the period of learning the new rule and the percentage of correct responses during the regressive phase represent the period where we considered that animals were assimilated the new rule. This regressive phase began when the animal had 8 consecutive correct responses. Results represent the means ± SEM in GFP group (n = 11) and CYP group (n = 9).

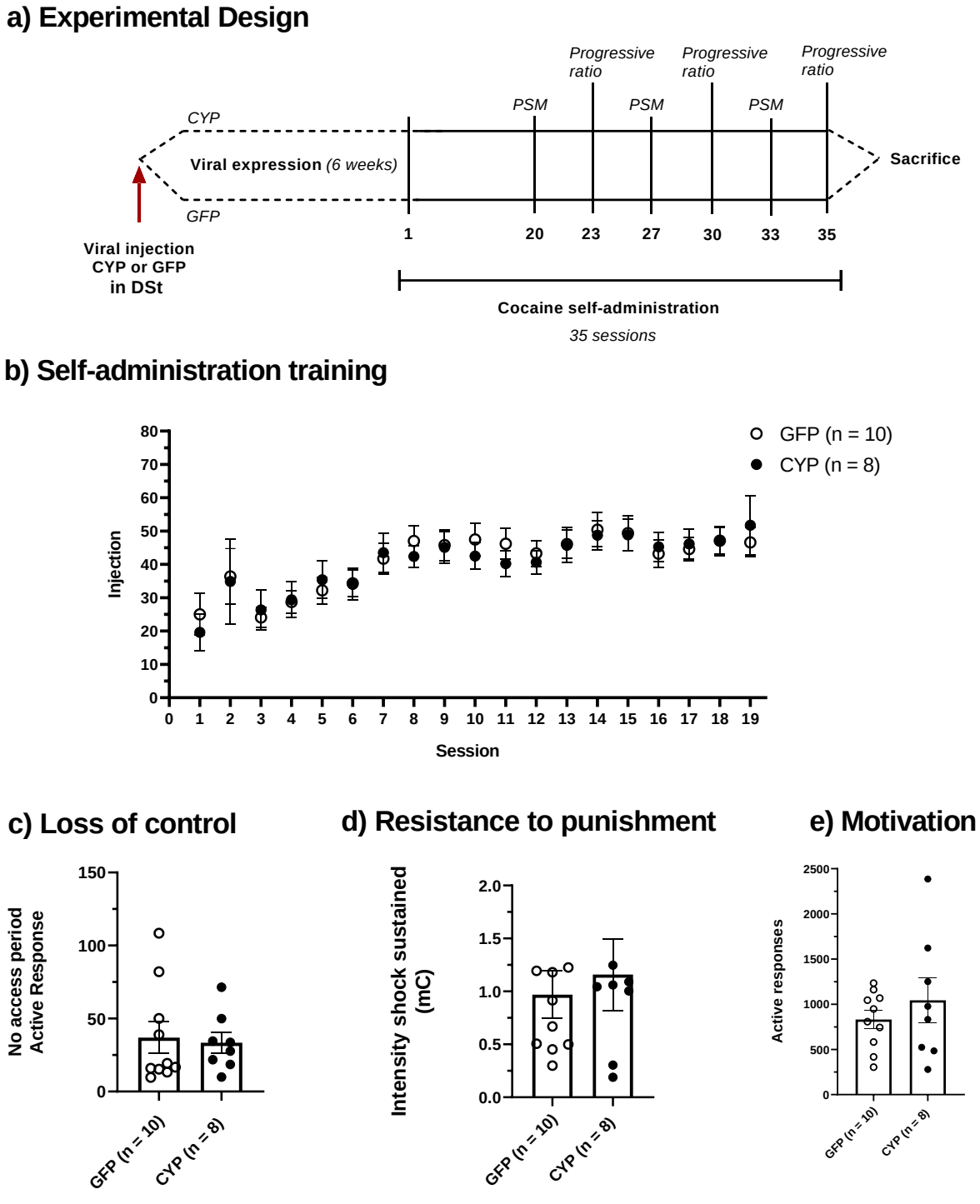


Figure 8: Overexpression of CYP46A1 in DSt did not alter cocaine self-administration

a) Representation of the protocol used to measure cocaine taking behavior. b) Time course of cocaine intake in the future CYP (n = 8) and GFP (n = 10) groups. c) loss of control on drug intake during training 19 first training sessions d) resistance to punishment by progressive shock magnitude schedule (PSS) e) motivation by progressive ratio procedure. Results represent the means ± SEM in GFP group (n = 10) and CYP group (n = 8).

Supplementary Table S1: Primer sequences used for RT-qPCR (for, forward primers; rev, reverse primers)

Genes	Accession number	Primers	Ref used
HMGCoA synthase *Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase*	NM_017268.1	For: ATCGCGTTTGGTGCCTGAAG	
		Rev: AAGGGCAACGATTCCCACAT	
HMGCoA reductase *Hydroxymethylglutaryl-CoA reductase*	NM_013134.2	For: GGTGCATCGCCATCCTGTAC	
		Rev: GCTGACGCAGGTTCTGGAA	
Abca1 *ATP binding cassette A1*	NM_178095.2	For: GGTAGTGTGGCCACTTTCGT	(Fernández-Pérez et al., 2014)
		Rev: TCTGGGCCTGATGAAAAATC	
ApoE *Apolipoprotein E*	J00705	For: TCCATTGCCTCCACCACAGT	
		Rev: GGGCGTAGGTGAGGGATGA	
Ldlr *Low Density lipoprotein receptor*	NM_175762.2	For: TTCTTCAGGTTGGGGATCAG	(Fernández-Pérez et al., 2014)
		Rev: CAGCTCTGTGTGAACCTGGA	
CYP46A1 *24S cholesterol hydroxylase*	NM_001108723.1	For: GTGCCACCATCGACATCCTG	(Ishikawa et al., 2016)
		Rev: GGTGTTACGGGACGCACTGATAC	
Srebf2 *Sterol regulatory element-binding protein-2*	NM_001033694.1	For: GTCCTCACCTTCCTGGGTCT	(Caimari et al., 2010)
		Rev: CAGCAGTAGAGTCGGCATCA	
Lxr Beta *Liver X receptor beta*	NM_031626.1	For: TGAAGGCATCCACCATCGAG	
		Rev: CGTGATGCACTCTGTCTCGT	
Gapdh *Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase*	NM_017008.4	For: ATGGGAAGGTCGGTGTGAAC	
		Rev: ACTCCACGACATACTCAGCAC	
ActB *Actin beta*	NM_031144.3	For: GGAGAAGATTTGGCACCAC	
		Rev: AGGCATACAGGGACAACAC	
Hprt1 *Hypoxanthine Phosphoribosyltransferase 1*	NM_012583.2	For: TGGTCAAGCAGTACAGCCCC	
		Rev: TAGTGGCCACATCAACAGGA	

REFERENCES

Alsebaaly, J., Dugast, E., Favot, L., Rabbaa Khabbaz, L., Solinas, M., Thiriet, N., 2018. Persistent Neuroadaptations in the Expression of Genes Involved in Cholesterol Homeostasis Induced by Chronic, Voluntary Alcohol Intake in Rats. Front. Mol. Neurosci. 11, 457. https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00457

Arnold, J.M., Roberts, D.C.S., 1997. A critique of fixed and progressive ratio schedules used to examine the neural substrates of drug reinforcement. Pharmacol. Biochem. Behav. 57, 441–447. https://doi.org/10.1016/S0091-3057(96)00445-5

Bar-On, P., Crews, L., Koob, A.O., Mizuno, H., Adame, A., Spencer, B., Masliah, E., 2008. Statins reduce neuronal alpha-synuclein aggregation in in vitro models of Parkinson's disease. J. Neurochem. 105, 1656–1667. https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2008.05254.x

Bar-On, P., Rockenstein, E., Adame, A., Ho, G., Hashimoto, M., Masliah, E., 2006. Effects of the cholesterol-lowering compound methyl-beta-cyclodextrin in models of alpha-synucleinopathy. J. Neurochem. 98, 1032–1045. https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.04017.x

Berg, J., Tymoczko, J., Stryer, L., 2002. The complex regulation of cholesterol biosynthesis takes place at several levels. Biochemistry, WH Freeman New York.

Brachet, A., Norwood, S., Brouwers, J.F., Palomer, E., Helms, J.B., Dotti, C.G., Esteban, J.A., 2015. LTP-triggered cholesterol redistribution activates Cdc42 and drives AMPA receptor synaptic delivery. J. Cell Biol. 208, 791–806. https://doi.org/10.1083/jcb.201407122

Brown, A.L., Flynn, J.R., Smith, D.W., Dayas, C.V., 2011. Down-regulated striatal gene expression for synaptic plasticity-associated proteins in addiction and relapse vulnerable animals. Int. J. Neuropsychopharmacol. 14, 1099–1110. https://doi.org/10.1017/S1461145710001367

Buhaescu, I., Izzedine, H., 2007. Mevalonate pathway: a review of clinical and therapeutical implications. Clin. Biochem. 40, 575–584. https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2007.03.016

Caimari, A., Oliver, P., Rodenburg, W., Keijer, J., Palou, A., 2010. Feeding conditions control the expression of genes involved in sterol metabolism in peripheral blood mononuclear cells of normoweight and diet-induced (cafeteria) obese rats. J. Nutr. Biochem. 21, 1127–1133. https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2009.10.001

Cerruti, C., Pilotte, N.S., Uhl, G., Kuhar, M.J., 1994. Reduction in dopamine transporter mRNA after cessation of repeated cocaine administration. Mol. Brain Res. 22, 132–138. https://doi.org/10.1016/0169-328X(94)90040-X

Chauvet, C., Nicolas, C., Lafay-Chebassier, C., Jaber, M., Thiriet, N., Solinas, M., 2016. Statins reduce the risks of relapse to addiction in rats. Neuropsychopharmacology 41, 1588–1597. https://doi.org/10.1038/npp.2015.317

Cotto, B., Natarajaseenivasan, K., Ferrero, K., Wesley, L., Sayre, M., Langford, D., 2018. Cocaine and HIV-1 Tat disrupt cholesterol homeostasis in astrocytes: Implications for HIV-associated neurocognitive disorders in cocaine user patients. Glia 66, 889–902. https://doi.org/10.1002/glia.23291

Crombag, H.S., Bossert, J.M., Koya, E., Shaham, Y., 2008. Context-induced relapse to drug seeking: a review. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 363, 3233–3243. https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0090

Cui, S., Wang, S., Li, J., Xie, G., Zhou, R., Chen, L., Yuan, X., 2011. Alteration of synaptic plasticity in rat dorsal striatum induced by chronic ethanol intake and withdrawal via ERK pathway. Acta Pharmacol. Sin. 32, 175–181. https://doi.org/10.1038/aps.2010.199

Deroche-Gamonet, V., 2004. Evidence for Addiction-like Behavior in the Rat. Science 305, 1014–1017. https://doi.org/10.1126/science.1099020

Desmercieres, S., Lardeux, V., Longueville, J.-E., Hanna, M., Panlilio, L.V., Thiriet, N., Solinas, M., 2022. A self-adjusting, progressive shock magnitude procedure to investigate resistance to

punishment: characterization in male and female rats. bioRxiv 2022.03.12.481595. https://doi.org/10.1101/2022.03.12.481595

Dietschy, J.M., Turley, S.D., 2004. Thematic review series: brain Lipids. Cholesterol metabolism in the central nervous system during early development and in the mature animal. J. Lipid Res. 45, 1375–1397. https://doi.org/10.1194/jlr.R400004-JLR200

Egawa, J., Pearn, M.L., Lemkuil, B.P., Patel, P.M., Head, B.P., 2016. Membrane lipid rafts and neurobiology: age-related changes in membrane lipids and loss of neuronal function. J. Physiol. 594, 4565–4579. https://doi.org/10.1113/JP270590

Fernández-Pérez, L., Santana-Farré, R., de Mirecki-Garrido, M., García, I., Guerra, B., Mateo-Díaz, C., Iglesias-Gato, D., Díaz-Chico, J.C., Flores-Morales, A., Díaz, M., 2014. Lipid profiling and transcriptomic analysis reveals a functional interplay between estradiol and growth hormone in liver. PloS One 9, e96305. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0096305

Frankowska, M., Miszkiel, J., Pomierny-Chamioło, L., Pomierny, B., Giannotti, G., Suder, A., Filip, M., 2019. Alternation in dopamine D2-like and metabotropic glutamate type 5 receptor density caused by differing housing conditions during abstinence from cocaine self-administration in rats. J. Psychopharmacol. (Oxf.) 33, 372–382. https://doi.org/10.1177/0269881118821113

Fuchs, R.A., Branham, R.K., See, R.E., 2006. Different Neural Substrates Mediate Cocaine Seeking after Abstinence versus Extinction Training: A Critical Role for the Dorsolateral Caudate-Putamen. J. Neurosci. 26, 3584–3588. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5146-05.2006

Garavan, H., Pankiewicz, J., Bloom, A., Cho, J.K., Sperry, L., Ross, T.J., Salmeron, B.J., Risinger, R., Kelley, D., Stein, E.A., 2000. Cue-induced cocaine craving: neuroanatomical specificity for drug users and drug stimuli. Am. J. Psychiatry 157, 1789–1798. https://doi.org/10.1176/appi.ajp.157.11.1789

Ghaemi, S.N., Shields, G.S., Hegarty, J.D., Goodwin, F.K., 2000. Cholesterol levels in mood disorders: high or low? Bipolar Disord. 2, 60–64. https://doi.org/10.1034/j.1399-5618.2000.020109.x

Goritz, C., Mauch, D.H., Pfrieger, F.W., 2005. Multiple mechanisms mediate cholesterol-induced synaptogenesis in a CNS neuron. Mol. Cell. Neurosci. 29, 190–201. https://doi.org/10.1016/j.mcn.2005.02.006

Ingrand, I., Solinas, M., Ingrand, P., Dugast, E., Saulnier, P.-J., Pérault-Pochat, M.-C., Lafay-Chebassier, C., 2018. Lack of effects of simvastatin on smoking cessation in humans: A double-blind, randomized, placebo-controlled clinical study. Sci. Rep. 8, 3836. https://doi.org/10.1038/s41598-018-21819-7

Ishikawa, M., Yoshitomi, T., Zorumski, C.F., Izumi, Y., 2016. 24(S)-Hydroxycholesterol protects the ex vivo rat retina from injury by elevated hydrostatic pressure. Sci. Rep. 6, 33886. https://doi.org/10.1038/srep33886

Ito, R., Dalley, J.W., Robbins, T.W., Everitt, B.J., 2002. Dopamine release in the dorsal striatum during cocaine-seeking behavior under the control of a drug-associated cue. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 22, 6247–6253. https://doi.org/20026606

Jones, K.T., Zhen, J., Reith, M.E.A., 2012. Importance of cholesterol in dopamine transporter function. J. Neurochem. 123, 700–715. https://doi.org/10.1111/jnc.12007

Kasanetz, F., Deroche-Gamonet, V., Berson, N., Balado, E., Lafourcade, M., Manzoni, O., Piazza, P.V., 2010. Transition to addiction is associated with a persistent impairment in synaptic plasticity. Science 328, 1709–1712. https://doi.org/10.1126/science.1187801

Korade, Z., Kenworthy, A.K., 2008. Lipid rafts, cholesterol, and the brain. Neuropharmacology 55, 1265–1273. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2008.02.019

Kufahl, P.R., Zavala, A.R., Singh, A., Thiel, K.J., Dickey, E.D., Joyce, J.N., Neisewander, J.L., 2009. c-Fos expression associated with reinstatement of cocaine-seeking behavior by response-contingent conditioned cues. Synap. N. Y. N 63, 823–835. https://doi.org/10.1002/syn.20666

Laufs, U., Liao, J.K., 2003. Rapid effects of statins: from prophylaxis to therapy for ischemic stroke. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 23, 156–157. https://doi.org/10.1161/01.atv.0000051360.79309.4e

Lehrmann, E., Colantuoni, C., Deep-Soboslay, A., Becker, K.G., Lowe, R., Huestis, M.A., Hyde, T.M., Kleinman, J.E., Freed, W.J., 2006. Transcriptional changes common to human cocaine cannabis and phencyclidine abuse. PLoS ONE 1. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000114

Licheri, V., Lagström, O., Lotfi, A., Patton, M.H., Wigström, H., Mathur, B., Adermark, L., 2018. Complex Control of Striatal Neurotransmission by Nicotinic Acetylcholine Receptors via Excitatory Inputs onto Medium Spiny Neurons. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 38, 6597–6607. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0071-18.2018

Lu, D., Qu, C., Goussev, A., Jiang, H., Lu, C., Schallert, T., Mahmood, A., Chen, J., Li, Y., Chopp, M., 2007. Statins increase neurogenesis in the dentate gyrus, reduce delayed neuronal death in the hippocampal CA3 region, and improve spatial learning in rat after traumatic brain injury. J. Neurotrauma 24, 1132–1146. https://doi.org/10.1089/neu.2007.0288

Lund, E.G., Xie, C., Kotti, T., Turley, S.D., Dietschy, J.M., Russell, D.W., 2003. Knockout of the cholesterol 24-hydroxylase gene in mice reveals a brain-specific mechanism of cholesterol turnover. J. Biol. Chem. 278, 22980–22988. https://doi.org/10.1074/jbc.M303415200

Maguire, P.A., Druse, M.J., 1989. The influence of cholesterol on synaptic fluidity, dopamine D1 binding and dopamine-stimulated adenylate cyclase. Brain Res. Bull. 23, 69–74. https://doi.org/10.1016/0361-9230(89)90165-2

Maioli, S., Båvner, A., Ali, Z., Heverin, M., Ismail, M.-A.-M., Puerta, E., Olin, M., Saeed, A., Shafaati, M., Parini, P., Cedazo-Minguez, A., Björkhem, I., 2013. Is it possible to improve memory function by upregulation of the cholesterol 24S-hydroxylase (CYP46A1) in the brain? PloS One 8, e68534. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0068534

Mast, N., Saadane, A., Valencia-Olvera, A., Constans, J., Maxfield, E., Arakawa, H., Li, Y., Landreth, G., Pikuleva, I.A., 2017. Cholesterol-metabolizing enzyme cytochrome P450 46A1 as a pharmacologic target for Alzheimer's disease. Neuropharmacology 123, 465–476. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.06.026

McClintick, J.N., McBride, W.J., Bell, R.L., Ding, Z.-M., Liu, Y., Xuei, X., Edenberg, H.J., 2018. Gene expression changes in the ventral hippocampus and medial prefrontal cortex of adolescent alcohol-preferring (P) rats following binge-like-alcohol drinking. Alcohol Fayettev. N 68, 37–47. https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2017.09.002

McClintick, J.N., McBride, W.J., Bell, R.L., Ding, Z.-M., Liu, Y., Xuei, X., Edenberg, H.J., 2016. Gene expression changes in glutamate and GABA-A receptors, neuropeptides, ion channels and cholesterol synthesis in the periaqueductal gray following binge-like alcohol drinking by adolescent alcohol-preferring (P) rats. Alcohol. Clin. Exp. Res. 40, 955–968. https://doi.org/10.1111/acer.13056

Moussawi, K., Pacchioni, A., Moran, M., Olive, M.F., Gass, J.T., Lavin, A., Kalivas, P.W., 2009. N-Acetylcysteine reverses cocaine-induced metaplasticity. Nat. Neurosci. 12, 182–189. https://doi.org/10.1038/nn.2250

Murman, D.L., 2015. The Impact of Age on Cognition. Semin. Hear. 36, 111–121. https://doi.org/10.1055/s-0035-1555115

Petrov, A.M., Lam, M., Mast, N., Moon, J., Li, Y., Maxfield, E., Pikuleva, I.A., 2019. CYP46A1 Activation by Efavirenz Leads to Behavioral Improvement without Significant Changes in Amyloid Plaque Load in the Brain of 5XFAD Mice. Neurother. J. Am. Soc. Exp. Neurother. 16, 710–724. https://doi.org/10.1007/s13311-019-00737-0

Pfenninger, K.H., 2009. Plasma membrane expansion: A neuron's Herculean task. Nat. Rev. Neurosci. 10, 251–261. https://doi.org/10.1038/nrn2593

Pikuleva, I.A., Cartier, N., 2021. Cholesterol Hydroxylating Cytochrome P450 46A1: From Mechanisms of Action to Clinical Applications. Front. Aging Neurosci. 13, 696778. https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.696778

Russell, D.W., Halford, R.W., Ramirez, D.M.O., Shah, R., Kotti, T., 2009. Cholesterol 24-hydroxylase: an enzyme of cholesterol turnover in the brain. Annu. Rev. Biochem. 78, 1017–1040. https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.78.072407.103859

Saher, G., Stumpf, S.K., 2015. Cholesterol in myelin biogenesis and hypomyelinating disorders. Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Biol. Lipids 1851, 1083–1094. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2015.02.010

Segatto, M., Tonini, C., Pfrieger, F.W., Trezza, V., Pallottini, V., 2019. Loss of Mevalonate/Cholesterol Homeostasis in the Brain: A Focus on Autism Spectrum Disorder and Rett Syndrome. Int. J. Mol. Sci. 20, 3317. https://doi.org/10.3390/ijms20133317

Solinas, M., Goldberg, S.R., 2005. Motivational effects of cannabinoids and opioids on food reinforcement depend on simultaneous activation of cannabinoid and opioid systems. Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol. 30, 2035–2045. https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300720

Vanderschuren, L.J.M.J., Di Ciano, P., Everitt, B.J., 2005. Involvement of the dorsal striatum in cue-controlled cocaine seeking. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 25, 8665–8670. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0925-05.2005

Verharen, J.P.H., Adan, R.A.H., Vanderschuren, L.J.M.J., 2019. Differential contributions of striatal dopamine D1 and D2 receptors to component processes of value-based decision making. Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol. 44, 2195–2204. https://doi.org/10.1038/s41386-019-0454-0

Wu, H., Lu, D., Jiang, H., Xiong, Y., Qu, C., Li, B., Mahmood, A., Zhou, D., Chopp, M., 2008. Simvastatin-mediated upregulation of VEGF and BDNF, activation of the PI3K/Akt pathway, and increase of neurogenesis are associated with therapeutic improvement after traumatic brain injury. J. Neurotrauma 25, 130–139. https://doi.org/10.1089/neu.2007.0369

Xia, Y., Goebel, D.J., Kapatos, G., Bannon, M.J., 1992. Quantitation of rat dopamine transporter mRNA: effects of cocaine treatment and withdrawal. J. Neurochem. 59, 1179–1182. https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1992.tb08365.x

Xu, W., He, Y., Zhang, J., Li, H., Wan, X., Li, M., Wang, Y., Xu, R., Zhang, H., Dai, Y., Liu, H., Jiang, L., Zhao, Y., Cen, X., 2021. Simvastatin Blocks Reinstatement of Cocaine-induced Conditioned Place Preference in Male Mice with Brain Lipidome Remodeling. Neurosci. Bull. 37, 1683–1702. https://doi.org/10.1007/s12264-021-00771-z

Yamaguchi, M., Suzuki, T., Abe, S., Hori, T., Kurita, H., Asada, T., Okado, N., Arai, H., 2002. Repeated cocaine administration differentially affects NMDA receptor subunit (NR1, NR2A-C) mRNAs in rat brain. Synap. N. Y. N 46, 157–169. https://doi.org/10.1002/syn.10132

Yamamoto, D.J., Zahniser, N.R., 2012. Differences in Rat Dorsal Striatal NMDA and AMPA Receptors following Acute and Repeated Cocaine-Induced Locomotor Activation. PLOS ONE 7, e37673. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037673

Yang, D., Han, Y., Zhang, J., Chopp, M., Seyfried, D.M., 2012. Statins Enhance Expression of Growth Factors and Activate the PI3K/Akt-mediated Signaling Pathway after Experimental Intracerebral Hemorrhage. World J. Neurosci. 2, 74–80. https://doi.org/10.4236/wjns.2012.22011

Discussion générale

I. Mise en place d'une nouvelle procédure à magnitude de choc progressive et auto-ajustable

A. Rappel de l'objectif

Dans l'article 1, qui correspond à la première partie de mon travail de thèse, nous avons mis en place une nouvelle procédure à magnitude de choc progressive (PSS) afin d'améliorer les mesures de résistance à la punition chez le rat. En effet, les procédures les plus courantes utilisent des magnitudes de chocs électriques fixes (Belin et al., 2011; Deroche-Gamonet, 2004; Domi et al., 2021; Marchant et al., 2018; Pascoli et al., 2015; Pelloux et al., 2007), ce qui laisse peu de contrôle par l'animal de son niveau de punition. D'autres procédures augmentent de manière progressive lors de plusieurs sessions jusqu'à ce que l'animal ne réponde plus (Bentzley et al., 2014; Datta et al., 2017; Durand et al., 2022; Krasnova et al., 2014; Panlilio et al., 2003), ce qui nécessite plusieurs jours afin d'avoir une mesure individuelle de la résistance à la punition.

La procédure de PSS auto-ajustable développée durant cette thèse, dont la durée du choc augmente progressivement, permet de fournir, en une seule session, un point de rupture qui quantifie le degré de punition maximal que le rat est prêt à recevoir pour obtenir une récompense malgré son association à un choc électrique. Cette procédure permet d'obtenir une valeur individuelle de la volonté de l'animal à rechercher la récompense en évitant le potentiel biais que peut provoquer l'utilisation d'une intensité fixe et arbitraire du choc (Desmercieres et al., 2022 ; article 1). De plus, comme les animaux peuvent contrôler la magnitude des chocs qu'ils sont prêts à tolérer, la procédure de PSS représente un raffinement recommandé dans le principe des 3 R. Cette procédure auto-ajustée peut représenter un outil utile pour étudier les mécanismes sous-jacents aux comportements inadaptés qui persistent chez certains individus malgré des conséquences négatives.

B. Résumé des principaux résultats obtenus

Dans l'article 1, nous avons montré que, chez les rats mâles et femelles, le point de rupture du PSS est sensible à la manipulation de la faim et aux changements de la valeur incitative qualitative de la récompense. Nous avons aussi constaté que cette procédure permettait d'étudier la résistance à la punition sur de longues périodes. De ce fait, cette procédure

devrait permettre de comparer plusieurs manipulations comportementales ou neurobiologiques dans la même expérience. Enfin, en comparant la procédure de PSS avec la procédure de PR, nous avons constaté que, même si les deux mesures sont sensibles aux manipulations motivationnelles, elles ne sont pas corrélées. Cette absence de corrélation suggère que les processus neurobiologiques sous-jacents ces mesures sont distincts.

C. Utilisation de la procédure de PSS dans l'étude de l'addiction

Dans les études s'intéressant à l'addiction, plusieurs procédures mises en place chez le rongeur associent la prise de drogues à des chocs électriques afin de mimer le caractère compulsif de la recherche et de la prise de drogues (Belin et al., 2011; Bentzley et al., 2014; Datta et al., 2017; Deroche-Gamonet, 2004; Durand et al., 2022; Krasnova et al., 2014; Panlilio et al., 2003; Pelloux et al., 2007). Le concept d'auto-ajustement de la procédure développée ici pourrait améliorer les études des comportements compulsifs associés à la drogue en fournissant une mesure plus fine du profil individuel de résistance à la punition et une mesure continue plutôt que dichotomique de la résistance à la punition. En effet, dans les expériences utilisant un seuil arbitraire, les chercheurs évaluent si les animaux résistent ou non à la punition et ils forcent la population à appartenir à 2 catégories : « addict » ou « non-addict » (Belin et al., 2011; Deroche-Gamonet, 2004; Domi et al., 2021; Marchant et al., 2018; Pascoli et al., 2015; Pelloux et al., 2007). Or, chez l'Homme, il est difficile d'imaginer un seuil unique de dépendance et il est plus probable que la résistance à une punition et l'addiction se situent sur un continuum plutôt qu'en 2 catégories. Cette idée est d'ailleurs en accord avec la cinquième édition du DSM qui a transformé le diagnostic dichotomique de l'addiction (présence d'une addiction ou absence d'une addiction) en un diagnostic plutôt progressif (addiction faible, modérée ou forte). Ainsi notre modèle serait plus à même de reproduire ce continuum inclus récemment dans la description des maladies psychiatriques et en particulier l'addiction. De ce fait, utiliser la procédure de PSS dans les études d'addictions aux drogues pourrait représenter une meilleure translation chez l'Homme.

Les aspects motivationnels et les aspects compulsifs sont très étudiés dans l'addiction et la prise de drogues d'abus. L'absence de corrélation entre les mesures de ces 2 paramètres, mise en évidence dans l'article 1, souligne le fait que ces mécanismes sont, en partie,

différents et pourraient impliquer des systèmes neurobiologiques différents. La littérature met notamment en évidence le rôle de la DA dans les phénomènes motivationnels et le rôle de la sérotonine dans l'inhibition d'un comportement aversif impliqué dans la résistance à la punition et les comportements compulsifs (Cools et al., 2011; Pelloux et al., 2012). De ce fait, il serait intéressant de manipuler ces systèmes pharmacologiquement, ou encore par des techniques d'optogénétique, lorsque des animaux sont soumis à des expériences utilisant la procédure de PSS et d'évaluer si ces manipulations impactent de la même façon ou différemment les résultats obtenus dans la procédure de PR.

À titre d'exemple, Pelloux et ses collègues ont montré que la stimulation de la transmission sérotoninergique du prosencéphale réduit les comportements compulsifs de prise de cocaïne et qu'une déplétion en sérotonine provoquait une recherche compulsive de cocaïne chez le rat (Pelloux et al., 2012). Des administrations d'agonistes et d'antagonistes des récepteurs de la sérotonine ont, par ailleurs, confirmé ses observations (Pelloux et al., 2012). En ce qui concerne la transmission DAergique, Saunders a montré que l'administration d'antagonistes DAergiques dans le NAc bloque la recherche compulsive de drogues (Saunders et al., 2013). L'effet inverse est observé lorsque des agonistes DAergiques sont administrés (Saunders et al., 2013). Ainsi, il semblerait que DA et sérotonine aient des rôles opposés dans les comportements compulsifs, il serait intéressant d'évaluer si des résultats similaires peuvent être obtenus dans la procédure de PSS que nous avons développée.

D. Transposition de la procédure de PSS dans des procédures de conflit opérant dans les études sur l'anxiété

La procédure de PSS pourrait être combinée à d'autres modèles d'études utilisant un stress électrique. En effet, ce type de stress est utilisé dans de nombreux modèles animaux (Bali and Jaggi, 2015), car il est facile à mettre en place et peut être modulé rapidement et précisément en termes d'intensité et de durée (Bali and Jaggi, 2015). Un autre avantage majeur est que l'animal n'est généralement pas soumis à ce type de stress en dehors des expériences contrairement au bruit, à la restriction physique ou à des changements de température (Bali and Jaggi, 2015). L'exposition à des chocs électriques est utilisée dans de nombreux tests étudiant l'anxiété chez l'animal afin d'identifier les mécanismes neurobiologiques sous-jacents et de cribler de potentielles cibles thérapeutiques (Bali and Jaggi, 2015). Dans ces modèles, il existe un conflit entre la récompense et le choc électrique

(Bali and Jaggi, 2015; Geller and Seifter, 1960; Vogel et al., 1971) dans lequel l'animal doit choisir ou ne pas choisir une récompense associée à une punition dans une chambre opérante munie d'un levier (Geller and Seifter, 1960) ou d'un biberon d'eau électrifié (Vogel et al., 1971). Avec ce type de procédure, le niveau d'anxiété est inversement proportionnel au nombre de réponses associées à une punition reçue, c'est-à-dire que, plus l'animal est anxieux et moins il cherchera de récompenses quand elles sont associées à des punitions (Bali and Jaggi, 2015; Geller and Seifter, 1960; Vogel et al., 1971). Ces tests ont montré une grande validité prédictive pour la découverte de nombreux anxiolytiques utilisés actuellement chez l'Homme (Geller et al., 1962; Geller and Seifter, 1960; Hascoët and Bourin, 1997; Loiseau et al., 2003; Molina-Hernández and Téllez-Alcántara, 2001; Vogel et al., 1971).

Plusieurs modifications et variantes ont été apportées à ces procédures. Par exemple, des chercheurs ont modifié l'intensité et la durée du choc ou ont instauré la restriction hydrique dans le cadre de l'utilisation d'un biberon d'eau pour augmenter la motivation pour ce dernier (Millan, 1999; Plaznik et al., 1994). D'autres ont aussi rajouté une composante de peur conditionnée pendant la période d'entraînement (Lamberty et al., 2003) ou un choix entre une récompense immédiate associée à une punition et une récompense retardée sans punition (Hascoët and Bourin, 1997). Dans tous les cas, ces procédures ont utilisé un seuil arbitraire de choc électrique ce qui peut limiter les interprétations des résultats obtenus comme nous l'avons souligné dans l'article 1. De ce fait, l'utilisation d'une punition électrique auto-ajustable similaire à celle de la procédure de l'article 1 pourrait fournir de nouvelles informations et affiner les résultats obtenus.

II. Effets de l'exposition à un régime riche en graisse et en sucre sur la motivation et la compulsivité pour la nourriture

A. Rappel de l'objectif

Dans l'article 2, nous nous sommes intéressés à l'addiction à la nourriture, un phénomène qui reste controversé et qui fait débat au sein de la communauté scientifique (Gordon et al., 2018). Pour ce faire, nous avons étudié l'impact d'une exposition chronique à un régime hyperpalatable sur la motivation et le développement d'une compulsivité chez les animaux ainsi que les effets persistants de cette exposition. En effet, comme il a été expliqué précédemment (article 2), l'une des questions non résolues est de savoir si les effets observés sur la motivation et la compulsivité après une exposition à un régime palatable persistent ou disparaissent après un certain temps. De plus, nous nous sommes intéressés au sexe et à l'âge d'exposition des animaux afin de savoir s'ils pouvaient représenter des facteurs de vulnérabilité comme dans l'addiction aux drogues (Alves et al., 2020; Nicolas et al., 2022).

Dans cette étude, nous nous sommes intéressés à 2 comportements permettant d'évaluer chez le rongeur des comportements d'addiction à savoir, la résistance à la punition (Deroche-Gamonet, 2004; Pelloux et al., 2007; Vanderschuren and Everitt, 2004) et la motivation pour la drogue (McGregor and Roberts, 1993; Roberts and Bennett, 1993). Pour ce faire, nous avons utilisé la procédure de magnitude de choc progressive (PSS) auto-ajustable que nous avons mise au point durant ma thèse (Desmercieres et al., 2022).

B. Résumé des principaux résultats obtenus

Les résultats obtenus lors de cette étude (article 2) ont montré qu'un accès intermittent à un régime hyperpalatable riche en graisse et en sucre a diminué la consommation de nourriture standard entre les périodes d'exposition chez les rats mâles et femelles, adultes et adolescents. En revanche, ce type de régime n'a pas provoqué de perturbations persistantes de la compulsivité ou de la motivation des animaux pour la nourriture. Cette absence d'effets persistants sur la compulsivité et la motivation pourrait indiquer des différences notables entre l'addiction aux drogues et l'addiction à la nourriture.

C. Une potentielle absence de neuroadaptations durables après une exposition à un régime hyperpalatable

L'absence d'effets persistants induits par l'exposition au régime utilisé dans l'article 2 résulterait de l'absence de neuroadaptations durables après l'exposition au régime hyperpalatable. En effet, comme les animaux n'ont pas eu accès à cette nourriture pendant environ 2 semaines avant les tests comportementaux, nos résultats semblent indiquer que l'exposition chronique au régime hyperpalatable n'a pas provoqué de dérégulations cérébrales persistantes chez les animaux. Ceci représenterait une grande différence entre une exposition chronique à une drogue et une exposition chronique à ce type de régime alimentaire.

Comme les animaux ont présenté des changements dans leurs comportements alimentaires pendant l'exposition, et pas pendant les tests de mesure de compulsivité et de motivation, il serait intéressant d'évaluer si le régime hyperpalatable a provoqué des perturbations de la plasticité cérébrale qui auraient disparu avec le temps. Un indicateur moléculaire très étudié de ces neuroadaptations à long terme est la protéine ΔFosB, particulièrement étudiée dans l'addiction aux drogues (Nestler et al., 2001). Par exemple, une exposition chronique aux drogues augmente les niveaux de ΔFosB dans le NAc et le StD et cette accumulation participerait à la transition vers une consommation de drogue pathologique qui est retrouvée dans l'addiction (Colby et al., 2003; Lafragette et al., 2016; Nestler, 2013). La protéine ΔFosB a aussi été étudiée à la suite d'une consommation d'aliments hyperpalatables. Par exemple, Teergarden a observé que 6 semaines d'exposition continue augmentent les taux de ΔFosB dans le NAc des souris 24 heures après l'arrêt de ce régime (Teegarden et al., 2008). Sharma a observé que l'augmentation de ΔFosB dans le NAc induite par un régime hyperpalatable persiste après 3 jours d'abstinence, mais cette mesure n'a malheureusement pas été réalisée les jours suivants (Sharma et al., 2013). De plus, il a été montré que la surexpression de ΔFosB dans le NAc et le StD de souris transgéniques, ou par utilisation d'un vecteur viral, augmente le renforcement par la nourriture et la motivation des animaux dans une procédure de PR (Olausson et al., 2006). Ces résultats suggèrent une participation de ΔFosB dans les processus motivationnels liés à la prise de nourriture. L'évaluation de la protéine ΔFosB serait donc un outil permettant d'examiner les dérégulations à long terme du système de récompense induites par un régime

hyperpalatable. Nous proposons donc d'évaluer l'expression de ΔFosB dans le NAc et le StD à la fin de l'exposition et au début des tests comportementaux afin de savoir si le régime a provoqué un changement d'expression de cette protéine.

D. Étude de l'impact de la souche de rat utilisé dans les expériences sur les comportements induits par un régime hyperpalatable

Dans l'article 2, nous avons souligné des aspects importants pouvant faire varier les résultats et compliquer l'interprétation, comme l'hétérogénéité des régimes hyperpalatables ou de la durée de l'exposition.

Un autre aspect important que nous n'avons pas discuté dans l'article, et pouvant être souligné ici, est l'importance de la souche de rat utilisée dans les expériences. Dans les études citées dans l'article, 3 souches de rats différentes ont été utilisées : des rats Wistar, des rats Long Evans et dans notre cas des rats Sprague Dawley. Il est donc intéressant de s'interroger sur des possibles différences de réponses métaboliques et/ou comportementales face à la nourriture hyperpalatable entre ces souches. Plusieurs études semblent montrer de telles différences. Par exemple, Marques a réalisé une comparaison directe entre les souches de rats Wistar et Sprague Dawley sur les effets métaboliques après 17 semaines d'expositions à un régime hyperpalatable d'une teneur en graisse de 45 % (Marques et al., 2015). Plusieurs caractéristiques de trouble métabolique ont été mesurées à savoir la tolérance au glucose par voie orale, la pression artérielle ainsi que des analyses biochimiques sanguines. Ils ont mis en évidence que les 2 souches de rats avaient des réponses métaboliques similaires, mais celles-ci étaient beaucoup plus prononcées et détectées plus tôt chez les rats Wistar par rapport aux Sprague Dawley (Marques et al., 2015). Ces résultats indiquent que, même si les deux souches présentent à la fin de l'exposition les troubles métaboliques, et peuvent être utilisées comme modèle d'obésité (Marques et al., 2015), les rats Wistar ont eu des réponses aux effets du régime obésogène plus rapides et plus prononcées que les rats Sprague Dawley.

Dans une autre étude, Song a comparé les mécanismes de douleur radiculaire et d'inflammation de la racine dorsale après 8 semaines d'un régime gras à 40 % chez des rats Sprague Dawley et Long Evans (Song et al., 2017). Ils ont remarqué une augmentation des comportements liés à la douleur chez les rats Long-Evans et Sprague Dawley à la suite du

régime hyperpalatable (Song et al., 2017). De plus, ils ont observé que l'exposition au régime a augmenté les marqueurs d'obésité chez les Long Evans (augmentation de l'insuline, de la leptine, du pourcentage de graisse corporelle, etc.), mais pas chez les Sprague-Dawley (Song et al., 2017). Il semblerait aussi que les résultats soient plus nets chez les rats Long Evans, mais cette dernière information reste à confirmer. Il existe donc des différences de réponses métaboliques à la nourriture hyperpalatable en fonction de la souche de rat utilisée. Par conséquent, même si ces souches sont considérées comme valides pour les études utilisant de la nourriture hyperpalatable (Marques et al., 2015), il semble que la souche choisie pourrait être un facteur important et, en partie, expliquer les effets induits par ce type de régime.

Dans les études citées dans la discussion de notre article, celle qui est la plus proche, sur le plan du design expérimental et de la composition du régime, est celle de Rossetti (Rossetti et al., 2014). Dans son étude, il a utilisé des rats Wistar (Rossetti et al., 2014). Comme nous l'avons expliqué, cette souche semble répondre de manière plus précoce aux changements métaboliques que les Sprague Dawley que nous avons utilisés dans notre étude (Marques et al., 2015). De ce fait, les différences de résultats obtenues entre l'étude de Rossetti et la nôtre pourraient être en partie dues à la souche utilisée. Il est donc possible que les rats Sprague Dawley soient plus résistants aux perturbations engendrées par un régime hyperpalatable. Par extension, il serait possible que les perturbations comportementales induites par le régime hyperpalatable utilisé dans notre étude soient plus difficiles à mettre en place chez les Sprague Dawley. Une meilleure compréhension des différences intersouches face à un régime hyperpalatable est donc nécessaire.

III. Rôle du métabolisme du cholestérol cérébral dans l'addiction aux drogues

A. Rappel de l'objectif

Dans l'article 3, qui correspond au second axe de cette thèse, nous nous sommes intéressés au rôle du cholestérol dans l'addiction et nous avons recherché l'impact de la manipulation de son métabolisme sur l'addiction aux drogues, en particulier la cocaïne.

Notre équipe a montré que le cholestérol pouvait jouer un rôle potentiel dans l'addiction. En effet, un traitement chronique avec des statines, inhibiteurs de la HMGCoAR, pendant une période d'abstinence après des sessions d'auto-administrations a réduit la recherche de cocaïne et de nicotine (Chauvet et al., 2016). De plus, nous avons observé qu'une consommation volontaire et chronique d'alcool altère l'expression des gènes du métabolisme du cholestérol au niveau du CPF, du NAc, de l'AMG et du mésencéphale (Alsebaaly et al., 2018). L'équipe a donc émis l'hypothèse que le cholestérol pouvait participer à l'addiction et jouer un rôle dans les neuroadaptations durables induites par les drogues.

Pour tester cette hypothèse, nous avons évalué l'impact de la modulation du métabolisme du cholestérol sur la rechute en utilisant une approche virale permettant de surexprimer la CYP46A1, l'enzyme responsable de la dégradation du cholestérol cérébral, durant une période d'abstinence dans 3 structures cérébrales impliquées dans la rechute : le NAc, le CCA et le StD.

B. Résumé des résultats obtenus

Les résultats de qPCR ont indiqué que l'injection aiguë de cocaïne a modifié le métabolisme du cholestérol cérébral dans les 3 structures. Dans le NAc, on a observé une augmentation de gènes codant SREBF2, aussi connu sous le nom de SREBP-2, qui est une protéine régulatrice induisant la transcription de la HMGCoAR (Goldstein et al., 2006). Dans le CCA, l'injection de cocaïne a augmenté l'expression de l'enzyme principale de la synthèse du cholestérol, l'HMGCoAR, et du transporteur du cholestérol des astrocytes vers le neurone, l'APO-E. Dans le StD, l'injection de cocaïne a réduit l'expression de l'HMGCoAR, d'APO-E, de la CYP46A1 ainsi que 2 gènes impliqués dans la régulation du métabolisme du cholestérol, SREBF2 et LxRb.

L'investigation comportementale a indiqué que la surexpression de la CYP46A1 dans le StD uniquement, a diminué la recherche de cocaïne des animaux. En revanche, la surexpression de cette enzyme n'a pas eu d'impact quand elle est surexprimée dans le CCA ou le NAc. De plus, les expériences complémentaires qui se sont focalisées sur la surexpression de la CYP46A1 dans le StD ont montré que cette dernière n'a pas d'effet sur la recherche de récompenses naturelles, sur la motivation pour la drogue, sur la résistance à la punition et sur la perte de contrôle de l'animal pour celle-ci.

C. Rôle du métabolisme du cholestérol du striatum dorsal dans la rechute

1. Modulation de l'expression génique du métabolisme du cholestérol cérébral par la cocaïne

L'évaluation de l'expression des gènes du métabolisme du cholestérol nous a indiqué que l'injection unique de cocaïne a provoqué des changements d'expression dans 3 structures impliquées dans les phénomènes de rechute : le NAc, le CCA et le StD. Il semblerait donc que l'exposition à la cocaïne modifie le métabolisme du cholestérol cérébral.

Dans le cas du NAc et du CCA, ces perturbations de l'expression génique semblent être en faveur d'une accumulation de cholestérol dans ces structures. Des études antérieures ont aussi pu montrer que les gènes du métabolisme du cholestérol dans le cortex de consommateurs chroniques de cocaïne, cannabis et phencyclidine étaient perturbés dans le cortex de patients (Lehrmann et al., 2006) et qu'une exposition chronique à l'alcool suivie de 21 jours d'abstinence a altéré, dans le NAc, le CPF ainsi que d'en d'autres structures, l'expression des gènes du métabolisme du cholestérol chez le rat (Alsebaaly et al., 2018).
Quant au StD, la diminution de la synthèse, de la dégradation et du transport du cholestérol après une injection de cocaïne semble indiquer que l'exposition à la drogue réduit l'activité de la voie métabolique du cholestérol dans cette structure.
L'altération du métabolisme du cholestérol cérébral pourrait donc jouer un rôle dans l'addiction aux drogues et dans les effets persistants du trouble.

Pour confirmer que l'exposition à la cocaïne entraîne des conséquences sur le métabolisme du cholestérol dans ces structures, nous envisageons d'évaluer, après des sessions d'auto-administrations de cocaïne et d'une période d'abstinence, les variations des taux de cholestérol, de ses précurseurs ainsi que de ses métabolites dans ces structures.

2. Effets bénéfiques de la CYP46A1 spécifiquement dans le striatum dorsal

Les données présentées dans l'article 3 indiquent que la surexpression de la CYP46A1 dans le StD a diminué la recherche de cocaïne des animaux. Ces observations indiquent que modifier le métabolisme du cholestérol par la CYP46A1 dans le StD peut avoir des effets bénéfiques contre la recherche de drogues après une abstinence. L'ensemble de ces résultats nous permet donc de dire que le cholestérol cérébral dans le StD semble jouer un rôle dans les phénomènes d'addiction et plus particulièrement dans le phénomène de rechute. Cela suggère que le cholestérol, au sein du StD, pourrait participer aux neuroadaptations induites par les drogues décrites dans la littérature, et perdurant même en cas d'abstinence.

De plus, l'absence d'impact de la CYP46A1 dans le NAc et le CCA sur la rechute indique que le métabolisme du cholestérol dans ces structures ne semble pas jouer un rôle important dans l'addiction aux drogues, ou en tous cas dans la rechute après abstinence. Les résultats d'évaluation d'expression génique en qPCR montrent que l'exposition à la cocaïne modifie différemment le métabolisme du cholestérol entre le StD, le NAc et le CCA et que le métabolisme du cholestérol dans le NAc et le CCA ne semble pas aussi perturbé, ou de manière différente comparée au StD. Ceci pourrait expliquer que la surexpression de la CYP46A1 soit sans effet. Une autre étude a aussi montré que la surexpression de la CYP46A1, dans le striatum de souris mimant la maladie de Huntington, normalisait les taux de cholestérol chez ces animaux dont les taux de cholestérol étaient perturbés alors que la même surexpression chez des animaux *wildtype* n'impactait pas leurs niveaux de cholestérol qui étaient normaux (Boussicault et al., 2016). Il se peut donc que la surexpression de la CYP46A1 ait entraîné des conséquences différentes en fonction des structures ciblées.

L'ensemble de ces données suggère que le métabolisme du cholestérol dans le StD est perturbé par l'exposition et l'abstinence à la cocaïne et que son métabolisme, dans cette structure, représente une cible thérapeutique d'intérêt dans le traitement de l'addiction aux drogues.

3. Les mécanismes impliqués dans les effets bénéfiques de la surexpression CYP46A1 dans le striatum dorsal

Le StD est impliqué dans la recherche compulsive de drogue (Everitt et al., 2008; Everitt and Robbins, 2013). Pendant l'abstinence, le StD serait suractivé en raison d'une altération de la transmission glutamatergique notamment provoquée par des perturbations du ratio AMPA/NMDA (Yamamoto and Zahniser, 2012), ainsi que par des changements de la composition des récepteurs NMDA (Ben-Shahar et al., 2009). Ces perturbations de la neurotransmission glutamatergique sont en général associées à des altérations de la plasticité cérébrale. Par exemple, Kasanetz et Moussawi ont décrit des altérations de la LTD dans le striatum de rats après des sessions d'auto-administrations de cocaïne (Kasanetz et al., 2010; Moussawi et al., 2009). Il est donc possible que la surexpression de la CYP46A1 dans cette structure rétablisse une neurotransmission glutamatergique normale en modifiant les récepteurs glutamatergiques AMPA et NMDA dans le StD, diminuant ainsi les risques de rechutes. La surexpression de la CYP46A1 aurait donc des effets sur la neurotransmission glutamatergique dans le StD et des effets bénéfiques quand cette neurotransmission est perturbée.

Dans la littérature, il existe plusieurs études qui se sont intéressées aux modulations de la CYP46A1 sur la transmission synaptique. Par exemple, il a été observé chez des souris transgéniques CYP46A1 $^{-/-}$, n'exprimant pas l'enzyme, une activité et une fonction réduites des récepteurs NMDA (Sun et al., 2016). De plus, une activation pharmacologique de la CYP46A1 par de l'éfavirenz, un antirétroviral, sur des cultures de neurones hippocampiques de souris NPC-1 rétablit la LTP et la transmission synaptique (Mitroi et al., 2019). Inversement, une inhibition pharmacologique de tranches de l'hippocampe avec du voriconazole, un inhibiteur de la CYP46A1, bloque les processus de LTD (Popiolek et al., 2020). Ces changements de plasticité par la modulation du métabolisme du cholestérol sembleraient provenir d'une modification d'adressage des récepteurs glutamatergiques à la

membrane. Par exemple, l'ajout de statines, qui inhibent la HMGCoAR, sur des coupes de neurones d'hippocampe favorise la transmission synaptique médiée par les récepteurs NMDA avec une distribution de la sous-unité GluN2B à la membrane (Parent et al., 2015). Une seconde étude a montré que la réduction des taux de cholestérol par méthyle β-cyclodextrine sur des cultures de neurones a diminué la réponse des récepteurs NMDA et a réduit le déclenchement de LTP (Korinek et al., 2015). De plus, une réduction pharmacologique du cholestérol, par du méthyle-cyclodextrane et par des statines, perturbe l'expression des récepteurs AMPA à la membrane au niveau des radeaux lipidiques et augmente leurs internalisations (Hering et al., 2003; Hou et al., 2008). De ce fait, le rétablissement d'une neurotransmission normale par la surexpression de la CYP46A1 semble concerner, en partie, des modifications dans l'adressage et l'ancrage des récepteurs AMPA et NMDA à la membrane.

Par ailleurs, comme la CYP46A1 est impliquée dans la dégradation du cholestérol, il s'agit d'une enzyme qui participe au renouvellement du cholestérol et à la fluidité des membranes (Djelti et al., 2015). En post-synaptique, la majorité des récepteurs sont localisés dans des radeaux lipidiques. Les radeaux lipidiques participent à l'organisation des récepteurs exprimés à la membrane et leurs fluidités participent à la translocation des récepteurs (Sebastião et al., 2013; Suzuki et al., 2011). Cette fluidité membranaire est assez peu étudiée dans les phénomènes d'addiction, mais il a été montré une corrélation entre la rigidité membranaire des neurones et l'addiction à l'alcool chez le rat (Le Bourhis et al., 1986). En effet, l'évaluation de la rigidité membranaire, par technique de polarisation de fluorescence, a montré que les rats qui ont suivi une exposition chronique d'alcool de 4 semaines avaient une rigidité membranaire des neurones augmentée (Le Bourhis et al., 1986). La stimulation par la CYP46A1 pourrait ainsi provoquer une dynamisation de la fluidité des membranes des neurones ce qui pourrait favoriser les phénomènes de translocation des récepteurs de ces radeaux. Dans la littérature, il a été montré que l'activation de la CYP46A1 par l'éfavirenz augmente le flux de cholestérol et les propriétés des membranes plasmiques et/ou des radeaux lipidiques membranaires en les rendant plus fluides (Petrov et al., 2020; Petrov and Pikuleva, 2019). Par conséquent, une augmentation de la fluidité des membranes, notamment au niveau des radeaux lipidiques, pourrait faciliter les phénomènes de translocation des récepteurs et rétablir une neurotransmission normale par la CYP46A1.

D. Perspectives d'études du métabolisme du cholestérol cérébral dans l'addiction

Pour étudier le rôle du cholestérol cérébral dans l'addiction, d'autres manipulations pourraient aussi être envisagées en plus de celles déjà énumérées.

1. Étude des effets de la surexpression de la CYP46A1 sur la plasticité cérébrale induite par la cocaïne.

Comme déjà envisagée, la surexpression de la CYP46A1 dans le StD pouvait impacter les phénomènes de plasticités fonctionnelles induites par l'exposition de cocaïne, notamment par des modifications d'adressage de récepteurs dans cette structure. Pour aller plus loin dans cette idée, et dans le projet, il est nécessaire de connaître l'impact de la surexpression de la CYP46A1 dans le StD sur les phénomènes de plasticité afin de savoir si la CYP46A1 peut réduire les neuroadaptations durables induites par la cocaïne.

Pour ce faire, nous allons étudier l'impact de la CYP46A1 sur l'expression des récepteurs AMPA et NMDA à la membrane des neurones par des techniques de biologie moléculaire, après des sessions d'auto-administrations de cocaïne et après une période d'abstinence. De plus, nous allons évaluer le ratio AMPA/NMDA par des techniques d'électrophysiologiques afin de connaître l'impact de la CYP46A1 sur la fonctionnalité de la structure. Les résultats que nous obtiendrons pourront permettre d'appuyer l'hypothèse d'un rétablissement d'une neurotransmission normale au sein de la structure par la surexpression de la CYP46A1.

Nous allons aussi évaluer l'impact de la CYP46A1 sur des neuroadaptations moléculaires et morphologiques qui ont aussi été décrites dans le StD après une exposition à la cocaïne.

En ce qui concerne les neuroadaptations moléculaires, nous allons nous intéresser à l'accumulation de la protéine ΔFosB. Comme il a été expliqué dans l'introduction, ΔFosB est une protéine qui s'accumule dans les neurones à la suite d'injections répétées de drogue et qui persiste plusieurs mois après la dernière injection (Nestler et al., 2001). Son accumulation est connue pour jouer un rôle clé dans les neuroadaptations persistantes induites par les drogues et est susceptible de participer à la mise en place d'une addiction (Nestler, 2001). Comme une accumulation de ΔFosB a été observée dans le StD de rongeurs

après des injections de cocaïne (Perrotti et al., 2008), nous chercherons à savoir si la surexpression de la CYP46A1 réduit l'accumulation de ΔFosB dans les neurones du StD après des sessions d'auto-administrations de cocaïne.

En ce qui concerne les neuroadaptations structurales, nous allons nous intéresser à la morphologie des neurones, et plus particulièrement à la structure des épines dendritiques. Comme il a été décrit dans l'introduction, il a été observé une augmentation du nombre d'épines dendritiques dans le StD des rats à la suite d'une exposition chronique de cocaïne et ces changements altèrent l'activité de la structure (Ren et al., 2010). Nous chercherons donc à savoir si la surexpression de la CYP46A1 dans le StD, après des sessions d'auto-administrations de cocaïne et une période d'abstinence, peut rétablir une morphologie normale des neurones. Ces recherches nous permettront de connaître l'impact de la surexpression de la CYP46A1 sur le rétablissement des neuroadaptations moléculaires, structurales et fonctionnelles durables induites par la cocaïne dans le StD.

2. Étude du potentiel rôle différentiel du métabolisme du cholestérol dans les neurones D1 et D2 du striatum dorsal.

Pour rappel, dans le NAc et le StD, la DA se fixe sur des récepteurs DAergiques de type D1 et D2 (Beaulieu and Gainetdinov, 2011). Ces 2 types de récepteurs jouent des rôles différents dans les processus de la réinstallation de recherche de cocaïne. Par exemple, l'injection systémique d'un agoniste des récepteurs DAergiques D1 ne provoque pas de changement dans la réinstallation de recherche de drogue (De Vries et al., 2002; Dias et al., 2004; Spealman et al., 1999), mais une injection d'un antagoniste diminue la réinstallation induite par la drogue (Alleweireldt et al., 2003; Spealman et al., 1999). En ce qui concerne les récepteurs DAergiques D2, des injections d'un agoniste provoquent une augmentation de la recherche de drogues (Dias et al., 2004; Weissenborn et al., 1996) tandis que des injections d'un antagoniste diminuent la recherche induite par la cocaïne (Schenk and Gittings, 2003; Spealman et al., 1999; Weissenborn et al., 1996).

Lorsque l'on s'intéresse uniquement au StD, la littérature se focalise particulièrement sur la partie latérale du StD qui joue un rôle majeur dans la consommation compulsive de drogues et dans la recherche après une abstinence (Everitt et al., 2008; Zapata et al., 2010). En effet, une inactivation dans le StDl, par des agonistes GABA, diminue la recherche de drogue

induite par la drogue ou par les indices contextuels (Fuchs et al., 2006). De plus, lors d'injections d'agonistes D1 ou D2 dans le StDl, il a été montré que l'utilisation de quinélorane (agoniste D2) induit la réinstallation de recherche de cocaïne tandis qu'un agoniste des récepteurs D1 n'a pas d'effet (Costa-Campos et al., 2020). Ces observations soulignent la forte implication des récepteurs D2 dans le StDl dans la recherche de drogue après abstinence. L'hypothèse de la forte implication des D2 dans le StDl est renforcée par une étude de Yin qui a montré que les récepteurs DAergiques D2 sont fortement exprimés dans le StDl par rapport au StDm (Yin et al., 2009).

Au vu de la littérature, et pour la suite de notre travail, nous envisageons de dissocier les MSNs de la voie directe (exprimant les D1) des MSNs de la voie indirecte (exprimant les D2). Ainsi, nous pourrions cibler spécifiquement le métabolisme du cholestérol de l'une de ces 2 populations neuronales en utilisant un vecteur viral ciblant spécifiquement les neurones de type D1 ou D2. Pour ce faire, nous pourrions utiliser un virus possédant un promoteur spécifique des neurones D1 ou D2. Cela nous permettrait de savoir si le métabolisme du cholestérol cérébral peut avoir des effets différentiels en fonction du type de neurones ciblés.

3. Étude d'approches pharmacologiques plus translationnelles pour modifier le métabolisme du cholestérol cérébral

Enfin, en dernière perspective, nous pouvons commencer à réfléchir à la translation de notre étude chez l'Homme. En effet, même si le fait d'étudier des structures spécifiques par injection virale afin de connaître le rôle du cholestérol dans ces structures est intéressant, d'un point de vue translationnel, il est très difficile d'imaginer des modulations spécifiques de ses structures chez l'Homme par des injections virales. L'application thérapeutique de notre manipulation est donc très limitée. Une perspective intéressante serait d'utiliser des traitements pharmacologiques pour moduler le métabolisme du cholestérol cérébral sans avoir recours à ce type de chirurgie invasive et non autorisée chez l'Homme.

Une telle stratégie a été réalisée dans notre laboratoire par l'utilisation de statines. Pour résumer brièvement, les statines représentent une classe de médicament peu toxique utilisée chez l'Homme contre l'hypercholestérolémie (Law and Rudnicka, 2006). L'utilisation de statines a pour objectif principal de réduire la synthèse de cholestérol par l'organisme en inhibant la HMGCoAR (Mahley and Bersot, 2005).

Dans l'étude réalisée dans notre équipe, nous avons montré qu'un traitement aux statines pouvant accéder au cerveau diminue le risque de rechute à la cocaïne et à la nicotine chez le rongeur (Chauvet et al., 2016). La conclusion de cet article était que les statines pouvaient représenter un nouvel outil pharmacologique dans le traitement de l'addiction et a fait le sujet d'un essai clinique chez des fumeurs (Ingrand et al., 2018). Malheureusement, l'essai clinique réalisé sur 118 participants fumeurs n'a pas montré d'amélioration significative sur l'abstinence par l'utilisation des statines (Ingrand et al., 2018). L'une des raisons avancées par les auteurs sur cette absence d'effets est que les statines utilisées ont une perméabilité cérébrale réduite chez l'Homme par rapport au rongeur (Saheki et al., 1994; Sierra et al., 2011). De ce fait, le métabolisme du cholestérol peut toujours représenter une cible thérapeutique intéressante pour le traitement de l'addiction chez l'Homme, mais il est nécessaire d'identifier d'autres médicaments.

a. Cibler l'enzyme de dégradation du cholestérol cérébral : la CYP46A1

Mes résultats de thèse ont montré un potentiel effet positif de la surexpression de la CYP46A1 sur l'addiction. De ce fait, l'activation de la CYP46A1 pourrait représenter une stratégie intéressante.

Diverses revues et études passent au crible les potentiels médicaments pouvant stimuler la CYP46A1 (Mast et al., 2017; Pikuleva, 2021; Pikuleva and Cartier, 2021). Parmi ces molécules, l'éfavirenz, un antirétroviral, a été testé lors de plusieurs études *in vitro* et *in vivo* et est connu pour activer la CYP46A1 (Mast et al., 2014). Dans des études précliniques, il a été montré qu'un traitement d'éfavirenz a diminué l'apparition de la plaque Aβ dans un modèle de souris de la maladie d'Alzheimer (Mast et al., 2017). Ce même traitement a permis de réduire l'accumulation aberrante de la protéine tau phosphorylée dans les neurones et astrocytes dérivés de cellules souches pluripotentes de patient atteint de la maladie d'Alzheimer (van der Kant et al., 2020, 2019). L'éfavirenz a aussi montré des effets bénéfiques sur des modèles murins de la dépression (Patel et al., 2017), de glioblastome (Han et al., 2020), de la maladie de Nieman-Pick de type C (Mitroi et al., 2019) et dans un modèle d'infection aux prions (Ali et al., 2021). De ce fait, l'utilisation de l'éfavirenz semble être une stratégie intéressante dans plusieurs pathologies. De plus, une étude clinique de

phase 1 a débuté en 2021 pour connaître les effets de l'éfavirenz (par utilisation de Sustiva) chez des patients atteints de déficiences cognitives légères dues à la maladie d'Alzheimer (essai NCT03706885 ; « EPAD »). Pour le moment, cette étude ne comporte que 5 patients et n'a pas encore fourni de résultats, mais dans le futur, ces données pourraient fournir un indice précieux quant à l'utilisation de ce type de traitement des pathologies chez l'Homme et pourrait représenter une approche intéressante contre l'addiction.

b. Cibler le régulateur de la synthèse du cholestérol cérébral : le LXR

Afin de modifier le métabolisme du cholestérol, nous pourrions aussi envisager d'autres cibles que la CYP46A1 ou l'HMGCoA réductase. Parmi ces cibles, la modulation par les LXRs pourrait être intéressante.

Comme décrit durant l'introduction, LXR est un régulateur clé du métabolisme du cholestérol cérébral en inhibant sa synthèse (Peet et al., 1998; Wang et al., 2008) et en augmentant l'efflux du cholestérol (Chen et al., 2013; Repa and Mangelsdorf, 2000; Venkateswaran et al., 2000; Zelcer et al., 2009). De plus, il a été montré que des modulations de LXR pouvait avoir des effets bénéfiques sur des neuropathologies. Par exemple, l'utilisation d'agonistes de LXR dans un modèle de souris de la maladie d'Alzheimer a des effets bénéfiques sur l'accumulation de la plaque Aβ et sur les troubles cognitifs associés (Cui et al., 2012; Donkin et al., 2010; Vanmierlo et al., 2011). Des effets bénéfiques de la stimulation de LXR ont aussi été observés dans d'autres maladies neurodégénératives comme la maladie de Parkinson (Courtney and Landreth, 2016).

D'autres études s'intéressant à l'influence de LXRb dans des pathologies psychiatriques commencent à apparaître dans la littérature. Par exemple, une étude génomique a fait l'association entre la diminution lipidique dans le CPFdl de patient schizophrène, provoqué par LXR, et la réduction de leurs performances cognitives (Maas et al., 2020). Une autre étude a aussi indiqué que l'activation de LXR par des agonistes a des effets antidépresseurs dans un modèle murin de la maladie et pourrait représenter une nouvelle cible thérapeutique intéressante contre les syndromes dépressifs (Peng et al., 2018). De ce fait, activer les LXR pourrait potentiellement avoir un effet bénéfique sur l'addiction et plus particulièrement pendant l'abstinence.

Conclusion

L'addiction aux drogues est considérée comme un trouble psychiatrique chronique caractérisé par une recherche et une prise compulsive de drogue et par un fort taux de rechute.

Dans le premier axe, nous avons développé une nouvelle procédure comportementale, visant à étudier le comportement compulsif vis-à-vis de la nourriture, qui prend en considération le niveau de résistance individuel des animaux à la punition. Avec cette procédure, nous avons par la suite réalisé une étude comportementale s'intéressant à l'influence d'un régime riche en graisse et en sucre sur le développement d'une addiction à la nourriture. En effet, l'une des questions encore non résolues à ce jour est de savoir si les effets sur la motivation et la compulsivité des animaux à la suite d'une exposition à un régime palatable persistent ou disparaissent après un certain temps. Les résultats obtenus montrent que l'exposition chronique à une nourriture riche en sucre et en graisse n'a pas d'effet persistant sur la motivation et la résistance à la punition des animaux indépendamment du sexe et de l'âge d'exposition.

Dans le second axe, nous avons étudié si le métabolisme du cholestérol cérébral pouvait représenter une nouvelle cible thérapeutique pour prévenir la rechute et traiter l'addiction. Dans ce but, nous avons modulé le métabolisme cérébral du cholestérol grâce à un vecteur viral au sein de structures impliquées dans l'addiction et étudié les effets bénéfiques potentiels sur les comportements d'addiction. Ainsi, après des sessions d'auto-administrations de cocaïne, nous avons surexprimé la CYP46A1, l'enzyme principale responsable de la dégradation cholestérol cérébral, et étudié les effets de cette modulation sur la rechute. Les résultats ont montré que la surexpression de CYP46A1 dans le StD, pendant la période d'abstinence, a réduit la recherche de drogue chez des rats. La surexpression de CYP46A1 dans le CCA et le NAc n'a pas eu d'effet. Des expériences supplémentaires ont montré que la surexpression de CYP46A1 dans le StD ne modifie ni le comportement de recherche d'une récompense naturelle, ni d'autres comportements liés à l'addiction pendant la phase de consommation de la drogue, à savoir la résistance à la punition et la motivation. Ces observations indiquent que le métabolisme du cholestérol jouerait un rôle dans l'addiction et que la manipulation de cette voie métabolique pendant une période d'abstinence, spécifiquement dans le StD, pourrait avoir des effets bénéfiques pour prévenir la rechute. Ces résultats montrent que le métabolisme du cholestérol,

spécifiquement dans le StD, représente une potentielle nouvelle cible thérapeutique pour prévenir la rechute et traiter l'addiction.

Références bibliographiques

Ačimovič, J., Rozman, D., 2013. Steroidal Triterpenes of Cholesterol Synthesis. Molecules 18, 4002–4017. https://doi.org/10.3390/molecules18044002

Ahmed, S.H., Cador, M., 2006. Dissociation of psychomotor sensitization from compulsive cocaine consumption. Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol. 31, 563–571. https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300834

Ahmed, S.H., Kenny, P.J., Koob, G.F., Markou, A., 2002. Neurobiological evidence for hedonic allostasis associated with escalating cocaine use. Nat. Neurosci. 5, 625–626. https://doi.org/10.1038/nn872

Ahmed, S.H., Koob, G.F., 1998. Transition from Moderate to Excessive Drug Intake: Change in Hedonic Set Point. Sci. New Ser. 282, 298–300.

Ali, T., Hannaoui, S., Nemani, S., Tahir, W., Zemlyankina, I., Cherry, P., Shim, S.Y., Sim, V., Schaetzl, H.M., Gilch, S., 2021. Oral administration of repurposed drug targeting Cyp46A1 increases survival times of prion infected mice. Acta Neuropathol. Commun. 9, 58. https://doi.org/10.1186/s40478-021-01162-1

Alleweireldt, A.T., Kirschner, K.F., Blake, C.B., Neisewander, J.L., 2003. D1-receptor drugs and cocaine-seeking behavior: investigation of receptor mediation and behavioral disruption in rats. Psychopharmacology (Berl.) 168, 109–117. https://doi.org/10.1007/s00213-002-1305-x

Alsebaaly, J., Dugast, E., Favot, L., Rabbaa Khabbaz, L., Solinas, M., Thiriet, N., 2018. Persistent Neuroadaptations in the Expression of Genes Involved in Cholesterol Homeostasis Induced by Chronic, Voluntary Alcohol Intake in Rats. Front. Mol. Neurosci. 11, 457. https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00457

Alves, R.L., Oliveira, P., Lopes, I.M., Portugal, C.C., Alves, C.J., Barbosa, F., Summavielle, T., Magalhães, A., 2020. Early-life stress affects drug abuse susceptibility in adolescent rat model independently of depression vulnerability. Sci. Rep. 10, 13326. https://doi.org/10.1038/s41598-020-70242-4

Amaya, K.A., Smith, K.S., 2018. Neurobiology of habit formation. Curr. Opin. Behav. Sci. 20, 145–152. https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2018.01.003

Anderson, S.M., Pierce, R.C., 2005. Cocaine-induced alterations in dopamine receptor signaling: Implications for reinforcement and reinstatement. Pharmacol. Ther. 106, 389–403. https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2004.12.004

Andersson, M., Elmberger, P.G., Edlund, C., Kristensson, K., Dallner, G., 1990. Rates of cholesterol, ubiquinone, dolichol and dolichyl-P biosynthesis in rat brain slices. FEBS Lett. 269, 15–18. https://doi.org/10.1016/0014-5793(90)81107-y

Ao, S., Vriens, J., Ghosh, D., Stegner, D., Brachet, A., Pallottini, V., Sassoè-Pognetto, M., Brouwers, J.F., Helms, J.B., Nieswandt, B., Voets, T., Dotti, C.G., 2012. Cholesterol loss during glutamate-mediated excitotoxicity. EMBO J. 31. https://doi.org/10.1038/emboj.2012.31

Arcego, D.M., Krolow, R., Lampert, C., Toniazzo, A.P., Garcia, E. dos S., Lazzaretti, C., Costa, G., Scorza, C., Dalmaz, C., 2020. Chronic high-fat diet affects food-motivated behavior and hedonic systems in the nucleus accumbens of male rats. Appetite 153, 104739. https://doi.org/10.1016/j.appet.2020.104739

Ary, A.W., Szumlinski, K.K., 2007. Regional differences in the effects of withdrawal from repeated cocaine upon Homer and glutamate receptor expression: a two-species comparison. Brain Res. 1184, 295–305. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2007.09.035

Avena, N.M., Bocarsly, M.E., Rada, P., Kim, A., Hoebel, B.G., 2008. After daily bingeing on a sucrose solution, food deprivation induces anxiety and accumbens dopamine/acetylcholine imbalance. Physiol. Behav. 94, 309–315. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2008.01.008

Avena, N.M., Rada, P., Hoebel, B.G., 2009. Sugar and fat bingeing have notable differences in addictive-like behavior. J. Nutr. 139, 623–628. https://doi.org/10.3945/jn.108.097584

Aylward, E.H., 2007. Change in MRI striatal volumes as a biomarker in preclinical Huntington's disease. Brain Res. Bull. 72, 152–158. https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2006.10.028

Bali, A., Jaggi, A.S., 2015. Electric foot shock stress: a useful tool in neuropsychiatric studies. Rev. Neurosci. 26, 655–677. https://doi.org/10.1515/revneuro-2015-0015

Balleine, B.W., Dickinson, A., 1998. Goal-directed instrumental action: contingency and incentive learning and their cortical substrates. Neuropharmacology 37, 407–419. https://doi.org/10.1016/s0028-3908(98)00033-1

Balleine, B.W., O'Doherty, J.P., 2010. Human and rodent homologies in action control: corticostriatal determinants of goal-directed and habitual action. Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol. 35, 48–69. https://doi.org/10.1038/npp.2009.131

Bardo, M.T., Bevins, R.A., 2000. Conditioned place preference: what does it add to our preclinical understanding of drug reward? Psychopharmacology (Berl.) 153, 31–43. https://doi.org/10.1007/s002130000569

Bardo, M.T., Rowlett, J.K., Harris, M.J., 1995. Conditioned place preference using opiate and stimulant drugs: A meta-analysis. Neurosci. Biobehav. Rev. 19, 39–51. https://doi.org/10.1016/0149-7634(94)00021-R

Bar-On, P., Crews, L., Koob, A.O., Mizuno, H., Adame, A., Spencer, B., Masliah, E., 2008. Statins reduce neuronal alpha-synuclein aggregation in in vitro models of Parkinson's disease. J. Neurochem. 105, 1656–1667. https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2008.05254.x

Bar-On, P., Rockenstein, E., Adame, A., Ho, G., Hashimoto, M., Masliah, E., 2006. Effects of the cholesterol-lowering compound methyl-beta-cyclodextrin in models of alpha-synucleinopathy. J. Neurochem. 98, 1032–1045. https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.04017.x

Barrot, M., Olivier, J.D.A., Perrotti, L.I., DiLeone, R.J., Berton, O., Eisch, A.J., Impey, S., Storm, D.R., Neve, R.L., Yin, J.C., Zachariou, V., Nestler, E.J., 2002. CREB activity in the nucleus accumbens shell controls gating of behavioral responses to emotional stimuli. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 99, 11435–11440. https://doi.org/10.1073/pnas.172091899

Bartoletti, M., Gaiardi, M., Gubellini, G., Bacchi, A., Babbini, M., 1983. Long-term sensitization to the excitatory effects of morphine: A motility study in post-dependent rats. Neuropharmacology 22, 1193–1196. https://doi.org/10.1016/0028-3908(83)90080-1

Bassareo, V., Cucca, F., Frau, R., Di Chiara, G., 2017. Changes in Dopamine Transmission in the Nucleus Accumbens Shell and Core during Ethanol and Sucrose Self-Administration. Front. Behav. Neurosci. 11.

Bassareo, V., Cucca, F., Musio, P., Lecca, D., Frau, R., Di Chiara, G., 2015. Nucleus accumbens shell and core dopamine responsiveness to sucrose in rats: role of response contingency and discriminative/conditioned cues. Eur. J. Neurosci. 41, 802–809. https://doi.org/10.1111/ejn.12839

Bassareo, V., De Luca, M.A., Di Chiara, G., 2002. Differential Expression of Motivational Stimulus Properties by Dopamine in Nucleus Accumbens Shell versus Core and Prefrontal Cortex. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 22, 4709–4719. https://doi.org/20026445

Beaulieu, J.-M., Gainetdinov, R.R., 2011. The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. Pharmacol. Rev. 63, 182–217. https://doi.org/10.1124/pr.110.002642

Belin, D., Berson, N., Balado, E., Piazza, P.V., Deroche-Gamonet, V., 2011. High-novelty-preference rats are predisposed to compulsive cocaine self-administration. Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol. 36, 569–579. https://doi.org/10.1038/npp.2010.188

Bełtowski, J., Semczuk, A., 2010. Liver X receptor (LXR) and the reproductive system--a potential novel target for therapeutic intervention. Pharmacol. Rep. PR 62, 15–27. https://doi.org/10.1016/s1734-1140(10)70239-5

Ben-Shahar, O., Obara, I., Ary, A.W., Ma, N., Mangiardi, M.A., Medina, R.L., Szumlinski, K.K., 2009. Extended daily access to cocaine results in distinct alterations in Homer 1b/c and NMDA receptor subunit expression within the medial prefrontal cortex. Synap. N. Y. N 63, 598–609. https://doi.org/10.1002/syn.20640

Bentzley, B.S., Jhou, T.C., Aston-Jones, G., 2014. Economic demand predicts addiction-like behavior and therapeutic efficacy of oxytocin in the rat. Proc. Natl. Acad. Sci. 111, 11822–11827. https://doi.org/10.1073/pnas.1406324111

Bergstrom, H.C., Lipkin, A.M., Lieberman, A.G., Pinard, C.R., Gunduz-Cinar, O., Brockway, E.T., Taylor, W.W., Nonaka, M., Bukalo, O., Wills, T.A., Rubio, F.J., Li, X., Pickens, C.L., Winder, D.G., Holmes, A., 2018. Dorsolateral Striatum Engagement Interferes with Early Discrimination Learning. Cell Rep. 23, 2264–2272. https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.04.081

Berlucchi, G., Buchtel, H.A., 2009. Neuronal plasticity: historical roots and evolution of meaning. Exp. Brain Res. 192, 307–319. https://doi.org/10.1007/s00221-008-1611-6

Berridge, K.C., Robinson, T.E., 2016. Liking, Wanting and the Incentive-Sensitization Theory of Addiction. Am. Psychol. 71, 670–679. https://doi.org/10.1037/amp0000059

Bibb, J.A., Chen, J., Taylor, J.R., Svenningsson, P., Nishi, A., Snyder, G.L., Yan, Z., Sagawa, Z.K., Ouimet, C.C., Nairn, A.C., Nestler, E.J., Greengard, P., 2001. Effects of chronic exposure to cocaine are regulated by the neuronal protein Cdk5. Nature 410, 376–380. https://doi.org/10.1038/35066591

Blaisdell, A.P., Lau, Y.L.M., Telminova, E., Lim, H.C., Fan, B., Fast, C.D., Garlick, D., Pendergrass, D.C., 2014. Food quality and motivation: A refined low-fat diet induces obesity and impairs performance on a progressive ratio schedule of instrumental lever pressing in rats. Physiol. Behav. 128, 220–225. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.02.025

Bloch, K., 1965. The biological synthesis of cholesterol. Science 150, 19–28. https://doi.org/10.1126/science.150.3692.19

Bogdanovic, N., Bretillon, L., Lund, E.G., Diczfalusy, U., Lannfelt, L., Winblad, B., Russell, D.W., Björkhem, I., 2001. On the turnover of brain cholesterol in patients with Alzheimer's disease. Abnormal induction of

the cholesterol-catabolic enzyme CYP46 in glial cells. Neurosci. Lett. 314, 45–48. https://doi.org/10.1016/s0304-3940(01)02277-7

Boitard, C., Parkes, S.L., Cavaroc, A., Tantot, F., Castanon, N., Layé, S., Tronel, S., Pacheco-Lopez, G., Coutureau, E., Ferreira, G., 2016. Switching Adolescent High-Fat Diet to Adult Control Diet Restores Neurocognitive Alterations. Front. Behav. Neurosci. 10, 225. https://doi.org/10.3389/fnbeh.2016.00225

Bosch, M., Castro, J., Saneyoshi, T., Matsuno, H., Sur, M., Hayashi, Y., 2014. Structural and molecular remodeling of dendritic spine substructures during long-term potentiation. Neuron 82, 444–459. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.03.021

Bosch, M., Hayashi, Y., 2012. Structural plasticity of dendritic spines. Curr. Opin. Neurobiol. 22, 383–388. https://doi.org/10.1016/j.conb.2011.09.002

Bossert, J.M., Marchant, N.J., Calu, D.J., Shaham, Y., 2013. The reinstatement model of drug relapse: recent neurobiological findings, emerging research topics, and translational research. Psychopharmacology (Berl.) 229, 453–476. https://doi.org/10.1007/s00213-013-3120-y

Boudreau, A.C., Wolf, M.E., 2005. Behavioral sensitization to cocaine is associated with increased AMPA receptor surface expression in the nucleus accumbens. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 25, 9144–9151. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2252-05.2005

Boulay, D., Duterte-Boucher, D., Leroux-Nicollet, I., Naudon, L., Costentin, J., 1996. Locomotor sensitization and decrease in [3H]mazindol binding to the dopamine transporter in the nucleus accumbens are delayed after chronic treatments by GBR12783 or cocaine. J. Pharmacol. Exp. Ther. 278, 330–337.

Boussicault, L., Alves, S., Lamazière, A., Planques, A., Heck, N., Moumné, L., Despres, G., Bolte, S., Hu, A., Pagès, C., Galvan, L., Piguet, F., Aubourg, P., Cartier, N., Caboche, J., Betuing, S., 2016. CYP46A1, the rate-limiting enzyme for cholesterol degradation, is neuroprotective in Huntington's disease. Brain 139, 953–970. https://doi.org/10.1093/brain/awv384

Brachet, A., Norwood, S., Brouwers, J.F., Palomer, E., Helms, J.B., Dotti, C.G., Esteban, J.A., 2015. LTP-triggered cholesterol redistribution activates Cdc42 and drives AMPA receptor synaptic delivery. J. Cell Biol. 208, 791–806. https://doi.org/10.1083/jcb.201407122

Bradfield, L.A., Balleine, B.W., 2013. Hierarchical and binary associations compete for behavioral control during instrumental biconditional discrimination. J. Exp. Psychol. Anim. Behav. Process. 39, 2–13. https://doi.org/10.1037/a0030941

Bremner, J.D., Krystal, J.H., Southwick, S.M., Charney, D.S., 1996a. Noradrenergic mechanisms in stress and anxiety: I. preclinical studies. Synapse 23, 28–38. https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2396(199605)23:1<28::AID-SYN4>3.0.CO;2-J

Bremner, J.D., Krystal, J.H., Southwick, S.M., Charney, D.S., 1996b. Noradrenergic mechanisms in stress and anxiety: II. Clinical studies. Synap. N. Y. N 23, 39–51. https://doi.org/10.1002/(SICI)1098-2396(199605)23:1<39::AID-SYN5>3.0.CO;2-I

Briand, L.A., Blendy, J.A., 2010. Molecular and Genetic Substrates Linking Stress and Addiction. Brain Res. 1314C, 219. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.11.002

Broderick, P.A., Rahni, D.N., Zhou, Y., 2003. Acute and subacute effects of risperidone and cocaine on accumbens dopamine and serotonin release using in vivo microvoltammetry on line with open-field behavior. Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry 27, 1037–1054. https://doi.org/10.1016/S0278-5846(03)00176-3

Brody, A.L., Mandelkern, M.A., Olmstead, R., Jou, J., Tiongson, E., Allen, A., Scheibal, D., London, E., Monterosso, J., Tiffany, S., Korb, A., Gan, J., Cohen, M., 2007. Neural substrates of resisting craving during cigarette cue exposure. Biol. Psychiatry 62. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.10.026

Brooks, S.J., Cedernaes, J., Schiöth, H.B., 2013. Increased Prefrontal and Parahippocampal Activation with Reduced Dorsolateral Prefrontal and Insular Cortex Activation to Food Images in Obesity: A Meta-Analysis of fMRI Studies. PLOS ONE 8, e60393. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0060393

Brown, M.S., Goldstein, J.L., 1997. The SREBP pathway: regulation of cholesterol metabolism by proteolysis of a membrane-bound transcription factor. Cell 89, 331–340. https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)80213-5

Brown, M.S., Goldstein, J.L., 1980. Multivalent feedback regulation of HMG CoA reductase, a control mechanism coordinating isoprenoid synthesis and cell growth. J. Lipid Res. 21, 505–517.

Brown, P., Molliver, M.E., 2000. Dual Serotonin (5-HT) Projections to the Nucleus Accumbens Core and Shell: Relation of the 5-HT Transporter to Amphetamine-Induced Neurotoxicity. J. Neurosci. 20, 1952–1963. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.20-05-01952.2000

Brown, Z.J., Kupferschmidt, D.A., Erb, S., 2012. Reinstatement of cocaine seeking in rats by the pharmacological stressors, corticotropin-releasing factor and yohimbine: role for D1/5 dopamine receptors. Psychopharmacology (Berl.) 224, 431–440. https://doi.org/10.1007/s00213-012-2772-3

Burg, J.S., Espenshade, P.J., 2011. Regulation of HMG-CoA reductase in mammals and yeast. Prog. Lipid Res. 50, 403–410. https://doi.org/10.1016/j.plipres.2011.07.002

Burke, D.A., Rotstein, H.G., Alvarez, V.A., 2017. Striatal local circuitry: a new framework for lateral inhibition. Neuron 96, 267–284. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.09.019

Burlot, M.-A., Braudeau, J., Michaelsen-Preusse, K., Potier, B., Ayciriex, S., Varin, J., Gautier, B., Djelti, F., Audrain, M., Dauphinot, L., Fernandez-Gomez, F.-J., Caillierez, R., Laprévote, O., Bièche, I., Auzeil, N., Potier, M.-C., Dutar, P., Korte, M., Buée, L., Blum, D., Cartier, N., 2015. Cholesterol 24-hydroxylase defect is implicated in memory impairments associated with Alzheimer-like Tau pathology. Hum. Mol. Genet. 24, 5965–5976. https://doi.org/10.1093/hmg/ddv268

Cai, X., Padoa-Schioppa, C., 2012. Neuronal Encoding of Subjective Value in Dorsal and Ventral Anterior Cingulate Cortex. J. Neurosci. 32, 3791–3808. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3864-11.2012

Calabresi, P., Picconi, B., Tozzi, A., Ghiglieri, V., Di Filippo, M., 2014. Direct and indirect pathways of basal ganglia: a critical reappraisal. Nat. Neurosci. 17, 1022–1030. https://doi.org/10.1038/nn.3743

Camille, N., Griffiths, C.A., Vo, K., Fellows, L.K., Kable, J.W., 2011. Ventromedial Frontal Lobe Damage Disrupts Value Maximization in Humans. J. Neurosci. 31, 7527–7532. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.6527-10.2011

Capriles, N., Rodaros, D., Sorge, R.E., Stewart, J., 2003. A role for the prefrontal cortex in stress- and cocaine-induced reinstatement of cocaine seeking in rats. Psychopharmacology (Berl.) 168, 66–74. https://doi.org/10.1007/s00213-002-1283-z

Carlezon, W.A., Duman, R.S., Nestler, E.J., 2005. The many faces of CREB. Trends Neurosci. 28, 436–445. https://doi.org/10.1016/j.tins.2005.06.005

Carlin, J.L., McKee, S.E., Hill-Smith, T., Grissom, N.M., George, R., Lucki, I., Reyes, T.M., 2016. Removal of high-fat diet after chronic exposure drives binge behavior and dopaminergic dysregulation in female mice. Neuroscience 326, 170–179. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2016.04.002

Carroll, C.B., Wyse, R.K.H., 2017. Simvastatin as a Potential Disease-Modifying Therapy for Patients with Parkinson's Disease: Rationale for Clinical Trial, and Current Progress. J. Park. Dis. 7, 545–568. https://doi.org/10.3233/JPD-171203

Castner, S.A., Goldman-Rakic, P.S., 1999. Long-Lasting Psychotomimetic Consequences of Repeated Low-Dose Amphetamine Exposure in Rhesus Monkeys. Neuropsychopharmacology 20, 10–28. https://doi.org/10.1016/S0893-133X(98)00050-5

Cataldi, S., Stanley, A.T., Miniaci, M.C., Sulzer, D., 2022. Interpreting the role of the striatum during multiple phases of motor learning. FEBS J. 289, 2263–2281. https://doi.org/10.1111/febs.15908

Cerruti, C., Pilotte, N.S., Uhl, G., Kuhar, M.J., 1994. Reduction in dopamine transporter mRNA after cessation of repeated cocaine administration. Mol. Brain Res. 22, 132–138. https://doi.org/10.1016/0169-328X(94)90040-X

Chang, T.-Y., Chang, C.C.Y., Ohgami, N., Yamauchi, Y., 2006. Cholesterol sensing, trafficking, and esterification. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 22, 129–157. https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.22.010305.104656

Chauvet, C., Nicolas, C., Lafay-Chebassier, C., Jaber, M., Thiriet, N., Solinas, M., 2016. Statins Reduce the Risks of Relapse to Addiction in Rats. Neuropsychopharmacology 41, 1588–1597. https://doi.org/10.1038/npp.2015.317

Chen, J., Kelz, M.B., Hope, B.T., Nakabeppu, Y., Nestler, E.J., 1997. Chronic Fos-related antigens: stable variants of deltaFosB induced in brain by chronic treatments. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 17, 4933–4941.

Chen, J., Zhang, X., Kusumo, H., Costa, L.G., Guizzetti, M., 2013. Cholesterol efflux is differentially regulated in neurons and astrocytes: implications for brain cholesterol homeostasis. Biochim. Biophys. Acta 1831, 263–275. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2012.09.007

Cheruku, S.R., Xu, Z., Dutia, R., Lobel, P., Storch, J., 2006. Mechanism of Cholesterol Transfer from the Niemann-Pick Type C2 Protein to Model Membranes Supports a Role in Lysosomal Cholesterol Transport. J. Biol. Chem. 281, 31594–31604. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)84073-5

Chevrette, J., Stellar, J.R., Hesse, G.W., Markou, A., 2002. Both the shell of the nucleus accumbens and the central nucleus of the amygdala support amphetamine self-administration in rats. Pharmacol. Biochem. Behav. 71, 501–507. https://doi.org/10.1016/S0091-3057(01)00686-4

Citri, A., Malenka, R.C., 2008. Synaptic plasticity: multiple forms, functions, and mechanisms. Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol. 33, 18–41. https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301559

Colantuoni, C., Rada, P., McCarthy, J., Patten, C., Avena, N.M., Chadeayne, A., Hoebel, B.G., 2002. Evidence that intermittent, excessive sugar intake causes endogenous opioid dependence. Obes. Res. 10, 478–488. https://doi.org/10.1038/oby.2002.66

Colby, C.R., Whisler, K., Steffen, C., Nestler, E.J., Self, D.W., 2003. Striatal Cell Type-Specific Overexpression of ΔFosB Enhances Incentive for Cocaine. J. Neurosci. 23, 2488–2493.

Conrad, K.L., Tseng, K.Y., Uejima, J.L., Reimers, J.M., Heng, L.-J., Shaham, Y., Marinelli, M., Wolf, M.E., 2008. Formation of accumbens GluR2-lacking AMPA receptors mediates incubation of cocaine craving. Nature 454, 118–121. https://doi.org/10.1038/nature06995

Contreras-Rodríguez, O., Albein-Urios, N., Perales, J.C., Martínez-Gonzalez, J.M., Vilar-López, R., Fernández-Serrano, M.J., Lozano-Rojas, O., Verdejo-García, A., 2015. Cocaine-specific neuroplasticity in the ventral striatum network is linked to delay discounting and drug relapse. Addict. Abingdon Engl. 110, 1953–1962. https://doi.org/10.1111/add.13076

Cools, R., Nakamura, K., Daw, N.D., 2011. Serotonin and Dopamine: Unifying Affective, Activational, and Decision Functions. Neuropsychopharmacology 36, 98–113. https://doi.org/10.1038/npp.2010.121

Corbit, L.H., Balleine, B.W., 2003. The role of prelimbic cortex in instrumental conditioning. Behav. Brain Res., The Rodent Prefrontal Cortex 146, 145–157. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2003.09.023

Corbit, L.H., Chieng, B.C., Balleine, B.W., 2014. Effects of Repeated Cocaine Exposure on Habit Learning and Reversal by N-Acetylcysteine. Neuropsychopharmacology 39, 1893–1901. https://doi.org/10.1038/npp.2014.37

Cornish, J.L., Duffy, P., Kalivas, P.W., 1999. A role for nucleus accumbens glutamate transmission in the relapse to cocaine-seeking behavior. Neuroscience 93, 1359–1367. https://doi.org/10.1016/s0306-4522(99)00214-6

Corwin, R.L., Hayes, J.-E., 2014. Are sugars addictive? Perspectives for practitioners. In Fructose, High Fructose Corn Syrup, Sucrose and Health, 1st ed.; Rippe, J.M., Ed.; Humana Press: New York, NY, USA, pp. 199–215. ISBN 978-1-4899-8076-2.

Costa-Campos, R., Dias, C., Darlot, F., Cador, M., 2020. Double dissociation between actions of dopamine D1 and D2 receptors of the ventral and dorsolateral striatum to produce reinstatement of cocaine seeking behavior. Neuropharmacology 172, 108113. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2020.108113

Cotto, B., Natarajaseenivasan, K., Ferrero, K., Wesley, L., Sayre, M., Langford, D., 2018. Cocaine and HIV-1 Tat disrupt cholesterol homeostasis in astrocytes: Implications for HIV-associated neurocognitive disorders in cocaine user patients. Glia 66, 889–902. https://doi.org/10.1002/glia.23291

Cottone, P., Sabino, V., Roberto, M., Bajo, M., Pockros, L., Frihauf, J.B., Fekete, E.M., Steardo, L., Rice, K.C., Grigoriadis, D.E., Conti, B., Koob, G.F., Zorrilla, E.P., 2009. CRF system recruitment mediates dark side of compulsive eating. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 106, 20016–20020. https://doi.org/10.1073/pnas.0908789106

Cournia, Z., 2006. Structure and Dynamics of Biomembranes containing Cholesterol and other Biologically-Important Sterols : a computational perspective.

Courtney, R., Landreth, G.E., 2016. LXR Regulation of Brain Cholesterol: From Development to Disease. Trends Endocrinol. Metab. TEM 27, 404–414. https://doi.org/10.1016/j.tem.2016.03.018

Cui, W., Sun, Y., Wang, Z., Xu, C., Peng, Y., Li, R., 2012. Liver X receptor activation attenuates inflammatory response and protects cholinergic neurons in APP/PS1 transgenic mice. Neuroscience 210, 200–210. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2012.02.047

Cunningham, C.L., Gremel, C.M., Groblewski, P.A., 2006. Drug-induced conditioned place preference and aversion in mice. Nat. Protoc. 1, 1662–1670. https://doi.org/10.1038/nprot.2006.279

Dackis, C.A., O'Brien, C.P., 2001. Cocaine dependence: A disease of the brain's reward centers. J. Subst. Abuse Treat. 21, 111–117. https://doi.org/10.1016/S0740-5472(01)00192-1

Dalley, J.W., Cardinal, R.N., Robbins, T.W., 2004. Prefrontal executive and cognitive functions in rodents: neural and neurochemical substrates. Neurosci. Biobehav. Rev. 28, 771–784. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2004.09.006

Datta, U., Martini, M., Sun, W.L., 2017. Sex Differences in the Motivational Contrast between Sucrose and Cocaine in Rats. J. Drug Des. Res. 4, 1042.

Davis, J.F., Tracy, A.L., Schurdak, J.D., Tschöp, M.H., Lipton, J.W., Clegg, D.J., Benoit, S.C., 2008. Exposure to elevated levels of dietary fat attenuates psychostimulant reward and mesolimbic dopamine turnover in the rat. Behav. Neurosci. 122, 1257–1263. https://doi.org/10.1037/a0013111

Davison, A.N., 1965. Brain sterol metabolism. Adv. Lipid Res. 3, 171–196. https://doi.org/10.1016/b978-1-4831-9939-9.50011-5

De Ridder, D., Manning, P., Glue, P., Cape, G., Langguth, B., Vanneste, S., 2016. Anterior Cingulate Implant for Alcohol Dependence: Case Report. Neurosurgery 78, E883-893. https://doi.org/10.1227/NEU.0000000000001248

De Ridder, D., Vanneste, S., Kovacs, S., Sunaert, S., Dom, G., 2011. Transient alcohol craving suppression by rTMS of dorsal anterior cingulate: an fMRI and LORETA EEG study. Neurosci. Lett. 496, 5–10. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2011.03.074

De Vries, T., Schoffelmeer, A., Binnekade, R., Raaso, H., Vanderschuren, L.J.M.J., 2002. Relapse to Cocaine- and Heroin-Seeking Behavior Mediated by Dopamine D2 Receptors Is Time-Dependent and Associated with Behavioral Sensitization | Neuropsychopharmacology [WWW Document]. URL https://www.nature.com/articles/1395736 (accessed 7.18.22).

de Wit, H., Stewart, J., 1981. Reinstatement of cocaine-reinforced responding in the rat. Psychopharmacology (Berl.) 75, 134–143. https://doi.org/10.1007/BF00432175

Debruin, L., Harauz, G., 2007. White matter rafting--membrane microdomains in myelin. Neurochem. Res. 32. https://doi.org/10.1007/s11064-006-9137-4

Deroche-Gamonet, V., 2004. Evidence for Addiction-like Behavior in the Rat. Science 305, 1014–1017. https://doi.org/10.1126/science.1099020

Desmercieres, S., Lardeux, V., Longueville, J.-E., Hanna, M., Panlilio, L.V., Thiriet, N., Solinas, M., 2022. A self-adjusting, progressive shock strength procedure to investigate resistance to punishment: characterization in male and female rats. Neuropharmacology. 2022 Dec 1;220:109261. doi: 10.1016/j.neuropharm.2022.109261. Epub 2022 Sep 22. PMID: 36152690.

Di Chiara, G., 2002. Nucleus accumbens shell and core dopamine: differential role in behavior and addiction. Behav. Brain Res. 137, 75–114. https://doi.org/10.1016/s0166-4328(02)00286-3

Di Chiara, G., Imperato, A., 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, 5274–5278. https://doi.org/10.1073/pnas.85.14.5274

Dias, C., Lachize, S., Boilet, V., Huitelec, E., Cador, M., 2004. Differential effects of dopaminergic agents on locomotor sensitisation and on the reinstatement of cocaine-seeking and food-seeking behaviour. Psychopharmacology (Berl.) 175, 414–427. https://doi.org/10.1007/s00213-004-1839-1

Dietschy, J.M., 2009. Central nervous system: cholesterol turnover, brain development and neurodegeneration. Biol. Chem. 390. https://doi.org/10.1515/BC.2009.035

Dietschy, J.M., Turley, S.D., 2004. Thematic review series: brain Lipids. Cholesterol metabolism in the central nervous system during early development and in the mature animal. J. Lipid Res. 45, 1375–1397. https://doi.org/10.1194/jlr.R400004-JLR200

Dietschy, J.M., Turley, S.D., Spady, D.K., 1993. Role of liver in the maintenance of cholesterol and low density lipoprotein homeostasis in different animal species, including humans. J. Lipid Res. 34, 1637–1659.

DiFiglia, M., Sapp, E., Chase, K., Schwarz, C., Meloni, A., Young, C., Martin, E., Vonsattel, J.P., Carraway, R., Reeves, S.A., 1995. Huntingtin is a cytoplasmic protein associated with vesicles in human and rat brain neurons. Neuron 14, 1075–1081. https://doi.org/10.1016/0896-6273(95)90346-1

Djelti, F., Braudeau, J., Hudry, E., Dhenain, M., Varin, J., Bièche, I., Marquer, C., Chali, F., Ayciriex, S., Auzeil, N., Alves, S., Langui, D., Potier, M.-C., Laprevote, O., Vidaud, M., Duyckaerts, C., Miles, R., Aubourg, P., Cartier, N., 2015. CYP46A1 inhibition, brain cholesterol accumulation and neurodegeneration pave the way for Alzheimer's disease. Brain J. Neurol. 138, 2383–2398. https://doi.org/10.1093/brain/awv166

Domi, E., Xu, L., Toivainen, S., Nordeman, A., Gobbo, F., Venniro, M., Shaham, Y., Messing, R.O., Visser, E., van den Oever, M.C., Holm, L., Barbier, E., Augier, E., Heilig, M., 2021. A neural substrate of compulsive alcohol use. Sci. Adv. 7, eabg9045. https://doi.org/10.1126/sciadv.abg9045

Donkin, J.J., Stukas, S., Hirsch-Reinshagen, V., Namjoshi, D., Wilkinson, A., May, S., Chan, J., Fan, J., Collins, J., Wellington, C.L., 2010. ATP-binding cassette transporter A1 mediates the beneficial effects of the liver X receptor agonist GW3965 on object recognition memory and amyloid burden in amyloid precursor protein/presenilin 1 mice. J. Biol. Chem. 285, 34144–34154. https://doi.org/10.1074/jbc.M110.108100

Dos Santos, M., Salery, M., Forget, B., Garcia Perez, M.A., Betuing, S., Boudier, T., Vanhoutte, P., Caboche, J., Heck, N., 2017. Rapid Synaptogenesis in the Nucleus Accumbens Is Induced by a Single Cocaine Administration and Stabilized by Mitogen-Activated Protein Kinase Interacting Kinase-1 Activity. Biol. Psychiatry, Learning Theory, Neuroplasticity, and Addiction 82, 806–818. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2017.03.014

Drevets, W.C., Raichle, M.E., 1998. Suppression of Regional Cerebral Blood during Emotional versus Higher Cognitive Implications for Interactions between Emotion and Cognition. Cogn. Emot. 12, 353–385. https://doi.org/10.1080/026999398379646

Dumitriu, D., Laplant, Q., Grossman, Y.S., Dias, C., Janssen, W.G., Russo, S.J., Morrison, J.H., Nestler, E.J., 2012. Subregional, dendritic compartment, and spine subtype specificity in cocaine regulation of dendritic spines in the nucleus accumbens. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 32, 6957–6966. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5718-11.2012

Durand, A., Girardeau, P., Freese, L., Ahmed, S.H., 2022. Increased responsiveness to punishment of cocaine self-administration after experience with high punishment. Neuropsychopharmacology 47, 444–453. https://doi.org/10.1038/s41386-021-01159-3

El Rawas, R., Thiriet, N., Lardeux, V., Jaber, M., Solinas, M., 2009. Environmental enrichment decreases the rewarding but not the activating effects of heroin. Psychopharmacology (Berl.) 203, 561–570. https://doi.org/10.1007/s00213-008-1402-6

Espenshade, P.J., Hughes, A.L., 2007. Regulation of sterol synthesis in eukaryotes. Annu. Rev. Genet. 41, 401–427. https://doi.org/10.1146/annurev.genet.41.110306.130315

Everitt, B., Dickinson, A., Robbins, T., 2001. Everitt BJ, Dickinson A, Robbins TW. The neuropsychological basis of addictive behavior. Brain Res Brain Res Rev 36: 129-138. Brain Res. Rev. 36, 129–138. https://doi.org/10.1016/S0165-0173(01)00088-1

Everitt, B.J., Belin, D., Economidou, D., Pelloux, Y., Dalley, J.W., Robbins, T.W., 2008. Neural mechanisms underlying the vulnerability to develop compulsive drug-seeking habits and addiction. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 363, 3125–3135. https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0089

Everitt, B.J., Robbins, T.W., 2013. From the ventral to the dorsal striatum: Devolving views of their roles in drug addiction. Neurosci. Biobehav. Rev. 37, 1946–1954. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.02.010

Everitt, B.J., Robbins, T.W., 2005. Neural systems of reinforcement for drug addiction: from actions to habits to compulsion. Nat. Neurosci. 8, 1481–1489. https://doi.org/10.1038/nn1579

Fantini, J., Carlus, D., Yahi, N., 2011. The fusogenic tilted peptide (67-78) of α-synuclein is a cholesterol binding domain. Biochim. Biophys. Acta 1808, 2343–2351. https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2011.06.017

Faure, A., Haberland, U., Condé, F., El Massioui, N., 2005. Lesion to the nigrostriatal dopamine system disrupts stimulus-response habit formation. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 25. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3894-04.2005

Fernández-Pérez, E.J., Sepúlveda, F.J., Peters, C., Bascuñán, D., Riffo-Lepe, N.O., González-Sanmiguel, J., Sánchez, S.A., Peoples, R.W., Vicente, B., Aguayo, L.G., 2018. Effect of Cholesterol on Membrane Fluidity and Association of Aβ Oligomers and Subsequent Neuronal Damage: A Double-Edged Sword. Front. Aging Neurosci. 10, 226. https://doi.org/10.3389/fnagi.2018.00226

Figlewicz, D.P., Jay, J.L., Acheson, M.A., Magrisso, I.J., West, C.H., Zavosh, A., Benoit, S.C., Davis, J.F., 2013. Moderate high fat diet increases sucrose self-administration in young rats. Appetite 61, 19–29. https://doi.org/10.1016/j.appet.2012.09.021

File, S.E., Andrews, N., al-Farhan, M., 1993. Anxiogenic responses of rats on withdrawal from chronic ethanol treatment: effects of tianeptine. Alcohol Alcohol. Oxf. Oxfs. 28, 281–286.

Finger, B.C., Dinan, T.G., Cryan, J.F., 2012. Diet-induced obesity blunts the behavioural effects of ghrelin: studies in a mouse-progressive ratio task. Psychopharmacology (Berl.) 220, 173–181. https://doi.org/10.1007/s00213-011-2468-0

Floresco, S.B., McLaughlin, R.J., Haluk, D.M., 2008. Opposing roles for the nucleus accumbens core and shell in cue-induced reinstatement of food-seeking behavior. Neuroscience 154, 877–884. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.04.004

Foltz, E.L., White, L.E., 1962. Pain "relief" by frontal cingulumotomy. J. Neurosurg. 19, 89–100. https://doi.org/10.3171/jns.1962.19.2.0089

Fortin, D.L., Troyer, M.D., Nakamura, K., Kubo, S., Anthony, M.D., Edwards, R.H., 2004. Lipid rafts mediate the synaptic localization of alpha-synuclein. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 24, 6715–6723. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1594-04.2004

Fowler, H.W., Fowler, F.G., 1964. The concise Oxford dictiona? of current english. (5th ed.). Lond. Oxf. Univ. Press.

Francis, T.C., Gantz, S.C., Moussawi, K., Bonci, A., 2019. Synaptic and intrinsic plasticity in the ventral tegmental area after chronic cocaine. Curr. Opin. Neurobiol. 54, 66–72. https://doi.org/10.1016/j.conb.2018.08.013

French, E.D., Lopez, M., Peper, S., Kamenka, J.-M., Roberts, D.C.S., 1995. A comparison of the reinforcing efficacy of PCP, the PCP derivatives TCP and BTCP, and cocaine using a progressive ratio schedule in the rat. Behav. Pharmacol. 6, 223–228.

Friesen, J.A., Rodwell, V.W., 2004. The 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme-A (HMG-CoA) reductases. Genome Biol. 5, 248. https://doi.org/10.1186/gb-2004-5-11-248

Fuchs, R.A., Branham, R.K., See, R.E., 2006. Different Neural Substrates Mediate Cocaine Seeking after Abstinence versus Extinction Training: A Critical Role for the Dorsolateral Caudate-Putamen. J. Neurosci. 26, 3584–3588. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5146-05.2006

Fuchs, R.A., Evans, K.A., Parker, M.C., See, R.E., 2004a. Differential involvement of the core and shell subregions of the nucleus accumbens in conditioned cue-induced reinstatement of cocaine seeking in rats. Psychopharmacology (Berl.) 176, 459–465. https://doi.org/10.1007/s00213-004-1895-6

Fuchs, R.A., Evans, K.A., Parker, M.P., See, R.E., 2004b. Differential Involvement of Orbitofrontal Cortex Subregions in Conditioned Cue-Induced and Cocaine-Primed Reinstatement of Cocaine Seeking in Rats. J. Neurosci. 24, 6600–6610. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1924-04.2004

Garavan, H., Pankiewicz, J., Bloom, A., Cho, J.K., Sperry, L., Ross, T.J., Salmeron, B.J., Risinger, R., Kelley, D., Stein, E.A., 2000. Cue-induced cocaine craving: neuroanatomical specificity for drug users and drug stimuli. Am. J. Psychiatry 157, 1789–1798. https://doi.org/10.1176/appi.ajp.157.11.1789

Gardner, M.P., Conroy, J.C., Styer, C.V., Huynh, T., Whitaker, L.R., Schoenbaum, G., 2018. Medial orbitofrontal inactivation does not affect economic choice. eLife 7, e38963. https://doi.org/10.7554/eLife.38963

Garman, T.S., Setlow, B., Orsini, C.A., 2021. Effects of a high-fat diet on impulsive choice in rats. Physiol. Behav. 229, 113260. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2020.113260

Gazewood, J.D., Richards, D.R., Clebak, K., 2013. Parkinson disease: an update. Am. Fam. Physician 87, 267–273.

Gearhardt, A.N., Corbin, W.R., Brownell, K.D., 2016. Development of the Yale Food Addiction Scale Version 2.0. Psychol. Addict. Behav. J. Soc. Psychol. Addict. Behav. 30, 113–121. https://doi.org/10.1037/adb0000136

Gearhardt, A.N., Corbin, W.R., Brownell, K.D., 2009. Preliminary validation of the Yale Food Addiction Scale. Appetite 52, 430–436. https://doi.org/10.1016/j.appet.2008.12.003

Gearhardt, A.N., Roberto, C.A., Seamans, M.J., Corbin, W.R., Brownell, K.D., 2013. Preliminary validation of the Yale Food Addiction Scale for children. Eat. Behav. 14, 508–512. https://doi.org/10.1016/j.eatbeh.2013.07.002

Gearhardt, A.N., White, M.A., Masheb, R.M., Morgan, P.T., Crosby, R.D., Grilo, C.M., 2012. An examination of the food addiction construct in obese patients with binge eating disorder. Int. J. Eat. Disord. 45, 657–663. https://doi.org/10.1002/eat.20957

Gearhardt, A.N., Yokum, S., Orr, P.T., Stice, E., Corbin, W.R., Brownell, K.D., 2011. Neural correlates of food addiction. Arch. Gen. Psychiatry 68, 808–816. https://doi.org/10.1001/archgenpsychiatry.2011.32

Geller, I., Kulak, J.T., Seifter, J., 1962. The effects of chlordiazepoxide and chlorpromazine on a punishment discrimination. Psychopharmacologia 3, 374–385. https://doi.org/10.1007/BF00408322

Geller, I., Seifter, J., 1960. The effects of meprobamate, barbiturates, d-amphetamine and promazine on experimentally induced conflict in the rat. Psychopharmacologia 1, 482–492. https://doi.org/10.1007/BF00429273

Gerber, G.J., Stretch, R., 1975. Drug-induced reinstatement of extinguished self-administration behavior in monkeys. Pharmacol. Biochem. Behav. 3, 1055–1061. https://doi.org/10.1016/0091-3057(75)90016-7

Gerber, G.J., Wise, R.A., 1989. Pharmacological regulation of intravenous cocaine and heroin self-administration in rats: A variable dose paradigm. Pharmacol. Biochem. Behav. 32, 527–531. https://doi.org/10.1016/0091-3057(89)90192-5

Gerfen, C.R., Surmeier, D.J., 2011. Modulation of striatal projection systems by dopamine. Annu. Rev. Neurosci. 34, 441–466. https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-061010-113641

Ghitza, U.E., Gray, S.M., Epstein, D.H., Rice, K.C., Shaham, Y., 2006. The anxiogenic drug yohimbine reinstates palatable food seeking in a rat relapse model: a role of CRF1 receptors. Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol. 31, 2188–2196. https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300964

Gielen, E., Baron, W., Vandeven, M., Steels, P., Hoekstra, D., Ameloot, M., 2006. Rafts in oligodendrocytes: evidence and structure-function relationship. Glia 54, 499–512. https://doi.org/10.1002/glia.20406

Gil, J.M., Rego, A.C., 2008. Mechanisms of neurodegeneration in Huntington's disease. Eur. J. Neurosci. 27, 2803–2820. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06310.x

Gimpl, G., Burger, K., Fahrenholz, F., 1997. Cholesterol as modulator of receptor function. Biochemistry 36. https://doi.org/10.1021/bi963138w

Gipson, C.D., Kupchik, Y.M., Shen, H., Reissner, K.J., Thomas, C.A., Kalivas, P.W., 2013. Relapse induced by cues predicting cocaine depends on rapid, transient synaptic potentiation. Neuron 77, 867–872. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.01.005

Goldstein, J.L., DeBose-Boyd, R.A., Brown, M.S., 2006. Protein sensors for membrane sterols. Cell 124, 35–46. https://doi.org/10.1016/j.cell.2005.12.022

Goldstein, R.Z., Volkow, N.D., 2011. Dysfunction of the prefrontal cortex in addiction: neuroimaging findings and clinical implications. Nat. Rev. Neurosci. 12, 652–669. https://doi.org/10.1038/nrn3119

Gordon, E.L., Ariel-Donges, A.H., Bauman, V., Merlo, L.J., 2018. What Is the Evidence for "Food Addiction?" A Systematic Review. Nutrients 10, 477. https://doi.org/10.3390/nu10040477

Gosselet, F., Candela, P., Sevin, E., Berezowski, V., Cecchelli, R., Fenart, L., 2009. Transcriptional profiles of receptors and transporters involved in brain cholesterol homeostasis at the blood-brain barrier: use of an in vitro model. Brain Res. 1249, 34–42. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.10.036

Goto, Y., Grace, A.A., 2008. Limbic and cortical information processing in the nucleus accumbens. Trends Neurosci. 31, 552–558. https://doi.org/10.1016/j.tins.2008.08.002

Gourley, S.L., Taylor, J.R., 2016. Going and stopping: Dichotomies in behavioral control by the prefrontal cortex. Nat. Neurosci. 19, 656–664. https://doi.org/10.1038/nn.4275

Granon, S., Poucet, B., 2000. Involvement of the rat prefrontal cortex in cognitive functions: A central role for the prelimbic area. Psychobiology 28, 229–237.

Gremel, C.M., Chancey, J.H., Atwood, B.K., Luo, G., Neve, R., Ramakrishnan, C., Deisseroth, K., Lovinger, D.M., Costa, R.M., 2016. Endocannabinoid Modulation of Orbitostriatal Circuits Gates Habit Formation. Neuron 90, 1312–1324. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2016.04.043

Gremel, C.M., Costa, R.M., 2013. Orbitofrontal and striatal circuits dynamically encode the shift between goal-directed and habitual actions. Nat. Commun. 4, 2264. https://doi.org/10.1038/ncomms3264

Grimm, J.W., Hope, B.T., Wise, R.A., Shaham, Y., 2001. Incubation of cocaine craving after withdrawal. Nature 412, 141–142. https://doi.org/10.1038/35084134

Gupta, M., Gokarakonda, S.B., Attia, F.N., 2022. Withdrawal Syndromes, in: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).

Hall, F.S., Sora, I., Drgonova, J., Li, X.-F., Goeb, M., Uhl, G.R., 2004. Molecular mechanisms underlying the rewarding effects of cocaine. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1025, 47–56. https://doi.org/10.1196/annals.1316.006

Han, M., Wang, S., Yang, N., Wang, X., Zhao, W., Saed, H.S., Daubon, T., Huang, B., Chen, A., Li, G., Miletic, H., Thorsen, F., Bjerkvig, R., Li, X., Wang, J., 2020. Therapeutic implications of altered cholesterol homeostasis mediated by loss of CYP46A1 in human glioblastoma. EMBO Mol. Med. 12, e10924. https://doi.org/10.15252/emmm.201910924

Hart, G., Bradfield, L., Balleine, B., 2018a. Prefrontal Corticostriatal Disconnection Blocks the Acquisition of Goal-Directed Action. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 38. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2850-17.2017

Hart, G., Bradfield, L.A., Fok, S.Y., Chieng, B., Balleine, B.W., 2018b. The Bilateral Prefronto-striatal Pathway Is Necessary for Learning New Goal-Directed Actions. Curr. Biol. CB 28, 2218-2229.e7. https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.05.028

Hascoët, M., Bourin, M., 1997. Anticonflict effect of alpidem as compared with the benzodiazepine alprazolam in rats. Pharmacol. Biochem. Behav. 56, 317–324. https://doi.org/10.1016/s0091-3057(96)00293-6

Head, B.P., Patel, H.H., Insel, P.A., 2014. Interaction of membrane/lipid rafts with the cytoskeleton: impact on signaling and function: membrane/lipid rafts, mediators of cytoskeletal arrangement and cell signaling. Biochim. Biophys. Acta 1838, 532–545. https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2013.07.018

Hearing, M.C., Zink, A.N., Wickman, K., 2012. Cocaine-induced adaptations in metabotropic inhibitory signaling in the mesocorticolimbic system. Rev. Neurosci. 23, 325–351. https://doi.org/10.1515/revneuro-2012-0045

Hering, H., Lin, C.-C., Sheng, M., 2003. Lipid rafts in the maintenance of synapses, dendritic spines, and surface AMPA receptor stability. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 23, 3262–3271.

Hernandez-Lopez, S., Tkatch, T., Perez-Garci, E., Galarraga, E., Bargas, J., Hamm, H., Surmeier, D.J., 2000. D2 dopamine receptors in striatal medium spiny neurons reduce L-type Ca2+ currents and excitability via a novel PLC[beta]1-IP3-calcineurin-signaling cascade. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 20, 8987–8995.

Hikosaka, O., Nakamura, K., Sakai, K., Nakahara, H., 2002. Central mechanisms of motor skill learning. Curr. Opin. Neurobiol. 12, 217–222. https://doi.org/10.1016/s0959-4388(02)00307-0

Hiroi, N., Brown, J.R., Haile, C.N., Ye, H., Greenberg, M.E., Nestler, E.J., 1997. FosB mutant mice: loss of chronic cocaine induction of Fos-related proteins and heightened sensitivity to cocaine's psychomotor and rewarding effects. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 94, 10397–10402. https://doi.org/10.1073/pnas.94.19.10397

Hope, B., Kosofsky, B., Hyman, S.E., Nestler, E.J., 1992. Regulation of immediate early gene expression and AP-1 binding in the rat nucleus accumbens by chronic cocaine. | PNAS [WWW Document]. URL https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.89.13.5764 (accessed 6.19.22).

Hou, Q., Huang, Y., Amato, S., Snyder, S.H., Huganir, R.L., Man, H.-Y., 2008. Regulation of AMPA receptor localization in lipid rafts. Mol. Cell. Neurosci. 38, 213–223. https://doi.org/10.1016/j.mcn.2008.02.010

Huang, Y., Mohan, A., De Ridder, D., Sunaert, S., Vanneste, S., 2018. The neural correlates of the unified percept of alcohol-related craving: a fMRI and EEG study. Sci. Rep. 8, 923. https://doi.org/10.1038/s41598-017-18471-y

Hudry, E., Van Dam, D., Kulik, W., De Deyn, P.P., Stet, F.S., Ahouansou, O., Benraiss, A., Delacourte, A., Bougnères, P., Aubourg, P., Cartier, N., 2010. Adeno-associated virus gene therapy with cholesterol 24-hydroxylase reduces the amyloid pathology before or after the onset of amyloid plaques in mouse models of Alzheimer's disease. Mol. Ther. J. Am. Soc. Gene Ther. 18, 44–53. https://doi.org/10.1038/mt.2009.175

Hutcheson, D.M., Everitt, B.J., 2003. The effects of selective orbitofrontal cortex lesions on the acquisition and performance of cue-controlled cocaine seeking in rats. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1003, 410–411. https://doi.org/10.1196/annals.1300.038

Hyman, S.E., Malenka, R.C., 2001. Addiction and the brain: The neurobiology of compulsion and its persistence. Nat. Rev. Neurosci. 2, 695–703. https://doi.org/10.1038/35094560

Hyman, S.E., Malenka, R.C., Nestler, E.J., 2006. Neural mechanisms of addiction: the role of reward-related learning and memory. Annu. Rev. Neurosci. 29, 565–598. https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.29.051605.113009

Ikemoto, S., 2007. Dopamine reward circuitry: two projection systems from the ventral midbrain to the nucleus accumbens-olfactory tubercle complex. Brain Res. Rev. 56, 27–78. https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2007.05.004

Ikonen, E., 2008. Cellular cholesterol trafficking and compartmentalization. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 9, 125–138. https://doi.org/10.1038/nrm2336

Ingrand, I., Solinas, M., Ingrand, P., Dugast, E., Saulnier, P.-J., Pérault-Pochat, M.-C., Lafay-Chebassier, C., 2018. Lack of effects of simvastatin on smoking cessation in humans: A double-blind, randomized, placebo-controlled clinical study. Sci. Rep. 8, 3836. https://doi.org/10.1038/s41598-018-21819-7

Isaac, J.T.R., Ashby, M.C., McBain, C.J., 2007. The Role of the GluR2 Subunit in AMPA Receptor Function and Synaptic Plasticity. Neuron 54, 859–871. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2007.06.001

Ito, J., Nagayasu, Y., Miura, Y., Yokoyama, S., Michikawa, M., 2014. Astrocyte's endogenous apoE generates HDL-like lipoproteins using previously synthesized cholesterol through interaction with ABCA1. Brain Res. 1570, 1–12. https://doi.org/10.1016/j.brainres.2014.04.037

Ito, R., Dalley, J.W., Robbins, T.W., Everitt, B.J., 2002. Dopamine release in the dorsal striatum during cocaine-seeking behavior under the control of a drug-associated cue. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 22, 6247–6253. https://doi.org/20026606

Ito, R., Robbins, T.W., Everitt, B.J., 2004. Differential control over cocaine-seeking behavior by nucleus accumbens core and shell. Nat. Neurosci. 7, 389–397. https://doi.org/10.1038/nn1217

Jaber, M., Robinson, S.W., Missale, C., Caron, M.G., 1996. Dopamine receptors and brain function. Neuropharmacology 35, 1503–1519. https://doi.org/10.1016/s0028-3908(96)00100-1

Jackson, D.M., Westlind-Danielsson, A., 1994. Dopamine receptors: molecular biology, biochemistry and behavioural aspects. Pharmacol. Ther. 64, 291–370. https://doi.org/10.1016/0163-7258(94)90041-8

Jamroz-Wiśniewska, A., Wójcicka, G., Horoszewicz, K., Bełtowski, J., 2007. Liver X receptors (LXRs). Part II: Non-lipid effects, role in pathology, and therapeutic implications. Postepy Hig Med Dosw 26.

Jiang, Q., Lee, C.Y.D., Mandrekar, S., Wilkinson, B., Cramer, P., Zelcer, N., Mann, K., Lamb, B., Willson, T.M., Collins, J.L., Richardson, J.C., Smith, J.D., Comery, T.A., Riddell, D., Holtzman, D.M., Tontonoz, P., Landreth, G.E., 2008. ApoE promotes the proteolytic degradation of Abeta. Neuron 58, 681–693. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.04.010

Johanson, C.E., Balster, R.L., 1978. A summary of the results of a drug self-administration study using substitution procedures in rhesus monkeys. Bull. Narc. 30, 43–54.

Johanson, C.E., Schuster, C.R., 1975. A choice procedure for drug reinforcers: Cocaine and methylphenidate in the rhesus monkey. J. Pharmacol. Exp. Ther. 193, 676–688.

Johnson, P., Kenny, P., 2010. Dopamine D2 receptors in addiction-like reward dysfunction and compulsive eating in obese rats. Nat. Neurosci. 13, 635–641. https://doi.org/10.1038/nn.2519

Jones, R.T., 1979. Dependence in non-addict humans after a single dose of morphine. In: Way EL, ed. Endogenous and exogenous opiate agonists and antagonists. New York: Pergamon Press, 1979:557-60.

Jong, J.W. de, Meijboom, K.E., Vanderschuren, L.J.M.J., Adan, R.A.H., 2013. Low Control over Palatable Food Intake in Rats Is Associated with Habitual Behavior and Relapse Vulnerability: Individual Differences. PLOS ONE 8, e74645. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0074645

Jonkman, S., Pelloux, Y., Everitt, B.J., 2012. Differential Roles of the Dorsolateral and Midlateral Striatum in Punished Cocaine Seeking. J. Neurosci. 32, 4645–4650. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0348-12.2012

Kacher R, Lamazière A, Heck N, Kappes V, Mounier C, Despres G, Dembitskaya Y, Perrin E, Christaller W, Sasidharan Nair S, Messent V, Cartier N, Vanhoutte P, Venance L, Saudou F, Néri C, Caboche J, Betuing S. CYP46A1 gene therapy deciphers the role of brain cholesterol metabolism in Huntington's disease. Brain. 2019 Aug 1;142(8):2432-2450. doi: 10.1093/brain/awz174. PMID: 31286142.

Kalivas, P.W., O'Brien, C., 2008. Drug addiction as a pathology of staged neuroplasticity. Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol. 33, 166–180. https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301564

Kalivas, P.W., Stewart, J., 1991. Dopamine transmission in the initiation and expression of drug- and stress-induced sensitization of motor activity. Brain Res. Rev. 16, 223–244. https://doi.org/10.1016/0165-0173(91)90007-U

Kandutsch, A.A., Russell, A.E., 1960. Preputial gland tumor sterols. 3. A metabolic pathway from lanosterol to cholesterol. J. Biol. Chem. 235, 2256–2261.

Kasanetz, F., Deroche-Gamonet, V., Berson, N., Balado, E., Lafourcade, M., Manzoni, O., Piazza, P.V., 2010. Transition to addiction is associated with a persistent impairment in synaptic plasticity. Science 328, 1709–1712. https://doi.org/10.1126/science.1187801

Kauer, J.A., Malenka, R.C., 2007. Synaptic plasticity and addiction. Nat. Rev. Neurosci. 8, 844–858. https://doi.org/10.1038/nrn2234

Kelley, A.E., 2004. Ventral striatal control of appetitive motivation: role in ingestive behavior and reward-related learning. Neurosci. Biobehav. Rev. 27, 765–776. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2003.11.015

Kelz, M.B., Chen, J., Carlezon, W.A., Whisler, K., Gilden, L., Beckmann, A.M., Steffen, C., Zhang, Y.J., Marotti, L., Self, D.W., Tkatch, T., Baranauskas, G., Surmeier, D.J., Neve, R.L., Duman, R.S., Picciotto, M.R., Nestler, E.J., 1999. Expression of the transcription factor deltaFosB in the brain controls sensitivity to cocaine. Nature 401, 272–276. https://doi.org/10.1038/45790

Kenny, P.J., 2007. Brain reward systems and compulsive drug use. Trends Pharmacol. Sci. 28, 135–141. https://doi.org/10.1016/j.tips.2007.01.008

Kenny, P.J., Chen, S.A., Kitamura, O., Markou, A., Koob, G.F., 2006. Conditioned Withdrawal Drives Heroin Consumption and Decreases Reward Sensitivity. J. Neurosci. 26, 5894–5900. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0740-06.2006

Kiianmaa, K., 1980. Alcohol intake and ethanol intoxication in the rate: effect of a 6-OHDA-induced lesion of the ascending noradrenaline pathways. Eur. J. Pharmacol. 64, 9–19. https://doi.org/10.1016/0014-2999(80)90364-7

Kim, S., Shin, J.-K., Yoon, H.S., Kim, J.-H., 2011. Blockade of ERK Phosphorylation in the Nucleus Accumbens Inhibits the Expression of Cocaine-induced Behavioral Sensitization in Rats. Korean J. Physiol. Pharmacol. Off. J. Korean Physiol. Soc. Korean Soc. Pharmacol. 15, 389–395. https://doi.org/10.4196/kjpp.2011.15.6.389

Koldamova, R.P., Lefterov, I.M., Ikonomovic, M.D., Skoko, J., Lefterov, P.I., Isanski, B.A., DeKosky, S.T., Lazo, J.S., 2003. 22R-hydroxycholesterol and 9-cis-retinoic acid induce ATP-binding cassette transporter A1 expression and cholesterol efflux in brain cells and decrease amyloid beta secretion. J. Biol. Chem. 278, 13244–13256. https://doi.org/10.1074/jbc.M300044200

Koob, G., 2001. Drug Addiction, Dysregulation of Reward, and Allostasis. Neuropsychopharmacology 24, 97–129. https://doi.org/10.1016/S0893-133X(00)00195-0

Koob, G.F., 1999. Stress, Corticotropin-releasing Factor, and Drug Addiction. Ann. N. Y. Acad. Sci. 897, 27–45. https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1999.tb07876.x

Koob, G.F., Ahmed, S.H., Boutrel, B., Chen, S.A., Kenny, P.J., Markou, A., O'Dell, L.E., Parsons, L.H., Sanna, P.P., 2004. Neurobiological mechanisms in the transition from drug use to drug dependence. Neurosci. Biobehav. Rev. 27, 739–749. https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2003.11.007

Koob, G.F., Le Moal, M., 2008. Neurobiological mechanisms for opponent motivational processes in addiction. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 363, 3113–3123. https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0094

Koob, G.F., Moal, M.L., 1997. Drug Abuse: Hedonic Homeostatic Dysregulation. Science 278, 52–58. https://doi.org/10.1126/science.278.5335.52

Korinek, M., Vyklicky, V., Borovska, J., Lichnerova, K., Kaniakova, M., Krausova, B., Krusek, J., Balik, A., Smejkalova, T., Horak, M., Vyklicky, L., 2015. Cholesterol modulates open probability and

desensitization of NMDA receptors. J. Physiol. 593, 2279–2293. https://doi.org/10.1113/jphysiol.2014.288209
Korpi, E.R., den Hollander, B., Farooq, U., Vashchinkina, E., Rajkumar, R., Nutt, D.J., Hyytiä, P., Dawe, G.S., 2015. Mechanisms of Action and Persistent Neuroplasticity by Drugs of Abuse. Pharmacol. Rev. 67, 872–1004. https://doi.org/10.1124/pr.115.010967
Koseoglu, S., Love, S.A., Haynes, C.L., 2011. Cholesterol effects on vesicle pools in chromaffin cells revealed by carbon-fiber microelectrode amperometry. Anal. Bioanal. Chem. 400, 2963–2971. https://doi.org/10.1007/s00216-011-5002-7
Kotti, T.J., Ramirez, D.M.O., Pfeiffer, B.E., Huber, K.M., Russell, D.W., 2006. Brain cholesterol turnover required for geranylgeraniol production and learning in mice. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 103, 3869–3874. https://doi.org/10.1073/pnas.0600316103
Kourrich, S., Rothwell, P., Klug, J., Thomas, M., 2007. Cocaine experience controls bidirectional synaptic plasticity in the nucleus accumbens. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 27. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1859-07.2007
Krasnova, I.N., Marchant, N.J., Ladenheim, B., McCoy, M.T., Panlilio, L.V., Bossert, J.M., Shaham, Y., Cadet, J.L., 2014. Incubation of Methamphetamine and Palatable Food Craving after Punishment-Induced Abstinence. Neuropsychopharmacology 39, 2008–2016. https://doi.org/10.1038/npp.2014.50
Kreek, M.J., LaForge, K.S., Butelman, E., 2002. Pharmacotherapy of addictions. Nat. Rev. Drug Discov. 1, 710–726. https://doi.org/10.1038/nrd897
Kreilaus, F., Spiro, A.S., McLean, C.A., Garner, B., Jenner, A.M., 2016. Evidence for altered cholesterol metabolism in Huntington's disease post mortem brain tissue. Neuropathol. Appl. Neurobiol. 42, 535–546. https://doi.org/10.1111/nan.12286
Kreitzer, A.C., Malenka, R.C., 2008. Striatal plasticity and basal ganglia circuit function. Neuron 60, 543–554. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2008.11.005
Kühn, S., Gallinat, J., 2011. Common biology of craving across legal and illegal drugs - a quantitative meta-analysis of cue-reactivity brain response. Eur. J. Neurosci. 33, 1318–1326. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2010.07590.x
la Fleur, S.E., Vanderschuren, L.J.M.J., Luijendijk, M.C., Kloeze, B.M., Tiesjema, B., Adan, R. a. H., 2007. A reciprocal interaction between food-motivated behavior and diet-induced obesity. Int. J. Obes. 2005 31, 1286–1294. https://doi.org/10.1038/sj.ijo.0803570
Lafragette, A., Bardo, M.T., Lardeux, V., Solinas, M., Thiriet, N., 2016. Reduction of Cocaine-Induced Locomotor Effects by Enriched Environment Is Associated with Cell-Specific Accumulation of ΔFosB in Striatal and Cortical Subregions. Int. J. Neuropsychopharmacol. 20, 237–246. https://doi.org/10.1093/ijnp/pyw097
Lamaida, E., Lamaida, N., Caputi, F., Rapanà, A., Pizza, V., Lepore, P., Capuano, V., 1997. Ischemic stroke syndromes in childhood. Minerva Pediatr. 49, 147–154.
Lamberty, Y., Falter, U., Gower, A.J., Klitgaard, H., 2003. Anxiolytic profile of the antiepileptic drug levetiracetam in the Vogel conflict test in the rat. Eur. J. Pharmacol. 469, 97–102. https://doi.org/10.1016/s0014-2999(03)01724-2
Lane-Donovan, C., Philips, G.T., Herz, J., 2014. More than Cholesterol Transporters: Lipoprotein Receptors in CNS Function and Neurodegeneration. Neuron 83, 771–787. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2014.08.005
Law, M., Rudnicka, A.R., 2006. Statin safety: a systematic review. Am. J. Cardiol. 97, 52C-60C. https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2005.12.010
Le Bourhis, B., Beaugé, F., Aufrère, G., Nordmann, R., 1986. Membrane fluidity and alcohol dependence. Alcohol. Clin. Exp. Res. 10, 337–342. https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1986.tb05100.x
Le Magnen, J., 1990. A role for opiates in food reward and food addiction. merican Psychological Association; Washington, DC: 1990. pp. 241–254., Capaldi ED, Powley TL,. ed.
Lecis, C., Segatto, M., 2014. Cholesterol Homeostasis Imbalance and Brain Functioning: Neurological Disorders and Behavioral Consequences. J. Neurol. Neurol. Disord. 1, 101. https://doi.org/10.15744/2454-4981.1.101
Lehrmann, E., Colantuoni, C., Deep-Soboslay, A., Becker, K.G., Lowe, R., Huestis, M.A., Hyde, T.M., Kleinman, J.E., Freed, W.J., 2006. Transcriptional Changes Common to Human Cocaine, Cannabis and Phencyclidine Abuse. PLoS ONE 1. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0000114
Leong, S.L., De Ridder, D., Vanneste, S., Sutherland, W., Ross, S., Manning, P., 2018. High definition transcranial pink noise stimulation of anterior cingulate cortex on food craving: An explorative study. Appetite 120, 673–678. https://doi.org/10.1016/j.appet.2017.10.034
Leshner, A.I., 1997. Addiction Is a Brain Disease, and It Matters 3.

Lewis, G.F., Rader, D.J., 2005. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport. Circ. Res. 96, 1221–1232. https://doi.org/10.1161/01.RES.0000170946.56981.5c

Li, S.H., Schilling, G., Young, W.S., Li, X.J., Margolis, R.L., Stine, O.C., Wagster, M.V., Abbott, M.H., Franz, M.L., Ranen, N.G., 1993. Huntington's disease gene (IT15) is widely expressed in human and rat tissues. Neuron 11, 985–993. https://doi.org/10.1016/0896-6273(93)90127-d

Li, Y., Acerbo, M.J., Robinson, T.E., 2004. The induction of behavioural sensitization is associated with cocaine-induced structural plasticity in the core (but not shell) of the nucleus accumbens. Eur. J. Neurosci. 20, 1647–1654. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03612.x

Liao, F., Yoon, H., Kim, J., 2017. Apolipoprotein E metabolism and functions in brain and its role in Alzheimer's disease. Curr. Opin. Lipidol. 28, 60–67. https://doi.org/10.1097/MOL.0000000000000383

Lindau, M., Alvarez de Toledo, G., 2003. The fusion pore. Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Res., Membrane Fusion 1641, 167–173. https://doi.org/10.1016/S0167-4889(03)00085-5

Linetti, A., Fratangeli, A., Taverna, E., Valnegri, P., Francolini, M., Cappello, V., Matteoli, M., Passafaro, M., Rosa, P., 2010. Cholesterol reduction impairs exocytosis of synaptic vesicles. J. Cell Sci. 123, 595–605. https://doi.org/10.1242/jcs.060681

Liscum, L., Munn, N.J., 1999. Intracellular cholesterol transport. Biochim. Biophys. Acta 1438, 19–37. https://doi.org/10.1016/s1388-1981(99)00043-8

Loiseau, F., Le Bihan, C., Hamon, M., Thiébot, M.H., 2003. Distinct effects of diazepam and NK1 receptor antagonists in two conflict procedures in rats. Behav. Pharmacol. 14, 447–455. https://doi.org/10.1097/01.fbp.0000089142.24369.dc

Luk, C.-H., Wallis, J.D., 2013. Choice coding in frontal cortex during stimulus-guided or action-guided decision-making. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 33, 1864–1871. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4920-12.2013

Lund, E.G., Guileyardo, J.M., Russell, D.W., 1999. cDNA cloning of cholesterol 24-hydroxylase, a mediator of cholesterol homeostasis in the brain. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 96, 7238–7243.

Lund, E.G., Xie, C., Kotti, T., Turley, S.D., Dietschy, J.M., Russell, D.W., 2003. Knockout of the cholesterol 24-hydroxylase gene in mice reveals a brain-specific mechanism of cholesterol turnover. J. Biol. Chem. 278, 22980–22988. https://doi.org/10.1074/jbc.M303415200

Lüscher, C., Malenka, R.C., 2011. Drug-evoked synaptic plasticity in addiction: from molecular changes to circuit remodeling. Neuron 69, 650–663. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.01.017

Luu, W., Hart-Smith, G., Sharpe, L.J., Brown, A.J., 2015. The terminal enzymes of cholesterol synthesis, DHCR24 and DHCR7, interact physically and functionally. J. Lipid Res. 56, 888–897. https://doi.org/10.1194/jlr.M056986

Lynch, W.J., Carroll, M.E., 2001. Regulation of drug intake. Exp. Clin. Psychopharmacol. 9, 131–143. https://doi.org/10.1037/1064-1297.9.2.131

Ma, N., Liu, Y., Li, N., Wang, C.-X., Zhang, H., Jiang, X.-F., Xu, H.-S., Fu, X.-M., Hu, X., Zhang, D.-R., 2010. Addiction Related Alteration in Resting-state Brain Connectivity. NeuroImage 49, 738–744. https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2009.08.037

Maas, D.A., Martens, M.B., Priovoulos, N., Zuure, W.A., Homberg, J.R., Nait-Oumesmar, B., Martens, G.J.M., 2020. Key role for lipids in cognitive symptoms of schizophrenia. Transl. Psychiatry 10, 1–12. https://doi.org/10.1038/s41398-020-01084-x

MacDonald, M.E., Ambrose, C.M., Duyao, M.P., Myers, R.H., Lin, C., Srinidhi, L., Barnes, G., Taylor, S.A., James, M., Groot, N., MacFarlane, H., Jenkins, B., Anderson, M.A., Wexler, N.S., Gusella, J.F., Bates, G.P., Baxendale, S., Hummerich, H., Kirby, S., North, M., Youngman, S., Mott, R., Zehetner, G., Sedlacek, Z., Poustka, A., Frischauf, A.-M., Lehrach, H., Buckler, A.J., Church, D., Doucette-Stamm, L., O'Donovan, M.C., Riba-Ramirez, L., Shah, M., Stanton, V.P., Strobel, S.A., Draths, K.M., Wales, J.L., Dervan, P., Housman, D.E., Altherr, M., Shiang, R., Thompson, L., Fielder, T., Wasmuth, J.J., Tagle, D., Valdes, J., Elmer, L., Allard, M., Castilla, L., Swaroop, M., Blanchard, K., Collins, F.S., Snell, R., Holloway, T., Gillespie, K., Datson, N., Shaw, D., Harper, P.S., 1993. A novel gene containing a trinucleotide repeat that is expanded and unstable on Huntington's disease chromosomes. Cell 72, 971–983. https://doi.org/10.1016/0092-8674(93)90585-E

Mahley, R., Bersot, T., 2005. Drug therapy for hypercholesterolemia and dyslipidemia. Brunton Lazo JS Park. KL Eds Goodman Gilmans Pharmacol. Basis Ther. McGraw-Hill N. Y. NY USA Pp 933–966.

Maisonneuve, I.M., Keller, R.W., Glick, S.D., 1990. Similar effects of D-amphetamine and cocaine on extracellular dopamine levels in medial prefrontal cortex of rats. Brain Res. 535, 221–226. https://doi.org/10.1016/0006-8993(90)91604-f

Mameli, M., Halbout, B., Creton, C., Engblom, D., Parkitna, J.R., Spanagel, R., Lüscher, C., 2009. Cocaine-evoked synaptic plasticity: persistence in the VTA triggers adaptations in the NAc. Nat. Neurosci. 12, 1036–1041. https://doi.org/10.1038/nn.2367

Mantsch, J.R., Baker, D.A., Funk, D., Lê, A.D., Shaham, Y., 2016. Stress-Induced Reinstatement of Drug Seeking: 20 Years of Progress. Neuropsychopharmacology 41, 335–356. https://doi.org/10.1038/npp.2015.142

Marchant, N.J., Campbell, E.J., Kaganovsky, K., 2018. Punishment of alcohol-reinforced responding in alcohol preferring P rats reveals a bimodal population: Implications for models of compulsive drug seeking. Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry 87, 68–77. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2017.07.020

Marques, C., Meireles, M., Norberto, S., Leite, J., Freitas, J., Pestana, D., Faria, A., Calhau, C., 2015. High-fat diet-induced obesity Rat model: a comparison between Wistar and Sprague-Dawley Rat. Adipocyte 5, 11–21. https://doi.org/10.1080/21623945.2015.1061723

Martin, M.G., Perga, S., Trovò, L., Rasola, A., Holm, P., Rantamäki, T., Harkany, T., Castrén, E., Chiara, F., Dotti, C.G., 2008. Cholesterol Loss Enhances TrkB Signaling in Hippocampal Neurons Aging in Vitro. Mol. Biol. Cell 19, 2101–2112. https://doi.org/10.1091/mbc.E07-09-0897

Martin, M.G., Trovò, L., Perga, S., Sadowska, A., Rasola, A., Chiara, F., Dotti, C.G., 2011. Cyp46-mediated cholesterol loss promotes survival in stressed hippocampal neurons. Neurobiol. Aging 32, 933–943. https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2009.04.022

Mast, N., Li, Y., Linger, M., Clark, M., Wiseman, J., Pikuleva, I.A., 2014. Pharmacologic stimulation of cytochrome P450 46A1 and cerebral cholesterol turnover in mice. J. Biol. Chem. 289, 3529–3538. https://doi.org/10.1074/jbc.M113.532846

Mast, N., Saadane, A., Valencia-Olvera, A., Constans, J., Maxfield, E., Arakawa, H., Li, Y., Landreth, G., Pikuleva, I.A., 2017. Cholesterol-metabolizing enzyme cytochrome P450 46A1 as a pharmacologic target for Alzheimer's disease. Neuropharmacology 123, 465–476. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2017.06.026

Matamales, M., Bertran-Gonzalez, J., Salomon, L., Degos, B., Deniau, J.-M., Valjent, E., Hervé, D., Girault, J.-A., 2009. Striatal medium-sized spiny neurons: identification by nuclear staining and study of neuronal subpopulations in BAC transgenic mice. PloS One 4, e4770. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0004770

Matsuzaki, M., Honkura, N., Ellis-Davies, G.C.R., Kasai, H., 2004. Structural basis of long-term potentiation in single dendritic spines. Nature 429, 761–766. https://doi.org/10.1038/nature02617

Mauch, D.H., Nägler, K., Schumacher, S., Göritz, C., Müller, E.C., Otto, A., Pfrieger, F.W., 2001. CNS synaptogenesis promoted by glia-derived cholesterol. Science 294, 1354–1357. https://doi.org/10.1126/science.294.5545.1354

McBride, W.J., Kimpel, M.W., McClintick, J.N., Ding, Z.-M., Hauser, S.R., Edenberg, H.J., Bell, R.L., Rodd, Z.A., 2013. Changes in Gene Expression within the Ventral Tegmental Area Following Repeated Excessive Binge-Like Alcohol Drinking by Alcohol-Preferring (P) Rats. Alcohol Fayettev. N 47, 367–380. https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2013.04.002

McClintick, J.N., McBride, W.J., Bell, R.L., Ding, Z.-M., Liu, Y., Xuei, X., Edenberg, H.J., 2018. Gene expression changes in the ventral hippocampus and medial prefrontal cortex of adolescent alcohol-preferring (P) rats following binge-like-alcohol drinking. Alcohol Fayettev. N 68, 37–47. https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2017.09.002

McClintick, J.N., McBride, W.J., Bell, R.L., Ding, Z.-M., Liu, Y., Xuei, X., Edenberg, H.J., 2016. Gene expression changes in glutamate and GABA-A receptors, neuropeptides, ion channels and cholesterol synthesis in the periaqueductal gray following binge-like alcohol drinking by adolescent alcohol-preferring (P) rats. Alcohol. Clin. Exp. Res. 40, 955–968. https://doi.org/10.1111/acer.13056

McClintick, J.N., McBride, W.J., Bell, R.L., Ding, Z.-M., Liu, Y., Xuei, X., Edenberg, H.J., 2015. Gene expression changes in serotonin, GABA-A receptors, neuropeptides and ion channels in the dorsal raphe nucleus of adolescent alcohol-preferring (P) rats following binge-like alcohol drinking. Pharmacol. Biochem. Behav. 129, 87–96. https://doi.org/10.1016/j.pbb.2014.12.007

McClung, C.A., Nestler, E.J., 2003. Regulation of gene expression and cocaine reward by CREB and DeltaFosB. Nat. Neurosci. 6, 1208–1215. https://doi.org/10.1038/nn1143

McFarland, K., Davidge, S.B., Lapish, C.C., Kalivas, P.W., 2004. Limbic and motor circuitry underlying footshock-induced reinstatement of cocaine-seeking behavior. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 24, 1551–1560. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4177-03.2004

McFarland, K., Kalivas, P.W., 2001. The circuitry mediating cocaine-induced reinstatement of drug-seeking behavior. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 21, 8655–8663.

McFarland, K., Lapish, C.C., Kalivas, P.W., 2003. Prefrontal glutamate release into the core of the nucleus accumbens mediates cocaine-induced reinstatement of drug-seeking behavior. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 23, 3531–3537.

McGregor, A., Roberts, D.C.S., 1993. Dopaminergic antagonism within the nucleus accumbens or the amygdala produces differential effects on intravenous cocaine self-administration under fixed and progressive ratio schedules of reinforcement. Brain Res. 624, 245–252. https://doi.org/10.1016/0006-8993(93)90084-Z

McLaughlin, J., See, R.E., 2003. Selective inactivation of the dorsomedial prefrontal cortex and the basolateral amygdala attenuates conditioned-cued reinstatement of extinguished cocaine-seeking behavior in rats. Psychopharmacology (Berl.) 168, 57–65. https://doi.org/10.1007/s00213-002-1196-x

Meaney, S., Lütjohann, D., Diczfalusy, U., Björkhem, I., 2000. Formation of oxysterols from different pools of cholesterol as studied by stable isotope technique: cerebral origin of most circulating 24S-hydroxycholesterol in rats, but not in mice. Biochim. Biophys. Acta 1486, 293–298. https://doi.org/10.1016/s1388-1981(00)00070-6

Menzaghi, F., Rassnick, S., Heinrichs, S., Baldwin, H., Pich, E.M., Weiss, F., Koob, G.F., 1994. The role of corticotropin-releasing factor in the anxiogenic effects of ethanol withdrawal. Ann. N. Y. Acad. Sci. 739, 176–184. https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1994.tb19819.x

Milagre, I., Nunes, M.J., Castro-Caldas, M., Moutinho, M., Gama, M.J., Rodrigues, E., 2012. Neuronal differentiation alters the ratio of Sp transcription factors recruited to the CYP46A1 promoter. J. Neurochem. 120, 220–229. https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2011.07577.x

Milagre, I., Nunes, M.J., Gama, M.J., Silva, R.F., Pascussi, J.M., Lechner, M.C., Rodrigues, E., 2008. Transcriptional regulation of the human CYP46A1 brain-specific expression by Sp transcription factors. J. Neurochem. 106, 835–849. https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2008.05442.x

Millan, E.Z., Furlong, T.M., McNally, G.P., 2010. Accumbens shell-hypothalamus interactions mediate extinction of alcohol seeking. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 30, 4626–4635. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4933-09.2010

Millan, M.J., 1999. The induction of pain: an integrative review. Prog. Neurobiol. 57, 1–164. https://doi.org/10.1016/s0301-0082(98)00048-3

Mitroi, D.N., Pereyra-Gómez, G., Soto-Huelin, B., Senovilla, F., Kobayashi, T., Esteban, J.A., Ledesma, M.D., 2019. NPC1 enables cholesterol mobilization during long-term potentiation that can be restored in Niemann-Pick disease type C by CYP46A1 activation. EMBO Rep. 20, e48143. https://doi.org/10.15252/embr.201948143

Molina-Hernández, M., Téllez-Alcántara, N.P., 2001. Estrus variation in anticonflict effects of midazolam microinjected into septal nuclei in female Wistar rats. Pharmacol. Biochem. Behav. 68, 531–537. https://doi.org/10.1016/S0091-3057(01)00459-2

Morell, P., Jurevics, H., 1996. Origin of cholesterol in myelin. Neurochem. Res. 21, 463–470. https://doi.org/10.1007/BF02527711

Morgan, D., Grant, K.A., Gage, H.D., Mach, R.H., Kaplan, J.R., Prioleau, O., Nader, S.H., Buchheimer, N., Ehrenkaufer, R.L., Nader, M.A., 2002. Social dominance in monkeys: dopamine D2 receptors and cocaine self-administration. Nat. Neurosci. 5, 169–174. https://doi.org/10.1038/nn798

Moussawi, K., Pacchioni, A., Moran, M., Olive, M.F., Gass, J.T., Lavin, A., Kalivas, P.W., 2009. N-Acetylcysteine reverses cocaine-induced metaplasticity. Nat. Neurosci. 12, 182–189. https://doi.org/10.1038/nn.2250

Moutinho, M., Nunes, M.J., Rodrigues, E., 2016. Cholesterol 24-hydroxylase: Brain cholesterol metabolism and beyond. Biochim. Biophys. Acta 1861, 1911–1920. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2016.09.011

Mueller, D., Stewart, J., 2000. Cocaine-induced conditioned place preference: reinstatement by priming injections of cocaine after extinction. Behav. Brain Res. 115, 39–47. https://doi.org/10.1016/S0166-4328(00)00239-4

Müller, R., Bravo, R., Burckhardt, J., Curran, T., 1984. Induction of c-fos gene and protein by growth factors precedes activation of c-myc. Nature 312, 716–720. https://doi.org/10.1038/312716a0

Muñoz-Cuevas, F.J., Athilingam, J., Piscopo, D., Wilbrecht, L., 2013. Cocaine-induced structural plasticity in frontal cortex correlates with conditioned place preference. Nat. Neurosci. 16, 1367–1369. https://doi.org/10.1038/nn.3498

Murman, D.L., 2015. The Impact of Age on Cognition. Semin. Hear. 36, 111–121. https://doi.org/10.1055/s-0035-1555115

Murray, J.E., Belin, D., Everitt, B.J., 2012. Double dissociation of the dorsomedial and dorsolateral striatal control over the acquisition and performance of cocaine seeking. Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol. 37, 2456–2466. https://doi.org/10.1038/npp.2012.104

Nelson, A.J.D., Killcross, S., 2013. Accelerated habit formation following amphetamine exposure is reversed by D1, but enhanced by D2, receptor antagonists. Front. Neurosci. 7, 76. https://doi.org/10.3389/fnins.2013.00076

Nestler, E.J., 2013. ΔFosB: a Molecular Switch for Reward. J. Drug Alcohol Res. 2, 1–11. https://doi.org/10.4303/jdar/235651

Nestler, E.J., 2001. Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. Nat. Rev. Neurosci. 2, 119–128. https://doi.org/10.1038/35053570

Nestler, E.J., Barrot, M., Self, D.W., 2001. DeltaFosB: a sustained molecular switch for addiction. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 98, 11042–11046. https://doi.org/10.1073/pnas.191352698

Nicolas, C., Zlebnik, N.E., Farokhnia, M., Leggio, L., Ikemoto, S., Shaham, Y., 2022. Sex Differences in Opioid and Psychostimulant Craving and Relapse: A Critical Review. Pharmacol. Rev. 74, 119–140. https://doi.org/10.1124/pharmrev.121.000367

Nordquist, R.E., Voorn, P., de Mooij-van Malsen, J.G., Joosten, R.N.J.M.A., Pennartz, C.M.A., Vanderschuren, L.J.M.J., 2007. Augmented reinforcer value and accelerated habit formation after repeated amphetamine treatment. Eur. Neuropsychopharmacol. J. Eur. Coll. Neuropsychopharmacol. 17, 532–540. https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2006.12.005

Norrholm, S.D., Bibb, J.A., Nestler, E.J., Ouimet, C.C., Taylor, J.R., Greengard, P., 2003. Cocaine-induced proliferation of dendritic spines in nucleus accumbens is dependent on the activity of cyclin-dependent kinase-5. Neuroscience 116, 19–22. https://doi.org/10.1016/s0306-4522(02)00560-2

Nothdurfter, C., Tanasic, S., Di Benedetto, B., Uhr, M., Wagner, E.-M., Gilling, K.E., Parsons, C.G., Rein, T., Holsboer, F., Rupprecht, R., Rammes, G., 2013. Lipid raft integrity affects GABAA receptor, but not NMDA receptor modulation by psychopharmacological compounds. Int. J. Neuropsychopharmacol. 16, 1361–1371. https://doi.org/10.1017/S146114571200140X

Nowaczyk, M.J.M., Irons, M.B., 2012. Smith-Lemli-Opitz syndrome: phenotype, natural history, and epidemiology. Am. J. Med. Genet. C Semin. Med. Genet. 160C, 250–262. https://doi.org/10.1002/ajmg.c.31343

Nye, H.E., Hope, B.T., Kelz, M.B., Iadarola, M., Nestler, E.J., 1995. Pharmacological studies of the regulation of chronic FOS-related antigen induction by cocaine in the striatum and nucleus accumbens. J. Pharmacol. Exp. Ther. 275, 1671–1680.

O'Brien, C.P., Childress, A.R., McLellan, A.T., Ehrman, R., 1992. A learning model of addiction. Res. Publ. - Assoc. Res. Nerv. Ment. Dis. 70, 157–177.

Olausson, P., Jentsch, J.D., Tronson, N., Neve, R.L., Nestler, E.J., Taylor, J.R., 2006. ΔFosB in the Nucleus Accumbens Regulates Food-Reinforced Instrumental Behavior and Motivation. J. Neurosci. 26, 9196–9204. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1124-06.2006

Olson, V.G., Zabetian, C.P., Bolanos, C.A., Edwards, S., Barrot, M., Eisch, A.J., Hughes, T., Self, D.W., Neve, R.L., Nestler, E.J., 2005. Regulation of Drug Reward by cAMP Response Element-Binding Protein: Evidence for Two Functionally Distinct Subregions of the Ventral Tegmental Area. J. Neurosci. 25, 5553–5562. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0345-05.2005

Oram, J.F., 2003. HDL Apolipoproteins and ABCA1. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 23, 720–727. https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000054662.44688.9A

Osinga, T., Links, T., Dullaart, R., Pacak, K., Horst-Schrivers, A., Kerstens, M., Kema, I., 2017. Emerging role of dopamine in neovascularization of pheochromocytoma and paraganglioma. FASEB J. 31, fj.201601131R. https://doi.org/10.1096/fj.201601131R

Oswald, K.D., Murdaugh, D.L., King, V.L., Boggiano, M.M., 2011. Motivation for palatable food despite consequences in an animal model of binge eating. Int. J. Eat. Disord. 44, 203–211. https://doi.org/10.1002/eat.20808

Packard, M., Knowlton, B., 2002. Learning and Memory Functions of the Basal Ganglia. Annu. Rev. Neurosci. 25, 563–93. https://doi.org/10.1146/annurev.neuro.25.112701.142937

Pais-Vieira, M., Lima, D., Galhardo, V., 2007. Orbitofrontal cortex lesions disrupt risk assessment in a novel serial decision-making task for rats. Neuroscience 145, 225–231. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2006.11.058

Palle, C., 2019. Bilan RECAP 2018. Paris, OFDT ; www.ofdt.fr.

Panayi, M.C., Killcross, S., 2018. Functional heterogeneity within the rodent lateral orbitofrontal cortex dissociates outcome devaluation and reversal learning deficits. eLife 7, e37357. https://doi.org/10.7554/eLife.37357

Panlilio, L.V., Thorndike, E.B., Schindler, C.W., 2003. Reinstatement of punishment-suppressed opioid self-administration in rats: an alternative model of relapse to drug abuse. Psychopharmacology (Berl.) 168, 229–235. https://doi.org/10.1007/s00213-002-1193-0

Parent, M.-A.L.T., Hottman, D.A., Cheng, S., Zhang, W., McMahon, L.L., Yuan, L.-L., Li, L., 2014. Simvastatin Treatment Enhances NMDAR-Mediated Synaptic Transmission by Upregulating the Surface Distribution of the GluN2B Subunit. Cell. Mol. Neurobiol. 34, 693–705. https://doi.org/10.1007/s10571-014-0051-z

Park, W.-K., Bari, A.A., Jey, A.R., Anderson, S.M., Spealman, R.D., Rowlett, J.K., Pierce, R.C., 2002. Cocaine administered into the medial prefrontal cortex reinstates cocaine-seeking behavior by increasing AMPA receptor-mediated glutamate transmission in the nucleus accumbens. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 22, 2916–2925. https://doi.org/20026235

Pascoli, V., Terrier, J., Espallergues, J., Valjent, E., O'Connor, E.C., Lüscher, C., 2014. Contrasting forms of cocaine-evoked plasticity control components of relapse. Nature 509, 459–464. https://doi.org/10.1038/nature13257

Pascoli, V., Terrier, J., Hiver, A., Lüscher, C., 2015. Sufficiency of Mesolimbic Dopamine Neuron Stimulation for the Progression to Addiction. Neuron 88, 1054–1066. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2015.10.017

Patel, T.K., Patel, V.B., Rana, D.G., 2017. Possible anti-depressant effect of efavirenz and pro-depressive-like effect of voriconazole in specified doses in various experimental models of depression in mice. Pharmacol. Rep. PR 69, 1082–1087. https://doi.org/10.1016/j.pharep.2017.04.018

Paterson, N.E., Markou, A., 2003. Increased motivation for self-administered cocaine after escalated cocaine intake. Neuroreport 14, 2229–2232. https://doi.org/10.1097/00001756-200312020-00019

Peak, J., Hart, G., Balleine, B.W., 2019. From learning to action: the integration of dorsal striatal input and output pathways in instrumental conditioning. Eur. J. Neurosci. 49, 658–671. https://doi.org/10.1111/ejn.13964

Peet, D.J., Turley, S.D., Ma, W., Janowski, B.A., Lobaccaro, J.M., Hammer, R.E., Mangelsdorf, D.J., 1998. Cholesterol and bile acid metabolism are impaired in mice lacking the nuclear oxysterol receptor LXR alpha. Cell 93, 693–704. https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81432-4

Pelloux, Y., Dilleen, R., Economidou, D., Theobald, D., Everitt, B.J., 2012. Reduced Forebrain Serotonin Transmission is Causally Involved in the Development of Compulsive Cocaine Seeking in Rats. Neuropsychopharmacology 37, 2505–2514. https://doi.org/10.1038/npp.2012.111

Pelloux, Y., Everitt, B.J., Dickinson, A., 2007. Compulsive drug seeking by rats under punishment: effects of drug taking history. Psychopharmacology (Berl.) 194, 127–137. https://doi.org/10.1007/s00213-007-0805-0

Peng, Z., Deng, B., Jia, J., Hou, W., Hu, S., Deng, J., Lin, W., Hou, L., Sang, H., 2018. Liver X receptor β in the hippocampus: A potential novel target for the treatment of major depressive disorder? Neuropharmacology 135, 514–528. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.04.014

Pentchev, P.G., Brady, R.O., Blanchette-Mackie, E.J., Vanier, M.T., Carstea, E.D., Parker, C.C., Goldin, E., Roff, C.F., 1994. The Niemann-Pick C lesion and its relationship to the intracellular distribution and utilization of LDL cholesterol. Biochim. Biophys. Acta 1225, 235–243. https://doi.org/10.1016/0925-4439(94)90001-9

Perrotti, L.I., Weaver, R.R., Robison, B., Renthal, W., Maze, I., Yazdani, S., Elmore, R.G., Knapp, D.J., Selley, D.E., Martin, B.R., Sim-Selley, L., Bachtell, R.K., Self, D.W., Nestler, E.J., 2008. Distinct patterns of DeltaFosB induction in brain by drugs of abuse. Synap. N. Y. N 62, 358–369. https://doi.org/10.1002/syn.20500

Perry, J.L., Joseph, J.E., Jiang, Y., Zimmerman, R.S., Kelly, T.H., Darna, M., Huettl, P., Dwoskin, L.P., Bardo, M.T., 2011. Prefrontal cortex and drug abuse vulnerability: Translation to prevention and treatment interventions. Brain Res. Rev. 65, 124–149. https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2010.09.001

Peters, J., LaLumiere, R.T., Kalivas, P.W., 2008a. Infralimbic prefrontal cortex is responsible for inhibiting cocaine seeking in extinguished rats. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 28, 6046–6053. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.1045-08.2008

Peters, J., Vallone, J., Laurendi, K., Kalivas, P.W., 2008b. Opposing roles for the ventral prefrontal cortex and the basolateral amygdala on the spontaneous recovery of cocaine-seeking in rats. Psychopharmacology (Berl.) 197, 319–326. https://doi.org/10.1007/s00213-007-1034-2

Petrov, A.M., Mast, N., Li, Y., Denker, J., Pikuleva, I.A., 2020. Brain sterol flux mediated by cytochrome P450 46A1 affects membrane properties and membrane-dependent processes. Brain Commun. 2, fcaa043. https://doi.org/10.1093/braincomms/fcaa043

Petrov, A.M., Pikuleva, I.A., 2019. Cholesterol 24-Hydroxylation by CYP46A1: Benefits of Modulation for Brain Diseases. Neurother. J. Am. Soc. Exp. Neurother. 16, 635–648. https://doi.org/10.1007/s13311-019-00731-6

Pettit, H.O., Ettenberg, A., Bloom, F.E., Koob, G.F., 1984. Destruction of dopamine in the nucleus accumbens selectively attenuates cocaine but not heroin self-administration in rats. Psychopharmacology (Berl.) 84, 167–173. https://doi.org/10.1007/BF00427441

Pettit, H.O., Justice, J.B., 1989. Dopamine in the nucleus accumbens during cocaine self-administration as studied by in vivo microdialysis. Pharmacol. Biochem. Behav. 34, 899–904. https://doi.org/10.1016/0091-3057(89)90291-8

Pfrieger, F.W., Ungerer, N., 2011. Cholesterol metabolism in neurons and astrocytes. Prog. Lipid Res. 50, 357–371. https://doi.org/10.1016/j.plipres.2011.06.002

Pierce, R.C., Kalivas, P.W., 1997. Repeated Cocaine Modifies the Mechanism by which Amphetamine Releases Dopamine. J. Neurosci. 17, 3254–3261. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.17-09-03254.1997

Pierce, R.C., Pierce-Bancroft, A.F., Prasad, B.M., 1999. Neurotrophin-3 contributes to the initiation of behavioral sensitization to cocaine by activating the Ras/Mitogen-activated protein kinase signal transduction cascade. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 19, 8685–8695.

Pikuleva, I., 2021. Targeting cytochrome P450 46A1 and brain cholesterol 24-hydroxylation to treat neurodegenerative diseases. Explor. Neuroprotective Ther. https://doi.org/10.37349/ent.2021.00013

Pikuleva, I.A., 2006. Cytochrome P450s and cholesterol homeostasis. Pharmacol. Ther. 112, 761–773. https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2006.05.014

Pikuleva, I.A., Cartier, N., 2021. Cholesterol Hydroxylating Cytochrome P450 46A1: From Mechanisms of Action to Clinical Applications. Front. Aging Neurosci. 13, 696778. https://doi.org/10.3389/fnagi.2021.696778

Plaznik, A., Jessa, M., Bidzinski, A., Nazar, M., 1994. The effect of serotonin depletion and intra-hippocampal midazolam on rat behavior in the Vogel conflict test. Eur. J. Pharmacol. 257, 293–296. https://doi.org/10.1016/0014-2999(94)90141-4

Popiolek, M., Izumi, Y., Hopper, A.T., Dai, J., Miller, S., Shu, H.-J., Zorumski, C.F., Mennerick, S., 2020. Effects of CYP46A1 Inhibition on Long-Term-Depression in Hippocampal Slices ex vivo and 24S-Hydroxycholesterol Levels in Mice in vivo. Front. Mol. Neurosci. 13.

Praxedes, D.R.S., Silva-Júnior, A.E., Macena, M.L., Oliveira, A.D., Cardoso, K.S., Nunes, L.O., Monteiro, M.B., Melo, I.S.V., Gearhardt, A.N., Bueno, N.B., 2022. Prevalence of food addiction determined by the Yale Food Addiction Scale and associated factors: A systematic review with meta-analysis. Eur. Eat. Disord. Rev. 30, 85–95. https://doi.org/10.1002/erv.2878

Pursey, K.M., Davis, C., Burrows, T.L., 2017. Nutritional Aspects of Food Addiction. Curr. Addict. Rep. 4, 142–150. https://doi.org/10.1007/s40429-017-0139-x

Rabasa, C., Winsa-Jörnulf, J., Vogel, H., Babaei, C.S., Askevik, K., Dickson, S.L., 2016. Behavioral consequences of exposure to a high fat diet during the post-weaning period in rats. Horm. Behav. 85, 56–66. https://doi.org/10.1016/j.yhbeh.2016.07.008

Rada, P., Jensen, K., Hoebel, B.G., 2001. Effects of nicotine and mecamylamine-induced withdrawal on extracellular dopamine and acetylcholine in the rat nucleus accumbens. Psychopharmacology (Berl.) 157, 105–110. https://doi.org/10.1007/s002130100781

Rada, P., Johnson, D.F., Lewis, M.J., Hoebel, B.G., 2004. In alcohol-treated rats, naloxone decreases extracellular dopamine and increases acetylcholine in the nucleus accumbens: evidence of opioid withdrawal. Pharmacol. Biochem. Behav. 79, 599–605. https://doi.org/10.1016/j.pbb.2004.09.011

Rada, P.V., Mark, G.P., Taylor, K.M., Hoebel, B.G., 1996. Morphine and naloxone, i.p. or locally, affect extracellular acetylcholine in the accumbens and prefrontal cortex. Pharmacol. Biochem. Behav. 53, 809–816. https://doi.org/10.1016/0091-3057(95)02078-0

Ramirez, D.M.O., Andersson, S., Russell, D.W., 2008. Neuronal expression and subcellular localization of cholesterol 24-hydroxylase in the mouse brain. J. Comp. Neurol. 507, 1676–1693. https://doi.org/10.1002/cne.21605

Randolph, T.G., 1956. The descriptive features of food addiction; addictive eating and drinking. Q. J. Stud. Alcohol 17, 198–224.

Rassnick, S., Stinus, L., Koob, G.F., 1993. The effects of 6-hydroxydopamine lesions of the nucleus accumbens and the mesolimbic dopamine system on oral self-administration of ethanol in the rat. Brain Res. 623, 16–24. https://doi.org/10.1016/0006-8993(93)90004-7

Reichelt, A.C., Abbott, K.N., Westbrook, R.F., Morris, M.J., 2016. Differential motivational profiles following adolescent sucrose access in male and female rats. Physiol. Behav. 157, 13–19. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2016.01.038

Ren, Z., Sun, W.L., Jiao, H., Zhang, D., Kong, H., Wang, X., Xu, M., 2010. Dopamine D1 and N-methyl-D-aspartate receptors and extracellular signal-regulated kinase mediate neuronal morphological changes induced

by repeated cocaine administration. Neuroscience 168, 48–60. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.03.034

Repa, J.J., Mangelsdorf, D.J., 2000. The role of orphan nuclear receptors in the regulation of cholesterol homeostasis. Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 16, 459–481. https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.16.1.459

Richardson, N.R., Roberts, D.C.S., 1996. Progressive ratio schedules in drug self-administration studies in rats: a method to evaluate reinforcing efficacy. J. Neurosci. Methods 66, 1–11. https://doi.org/10.1016/0165-0270(95)00153-0

Richter, R.M., Weiss, F., 1999. In vivo CRF release in rat amygdala is increased during cocaine withdrawal in self-administering rats - Richter - 1999 - Synapse - Wiley Online Library [WWW Document]. URL https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/(SICI)1098-2396(19990615)32:4%3C254::AID-SYN2%3E3.0.CO;2-H (accessed 6.20.22).

Roberts, D.C.S., Bennett, S.A.L., 1993. Heroin self-administration in rats under a progressive ratio schedule of reinforcement. Psychopharmacology (Berl.) 111, 215–218. https://doi.org/10.1007/BF02245526

Robinson, T.E., Berridge, K.C., 2003. Addiction. Annu. Rev. Psychol. 54, 25–53. https://doi.org/10.1146/annurev.psych.54.101601.145237

Robinson, T.E., Berridge, K.C., 2000. The psychology and neurobiology of addiction: an incentive-sensitization view. Addiction 95, 91–117. https://doi.org/10.1046/j.1360-0443.95.8s2.19.x

Robinson, T.E., Gorny, G., Mitton, E., Kolb, B., 2001. Cocaine self-administration alters the morphology of dendrites and dendritic spines in the nucleus accumbens and neocortex 10.

Robinson, T.E., Kolb, B., 1999. Alterations in the morphology of dendrites and dendritic spines in the nucleus accumbens and prefrontal cortex following repeated treatment with amphetamine or cocaine: Psychostimulant-induced changes in neuronal structure. Eur. J. Neurosci. 11, 1598–1604. https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.1999.00576.x

Rodd-Henricks, Z.A., McKinzie, D.L., Li, T.-K., Murphy, J.M., McBride, W.J., 2002. Cocaine is self-administered into the shell but not the core of the nucleus accumbens of Wistar rats. J. Pharmacol. Exp. Ther. 303, 1216–1226. https://doi.org/10.1124/jpet.102.038950

Rodwell, V.W., Nordstrom, J.L., Mitschelen, J.J., 1976. Regulation of HMG-CoA Reductase, in: Paoletti, R., Kritchevsky, D. (Eds.), Advances in Lipid Research. Elsevier, pp. 1–74. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-024914-5.50008-5

Rossetti, C., Spena, G., Halfon, O., Boutrel, B., 2014. Evidence for a compulsive-like behavior in rats exposed to alternate access to highly preferred palatable food. Addict. Biol. 19, 975–985. https://doi.org/10.1111/adb.12065

Rothman, R.B., Baumann, M.H., Dersch, C.M., Romero, D.V., Rice, K.C., Carroll, F.I., Partilla, J.S., 2001. Amphetamine-type central nervous system stimulants release norepinephrine more potently than they release dopamine and serotonin. Synap. N. Y. N 39, 32–41. https://doi.org/10.1002/1098-2396(20010101)39:1<32::AID-SYN5>3.0.CO;2-3

Rudebeck, P.H., Rich, E.L., 2018. Orbitofrontal cortex. Curr. Biol. 28, R1083–R1088. https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.07.018

Rushworth, M.F.S., Noonan, M.P., Boorman, E.D., Walton, M.E., Behrens, T.E., 2011. Frontal cortex and reward-guided learning and decision-making. Neuron 70, 1054–1069. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2011.05.014

Rushworth, M.F.S., Walton, M.E., Kennerley, S.W., Bannerman, D.M., 2004. Action sets and decisions in the medial frontal cortex. Trends Cogn. Sci. 8, 410–417. https://doi.org/10.1016/j.tics.2004.07.009

Russell, D.W., Halford, R.W., Ramirez, D.M.O., Shah, R., Kotti, T., 2009. Cholesterol 24-hydroxylase: an enzyme of cholesterol turnover in the brain. Annu. Rev. Biochem. 78, 1017–1040. https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.78.072407.103859

Russo, S.J., Nestler, E.J., 2013. The brain reward circuitry in mood disorders. Nat. Rev. Neurosci. 14, 609–625. https://doi.org/10.1038/nrn3381

Sadigh-Eteghad, S., Sabermarouf, B., Majdi, A., Talebi, M., Farhoudi, M., Mahmoudi, J., 2015. Amyloid-beta: a crucial factor in Alzheimer's disease. Med. Princ. Pract. Int. J. Kuwait Univ. Health Sci. Cent. 24, 1–10. https://doi.org/10.1159/000369101

Saheki, A., Terasaki, T., Tamai, I., Tsuji, A., 1994. In vivo and in vitro blood-brain barrier transport of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitors. Pharm. Res. 11, 305–311. https://doi.org/10.1023/a:1018975928974

Saher, G., Brügger, B., Lappe-Siefke, C., Möbius, W., Tozawa, R., Wehr, M.C., Wieland, F., Ishibashi, S., Nave, K.-A., 2005. High cholesterol level is essential for myelin membrane growth. Nat. Neurosci. 8, 468–475. https://doi.org/10.1038/nn1426

Saher, G., Stumpf, S.K., 2015. Cholesterol in myelin biogenesis and hypomyelinating disorders. Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Biol. Lipids 1851, 1083–1094. https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2015.02.010

Sakai, J., Nohturfft, A., Cheng, D., Ho, Y.K., Brown, M.S., Goldstein, J.L., 1997. Identification of Complexes between the COOH-terminal Domains of Sterol Regulatory Element-binding Proteins (SREBPs) and SREBP Cleavage-Activating Protein*. J. Biol. Chem. 272, 20213–20221. https://doi.org/10.1074/jbc.272.32.20213

Sakai, N., Thome, J., Newton, S.S., Chen, J., Kelz, M.B., Steffen, C., Nestler, E.J., Duman, R.S., 2002. Inducible and brain region-specific CREB transgenic mice. Mol. Pharmacol. 61, 1453–1464. https://doi.org/10.1124/mol.61.6.1453

Salaün, C., James, D.J., Chamberlain, L.H., 2004. Lipid rafts and the regulation of exocytosis. Traffic Cph. Den. 5, 255–264. https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2004.0162.x

Salery M, Trifilieff P, Caboche J, Vanhoutte P. From Signaling Molecules to Circuits and Behaviors: Cell-Type-Specific Adaptations to Psychostimulant Exposure in the Striatum. Biol Psychiatry. 2020 Jun 1;87(11):944-953. doi: 10.1016/j.biopsych.2019.11.001. Epub 2019 Nov 9. PMID: 31928716.

Salomon, L., Lanteri, C., Glowinski, J., Tassin, J.-P., 2006. Behavioral sensitization to amphetamine results from an uncoupling between noradrenergic and serotonergic neurons. Proc. Natl. Acad. Sci. 103, 7476–7481. https://doi.org/10.1073/pnas.0600839103

Samara, A., Galbiati, M., Luciani, P., Deledda, C., Messi, E., Alessandra, P., Roberto, M., 2014. Altered expression of 3-betahydroxysterol delta-24-reductase/selective Alzheimer's disease indicator-1 gene in Huntington's disease models | SpringerLink [WWW Document]. URL https://link.springer.com/article/10.1007/s40618-014-0098-1 (accessed 6.18.22).

Sankaram, M.B., Thompson, T.E., 1990. Modulation of phospholipid acyl chain order by cholesterol. A solid-state 2H nuclear magnetic resonance study. Biochemistry 29, 10676–10684. https://doi.org/10.1021/bi00499a015

Sarti, F., Borgland, S.L., Kharazia, V.N., Bonci, A., 2007. Acute cocaine exposure alters spine density and long-term potentiation in the ventral tegmental area. Eur. J. Neurosci. 26, 749–756. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2007.05689.x

Saunders, B.T., Yager, L.M., Robinson, T.E., 2013. Cue-evoked cocaine "craving": role of dopamine in the accumbens core. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 33, 13989–14000. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0450-13.2013

Schenk, S., Gittings, D., 2003. Effects of SCH 23390 and eticlopride on cocaine-seeking produced by cocaine and WIN 35,428 in rats. Psychopharmacology (Berl.) 168, 118–123. https://doi.org/10.1007/s00213-002-1276-y

Schnur, P., 1991. Acute morphine dependence in the hamster. Pharmacol. Biochem. Behav. 38, 711–713. https://doi.org/10.1016/0091-3057(91)90231-p

Schultz, W., 2007. Behavioral dopamine signals. Trends Neurosci. 30, 203–210. https://doi.org/10.1016/j.tins.2007.03.007

Schultz, W., Dayan, P., Montague, P.R., 1997. A neural substrate of prediction and reward. Science 275, 1593–1599. https://doi.org/10.1126/science.275.5306.1593

Schumacher, M.M., Elsabrouty, R., Seemann, J., Jo, Y., DeBose-Boyd, R.A., 2015. The prenyltransferase UBIAD1 is the target of geranylgeraniol in degradation of HMG CoA reductase. eLife 4, e05560. https://doi.org/10.7554/eLife.05560

Schuster, C.R., Thompson, T., 1969. Self Administration of and Behavioral Dependence on Drugs. Annu. Rev. Pharmacol. 9, 483–502. https://doi.org/10.1146/annurev.pa.09.040169.002411

Schweimer, J., Hauber, W., 2006. Dopamine D1 receptors in the anterior cingulate cortex regulate effort-based decision making. Learn. Mem. Cold Spring Harb. N 13, 777–782. https://doi.org/10.1101/lm.409306

Seamans, J.K., Gorelova, N., Durstewitz, D., Yang, C.R., 2001. Bidirectional Dopamine Modulation of GABAergic Inhibition in Prefrontal Cortical Pyramidal Neurons. J. Neurosci. 21, 3628–3638. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.21-10-03628.2001

Sebastião, A.M., Colino-Oliveira, M., Assaife-Lopes, N., Dias, R.B., Ribeiro, J.A., 2013. Lipid rafts, synaptic transmission and plasticity: impact in age-related neurodegenerative diseases. Neuropharmacology 64, 97–107. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.06.053

Self, D.W., Genova, L.M., Hope, B.T., Barnhart, W.J., Spencer, J.J., Nestler, E.J., 1998. Involvement of cAMP-dependent protein kinase in the nucleus accumbens in cocaine self-administration and relapse of cocaine-seeking behavior. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 18, 1848–1859.

Seo, D., Lacadie, C.M., Tuit, K., Hong, K.-I., Constable, R.T., Sinha, R., 2013. Disrupted ventromedial prefrontal function, alcohol craving, and subsequent relapse risk. JAMA Psychiatry 70, 727–739. https://doi.org/10.1001/jamapsychiatry.2013.762

Shaham, Y., Shalev, U., Lu, L., de Wit, H., Stewart, J., 2003. The reinstatement model of drug relapse: history, methodology and major findings. Psychopharmacology (Berl.) 168, 3–20. https://doi.org/10.1007/s00213-002-1224-x

Shaham, Y., Stewart, J., 1994. Exposure to mild stress enhances the reinforcing efficacy of intravenous heroin self-administration in rats. Psychopharmacology (Berl.) 114, 523–527. https://doi.org/10.1007/BF02249346

Shalev, U., Grimm, J., Shaham, Y., 2002. Neurobiology of Relapse to Heroin and Cocaine Seeking: A Review. Pharmacol. Rev. 54, 1–42.

Sharma, S., Fernandes, M.F., Fulton, S., 2013. Adaptations in brain reward circuitry underlie palatable food cravings and anxiety induced by high-fat diet withdrawal. Int. J. Obes. 2005 37, 1183–1191. https://doi.org/10.1038/ijo.2012.197

Shen, H., Toda, S., Moussawi, K., Bouknight, A., Zahm, D.S., Kalivas, P.W., 2009. Altered Dendritic Spine Plasticity in Cocaine-Withdrawn Rats. J. Neurosci. 29, 2876–2884. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5638-08.2009

Siciliano, C.A., Fordahl, S.C., Jones, S.R., 2016. Cocaine Self-Administration Produces Long-Lasting Alterations in Dopamine Transporter Responses to Cocaine. J. Neurosci. 36, 7807–7816. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4652-15.2016

Sierra, S., Ramos, M.C., Molina, P., Esteo, C., Vázquez, J.A., Burgos, J.S., 2011. Statins as neuroprotectants: a comparative in vitro study of lipophilicity, blood-brain-barrier penetration, lowering of brain cholesterol, and decrease of neuron cell death. J. Alzheimers Dis. JAD 23, 307–318. https://doi.org/10.3233/JAD-2010-101179

Simons, K., Toomre, D., 2000. Lipid rafts and signal transduction. Nat. Rev. Mol. Cell Biol. 1, 31–39. https://doi.org/10.1038/35036052

Sleat, D.E., Wiseman, J.A., El-Banna, M., Price, S.M., Verot, L., Shen, M.M., Tint, G.S., Vanier, M.T., Walkley, S.U., Lobel, P., 2004. Genetic evidence for nonredundant functional cooperativity between NPC1 and NPC2 in lipid transport. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 101, 5886–5891. https://doi.org/10.1073/pnas.0308456101

Smiljanic, K., Vanmierlo, T., Mladenovic Djordjevic, A., Perovic, M., Ivkovic, S., Lütjohann, D., Kanazir, S., 2014. Cholesterol metabolism changes under long-term dietary restrictions while the cholesterol homeostasis remains unaffected in the cortex and hippocampus of aging rats. Age 36, 9654. https://doi.org/10.1007/s11357-014-9654-z

Smith, K., Virkud, A., Deisseroth, K., Graybiel, A.M., 2012. Reversible online control of habitual behavior by optogenetic perturbation of medial prefrontal cortex | PNAS [WWW Document]. URL https://www.pnas.org/doi/10.1073/pnas.1216264109 (accessed 6.19.22).

Smith, K.S., Graybiel, A.M., 2013. A Dual Operator View of Habitual Behavior Reflecting Cortical and Striatal Dynamics. Neuron 79, 361–374. https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.05.038

Smith, R.J., Laiks, L.S., 2018. Behavioral and neural mechanisms underlying habitual and compulsive drug seeking. Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry 87, 11–21. https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2017.09.003

Sodero, A.O., Trovò, L., Iannilli, F., Van Veldhoven, P., Dotti, C.G., Martin, M.G., 2011. Regulation of tyrosine kinase B activity by the Cyp46/cholesterol loss pathway in mature hippocampal neurons: relevance for neuronal survival under stress and in aging. J. Neurochem. 116, 747–755. https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2010.07079.x

Solinas, M., Panlilio, L.V., Antoniou, K., Pappas, L.A., Goldberg, S.R., 2003. The Cannabinoid CB1 Antagonist *N*-Piperidinyl-5-(4-chlorophenyl)-1-(2,4-dichlorophenyl) -4-methylpyrazole-3-carboxamide (SR-141716A) Differentially Alters the Reinforcing Effects of Heroin under Continuous Reinforcement, Fixed Ratio, and Progressive Ratio Schedules of Drug Self-Administration in Rats. J. Pharmacol. Exp. Ther. 306, 93–102. https://doi.org/10.1124/jpet.102.047928

Solinas, M., Thiriet, N., El Rawas, R., Lardeux, V., Jaber, M., 2009. Environmental enrichment during early stages of life reduces the behavioral, neurochemical, and molecular effects of cocaine. Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol. 34, 1102–1111. https://doi.org/10.1038/npp.2008.51

Song, B.-L., Javitt, N.B., DeBose-Boyd, R.A., 2005a. Insig-mediated degradation of HMG CoA reductase stimulated by lanosterol, an intermediate in the synthesis of cholesterol. Cell Metab. 1, 179–189. https://doi.org/10.1016/j.cmet.2005.01.001

Song, B.-L., Sever, N., DeBose-Boyd, R.A., 2005b. Gp78, a membrane-anchored ubiquitin ligase, associates with Insig-1 and couples sterol-regulated ubiquitination to degradation of HMG CoA reductase. Mol. Cell 19, 829–840. https://doi.org/10.1016/j.molcel.2005.08.009

Song, Z., Xie, W., Chen, S., Strong, J.A., Print, M.S., Wang, J.I., Shareef, A.F., Ulrich-Lai, Y.M., Zhang, J.-M., 2017. High-fat diet increases pain behaviors in rats with or without obesity. Sci. Rep. 7, 10350. https://doi.org/10.1038/s41598-017-10458-z

Sorkina, T., Caltagarone, J., Sorkin, A., 2013. Flotillins regulate membrane mobility of the dopamine transporter but are not required for its protein kinase C dependent endocytosis. Traffic Cph. Den. 14, 709–724. https://doi.org/10.1111/tra.12059

Spealman, R.D., Barrett-Larimore, R.L., Rowlett, J.K., Platt, D.M., Khroyan, T.V., 1999. Pharmacological and environmental determinants of relapse to cocaine-seeking behavior. Pharmacol. Biochem. Behav. 64, 327–336. https://doi.org/10.1016/s0091-3057(99)00049-0

Spilka, S., Richard, J.-B., Le Nézet, O., Janssen, E., Brissot, A., Philippon, A., Shah, J., Chyderiotis, S., Andler, R., Cogordan, C., 2018. Les niveaux d'usage des drogues illicites en France en 2017.

Stafford, D., LeSage, M.G., Glowa, J.R., 1998. Progressive-ratio schedules of drug delivery in the analysis of drug self-administration: a review. Psychopharmacology (Berl.) 139, 169–184. https://doi.org/10.1007/s002130050702

Stalnaker, T.A., Cooch, N.K., Schoenbaum, G., 2015. What the orbitofrontal cortex does not do. Nat. Neurosci. 18, 620–627. https://doi.org/10.1038/nn.3982

Staneva, G., Chachaty, C., Wolf, C., Quinn, P.J., 2010. Comparison of the liquid-ordered bilayer phases containing cholesterol or 7-dehydrocholesterol in modeling Smith-Lemli-Opitz syndrome. J. Lipid Res. 51, 1810–1822. https://doi.org/10.1194/jlr.M003467

Stankeviciute, N.M., Scofield, M.D., Kalivas, P.W., Gipson, C.D., 2014. Rapid, transient potentiation of dendritic spines in context-induced relapse to cocaine seeking. Addict. Biol. 19, 972–974. https://doi.org/10.1111/adb.12064

Stark, H.C., Weinberger, O., Weinberger, J., 1992. Common double- and single-stranded DNA binding factor for a sterol regulatory element. Proc. Natl. Acad. Sci. 89, 2180–2184. https://doi.org/10.1073/pnas.89.6.2180

Stewart, J., 2008. Review. Psychological and neural mechanisms of relapse. Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 363, 3147–3158. https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0084

St-Hilaire, M., Tremblay, P.-O., Lévesque, D., Barden, N., Rouillard, C., 2003. Effects of Cocaine on c-Fos and NGFI-B mRNA Expression in Transgenic Mice Underexpressing Glucocorticoid Receptors. Neuropsychopharmacology 28, 478–489. https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300067

Stice, E., Yokum, S., 2016. Neural vulnerability factors that increase risk for future weight gain. Psychol. Bull. 142, 447–471. https://doi.org/10.1037/bul0000044

Stice, E., Yokum, S., Blum, K., Bohon, C., 2010. Weight Gain Is Associated with Reduced Striatal Response to Palatable Food. J. Neurosci. 30, 13105–13109. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.2105-10.2010

Strazielle, N., Ghersi-Egea, J.F., 2013. Physiology of blood-brain interfaces in relation to brain disposition of small compounds and macromolecules. Mol. Pharm. 10, 1473–1491. https://doi.org/10.1021/mp300518e

Stretch, R., Gerber, G.J., Wood, S.M., 1971. Factors affecting behavior maintained by response-contingent intravenous infusions of amphetamine in squirrel monkeys. Can. J. Physiol. Pharmacol. 49, 581–589. https://doi.org/10.1139/y71-075

Sun, M.-Y., Izumi, Y., Benz, A., Zorumski, C.F., Mennerick, S., 2016. Endogenous 24S-hydroxycholesterol modulates NMDAR-mediated function in hippocampal slices. J. Neurophysiol. 115, 1263–1272. https://doi.org/10.1152/jn.00890.2015

Suzuki, T., Zhang, J., Miyazawa, S., Liu, Q., Farzan, M.R., Yao, W.-D., 2011. Association of membrane rafts and postsynaptic density: proteomics, biochemical, and ultrastructural analyses. J. Neurochem. 119, 64–77. https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2011.07404.x

Svennerholm, L., Boström, K., Jungbjer, B., 1997. Changes in weight and compositions of major membrane components of human brain during the span of adult human life of Swedes. Acta Neuropathol. (Berl.) 94, 345–352. https://doi.org/10.1007/s004010050717

Tapert, S.F., Brown, G.G., Baratta, M.V., Brown, S.A., 2004. fMRI BOLD response to alcohol stimuli in alcohol dependent young women. Addict. Behav. 29, 33–50. https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2003.07.003

Teegarden, S.L., Bale, T.L., 2007. Decreases in dietary preference produce increased emotionality and risk for dietary relapse. Biol. Psychiatry 61, 1021–1029. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2006.09.032

Teegarden, S.L., Nestler, E.J., Bale, T.L., 2008. Delta FosB-mediated alterations in dopamine signaling are normalized by a palatable high-fat diet. Biol. Psychiatry 64, 941–950. https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2008.06.007

Tepper, J.M., Abercrombie, E.D., Bolam, J.P., 2007. Basal ganglia macrocircuits. Prog. Brain Res. 160, 3–7. https://doi.org/10.1016/S0079-6123(06)60001-0

Thanos, P.K., Volkow, N.D., Freimuth, P., Umegaki, H., Ikari, H., Roth, G., Ingram, D.K., Hitzemann, R., 2001. Overexpression of dopamine D2 receptors reduces alcohol self-administration. J. Neurochem. 78, 1094–1103. https://doi.org/10.1046/j.1471-4159.2001.00492.x

Thomas, K.L., Arroyo, M., Everitt, B.J., 2003. Induction of the learning and plasticity-associated gene Zif268 following exposure to a discrete cocaine-associated stimulus. Eur. J. Neurosci. 17, 1964–1972. https://doi.org/10.1046/j.1460-9568.2003.02617.x

Thompson, T., Schuster, C.R., 1964. Morphine self-administration, food-reinforced, and avoidance behaviors in rhesus monkeys. Psychopharmacologia 5, 87–94. https://doi.org/10.1007/BF00413045

Thomsen, M., Caine, S.B., 2005. Chronic Intravenous Drug Self-Administration in Rats and Mice. Curr. Protoc. Neurosci. 32. https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0920s32

Tracy, A.L., Wee, C.J.M., Hazeltine, G.E., Carter, R.A., 2015. Characterization of attenuated food motivation in high-fat diet-induced obesity: Critical roles for time on diet and reinforcer familiarity. Physiol. Behav. 141, 69–77. https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.01.008

Turley, S.D., Burns, D.K., Rosenfeld, C.R., Dietschy, J.M., 1996. Brain does not utilize low density lipoprotein-cholesterol during fetal and neonatal development in the sheep. J. Lipid Res. 37, 1953–1961.

Tynan, R.J., Beynon, S.B., Hinwood, M., Johnson, S.J., Nilsson, M., Woods, J.J., Walker, F.R., 2013. Chronic stress-induced disruption of the astrocyte network is driven by structural atrophy and not loss of astrocytes. Acta Neuropathol. (Berl.) 126, 75–91. https://doi.org/10.1007/s00401-013-1102-0

Tzschentke, T.M., 1998. Measuring reward with the conditioned place preference paradigm: a comprehensive review of drug effects, recent progress and new issues. Prog. Neurobiol. 56, 613–672. https://doi.org/10.1016/S0301-0082(98)00060-4

Ulrich-Lai, Y.M., Fulton, S., Wilson, M., Petrovich, G., Rinaman, L., 2015. Stress exposure, food intake and emotional state. Stress Amst. Neth. 18, 381–399. https://doi.org/10.3109/10253890.2015.1062981

Urano, Y., Ochiai, S., Noguchi, N., 2013. Suppression of amyloid-β production by 24S-hydroxycholesterol via inhibition of intracellular amyloid precursor protein trafficking - Urano - 2013 - The FASEB Journal - Wiley Online Library [WWW Document]. URL https://faseb.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1096/fj.13-231456 (accessed 6.18.22).

Uylings, H.B.M., Groenewegen, H.J., Kolb, B., 2003. Do rats have a prefrontal cortex? Behav. Brain Res. 146, 3–17. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2003.09.028

Valenza, M., Leoni, V., Karasinska, J.M., Petricca, L., Fan, J., Carroll, J., Pouladi, M.A., Fossale, E., Nguyen, H.P., Riess, O., MacDonald, M., Wellington, C., DiDonato, S., Hayden, M., Cattaneo, E., 2010. Cholesterol Defect Is Marked across Multiple Rodent Models of Huntington's Disease and Is Manifest in Astrocytes. J. Neurosci. 30, 10844–10850. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0917-10.2010

Valenza, M., Leoni, V., Tarditi, A., Mariotti, C., Björkhem, I., Di Donato, S., Cattaneo, E., 2007. Progressive dysfunction of the cholesterol biosynthesis pathway in the R6/2 mouse model of Huntington's disease. Neurobiol. Dis. 28, 133–142. https://doi.org/10.1016/j.nbd.2007.07.004

Valenza, M., Rigamonti, D., Goffredo, D., Zuccato, C., Fenu, S., Jamot, L., Strand, A., Tarditi, A., Woodman, B., Racchi, M., Mariotti, C., Di Donato, S., Corsini, A., Bates, G., Pruss, R., Olson, J.M., Sipione, S., Tartari, M., Cattaneo, E., 2005. Dysfunction of the cholesterol biosynthetic pathway in Huntington's disease. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 25, 9932–9939. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3355-05.2005

Valjent, E., Corvol, J.C., Pages, C., Besson, M.J., Maldonado, R., Caboche, J., 2000. Involvement of the extracellular signal-regulated kinase cascade for cocaine-rewarding properties. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 20, 8701–8709.

Valjent, E., Pagès, C., Hervé, D., Girault, J.-A., Caboche, J., 2004. Addictive and non-addictive drugs induce distinct and specific patterns of ERK activation in mouse brain. Eur. J. Neurosci. 19, 1826–1836. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03278.x

van der Kant, R., Goldstein, L.S.B., Ossenkoppele, R., 2020. Amyloid-β-independent regulators of tau pathology in Alzheimer disease. Nat. Rev. Neurosci. 21, 21–35. https://doi.org/10.1038/s41583-019-0240-3

van der Kant, R., Langness, V.F., Herrera, C.M., Williams, D.A., Fong, L.K., Leestemaker, Y., Steenvoorden, E., Rynearson, K.D., Brouwers, J.F., Helms, J.B., Ovaa, H., Giera, M., Wagner, S.L., Bang, A.G., Goldstein,

L.S.B., 2019. Cholesterol Metabolism Is a Druggable Axis that Independently Regulates Tau and Amyloid-β in iPSC-Derived Alzheimer's Disease Neurons. Cell Stem Cell 24, 363-375.e9. https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.12.013

van der Wulp, M.Y.M., Verkade, H.J., Groen, A.K., 2013. Regulation of cholesterol homeostasis. Mol. Cell. Endocrinol. 368, 1–16. https://doi.org/10.1016/j.mce.2012.06.007

van Domburg, P.H., ten Donkelaar, H.J., 1991. The human substantia nigra and ventral tegmental area. A neuroanatomical study with notes on aging and aging diseases. Adv. Anat. Embryol. Cell Biol. 121, 1–132.

Vanderschuren, L.J.M.J., Di Ciano, P., Everitt, B.J., 2005. Involvement of the dorsal striatum in cue-controlled cocaine seeking. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 25, 8665–8670. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0925-05.2005

Vanderschuren, L.J.M.J., Everitt, B.J., 2004. Drug Seeking Becomes Compulsive After Prolonged Cocaine Self-Administration. Science 305, 1017–1019. https://doi.org/10.1126/science.1098975

Vanmierlo, T., Rutten, K., Dederen, J., Bloks, V.W., van Vark-van der Zee, L.C., Kuipers, F., Kiliaan, A., Blokland, A., Sijbrands, E.J.G., Steinbusch, H., Prickaerts, J., Lütjohann, D., Mulder, M., 2011. Liver X receptor activation restores memory in aged AD mice without reducing amyloid. Neurobiol. Aging 32, 1262–1272. https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2009.07.005

Vendruscolo, L.F., Gueye, A.B., Darnaudéry, M., Ahmed, S.H., Cador, M., 2010. Sugar overconsumption during adolescence selectively alters motivation and reward function in adult rats. PloS One 5, e9296. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009296

Venkateswaran, A., Laffitte, B.A., Joseph, S.B., Mak, P.A., Wilpitz, D.C., Edwards, P.A., Tontonoz, P., 2000. Control of cellular cholesterol efflux by the nuclear oxysterol receptor LXR alpha - PubMed [WWW Document]. URL https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11035776/ (accessed 7.18.22).

Vialou, V., Robison, A.J., Laplant, Q.C., Covington, H.E., Dietz, D.M., Ohnishi, Y.N., Mouzon, E., Rush, A.J., Watts, E.L., Wallace, D.L., Iñiguez, S.D., Ohnishi, Y.H., Steiner, M.A., Warren, B.L., Krishnan, V., Bolaños, C.A., Neve, R.L., Ghose, S., Berton, O., Tamminga, C.A., Nestler, E.J., 2010. DeltaFosB in brain reward circuits mediates resilience to stress and antidepressant responses. Nat. Neurosci. 13, 745–752. https://doi.org/10.1038/nn.2551

Vitali, C., Wellington, C.L., Calabresi, L., 2014. HDL and cholesterol handling in the brain. Cardiovasc. Res. 103, 405–413. https://doi.org/10.1093/cvr/cvu148

Vogel, J.R., Beer, B., Clody, D.E., 1971. A simple and reliable conflict procedure for testing anti-anxiety agents. Psychopharmacologia 21, 1–7. https://doi.org/10.1007/BF00403989

Vogt, B.A., Vogt, L.J., Nimchinsky, E.A., Hof, P.R., 1997. Chapter VIII Primate cingulate cortex chemoarchitecture and its disruption in Alzheimer's disease, in: Bloom, F.E., Björklund, A., Hökfelt, T. (Eds.), Handbook of Chemical Neuroanatomy, The Primate Nervous System, Part I. Elsevier, pp. 455–528. https://doi.org/10.1016/S0924-8196(97)80010-3

Volkow, N.D., Fowler, J.S., Wang, G.J., Baler, R., Telang, F., 2009. Imaging dopamine's role in drug abuse and addiction. Neuropharmacology 56 Suppl 1, 3–8. https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2008.05.022

Volkow, N.D., Fowler, J.S., Wang, G.-J., Swanson, J.M., Telang, F., 2007. Dopamine in drug abuse and addiction: results of imaging studies and treatment implications. Arch. Neurol. 64, 1575–1579. https://doi.org/10.1001/archneur.64.11.1575

Volkow, N.D., Fowler, J.S., Wolf, A.P., Schlyer, D., Shiue, C.Y., Alpert, R., Dewey, S.L., Logan, J., Bendriem, B., Christman, D., 1990. Effects of chronic cocaine abuse on postsynaptic dopamine receptors. Am. J. Psychiatry 147, 719–724. https://doi.org/10.1176/ajp.147.6.719

Volkow, N.D., Morales, M., 2015. The Brain on Drugs: From Reward to Addiction. Cell 162, 712–725. https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.07.046

Volkow, N.D., Wang, G.-J., Begleiter, H., Porjesz, B., Fowler, J.S., Telang, F., Wong, C., Ma, Y., Logan, J., Goldstein, R., Alexoff, D., Thanos, P.K., 2006. High levels of dopamine D2 receptors in unaffected members of alcoholic families: possible protective factors. Arch. Gen. Psychiatry 63, 999–1008. https://doi.org/10.1001/archpsyc.63.9.999

Volkow, N.D., Wang, G.-J., Telang, F., Fowler, J.S., Thanos, P.K., Logan, J., Alexoff, D., Ding, Y.-S., Wong, C., Ma, Y., Pradhan, K., 2008. Low dopamine striatal D2 receptors are associated with prefrontal metabolism in obese subjects: possible contributing factors. NeuroImage 42, 1537–1543. https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2008.06.002

Vonsattel, J.P., Myers, R.H., Stevens, T.J., Ferrante, R.J., Bird, E.D., Richardson, E.P., 1985. Neuropathological classification of Huntington's disease. J. Neuropathol. Exp. Neurol. 44, 559–577. https://doi.org/10.1097/00005072-198511000-00003

Wahrle, S., Das, P., Nyborg, A.C., McLendon, C., Shoji, M., Kawarabayashi, T., Younkin, L.H., Younkin, S.G., Golde, T.E., 2002. Cholesterol-dependent gamma-secretase activity in buoyant cholesterol-rich membrane microdomains. Neurobiol. Dis. 9, 11–23. https://doi.org/10.1006/nbdi.2001.0470

Walters, C.L., Blendy, J.A., 2001. Different requirements for cAMP response element binding protein in positive and negative reinforcing properties of drugs of abuse. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 21, 9438–9444.

Wang, J., Freire, D., Knable, L., Zhao, W., Gong, B., Mazzola, P., Ho, L., Levine, S., Pasinetti, G.M., 2015. Childhood and adolescent obesity and long-term cognitive consequences during aging. J. Comp. Neurol. 523, 757–768. https://doi.org/10.1002/cne.23708

Wang, Y., Rogers, P.M., Su, C., Varga, G., Stayrook, K.R., Burris, T.P., 2008. Regulation of Cholesterologenesis by the Oxysterol Receptor, LXRα *. J. Biol. Chem. 283, 26332–26339. https://doi.org/10.1074/jbc.M804808200

Wang, Y., Thiele1, C., Huttner, W., 2000. Cholesterol is Required for the Formation of Regulated and Constitutive Secretory Vesicles from the trans-Golgi Network. Traffic. https://doi.org/10.1034/j.1600-0854.2000.011205.x

Waterham, H.R., Wanders, R.J., 2000. Biochemical and genetic aspects of 7-dehydrocholesterol reductase and Smith-Lemli-Opitz syndrome. Biochim. Biophys. Acta 1529, 340–356. https://doi.org/10.1016/s1388-1981(00)00159-1

Weeks, J.R., 1962. Experimental morphine addiction: method for automatic intravenous injections in unrestrained rats. Science 138, 143–144. https://doi.org/10.1126/science.138.3537.143

Weiss, F., Maldonado-Vlaar, C.S., Parsons, L.H., Kerr, T.M., Smith, D.L., Ben-Shahar, O., 2000. Control of cocaine-seeking behavior by drug-associated stimuli in rats: effects on recovery of extinguished operant-responding and extracellular dopamine levels in amygdala and nucleus accumbens. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 97, 4321–4326. https://doi.org/10.1073/pnas.97.8.4321

Weissenborn, R., Deroche, V., Koob, G.F., Weiss, F., 1996. Effects of dopamine agonists and antagonists on cocaine-induced operant responding for a cocaine-associated stimulus. Psychopharmacology (Berl.) 126, 311–322. https://doi.org/10.1007/BF02247382

Wise, R.A., 1978. Catecholamine theories of reward: a critical review. Brain Res. 152, 215–247. https://doi.org/10.1016/0006-8993(78)90253-6

Wojnicki, F.H.E., Roberts, D.C.S., Corwin, R.L.W., 2006. Effects of baclofen on operant performance for food pellets and vegetable shortening after a history of binge-type behavior in non-food deprived rats. Pharmacol. Biochem. Behav. 84, 197–206. https://doi.org/10.1016/j.pbb.2006.04.015

Wolf, M.E., 2016. Synaptic mechanisms underlying persistent cocaine craving. Nat. Rev. Neurosci. 17, 351–365. https://doi.org/10.1038/nrn.2016.39

Wolf, M.E., Roth, R.H., 1990. Autoreceptor regulation of dopamine synthesis. Ann. N. Y. Acad. Sci. 604, 323–343. https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1990.tb32003.x

Wong, A., Dogra, V.R., Reichelt, A.C., 2017. High-sucrose diets in male rats disrupt aspects of decision making tasks, motivation and spatial memory, but not impulsivity measured by operant delay-discounting. Behav. Brain Res. 327, 144–154. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.03.029

Xia, Y., Goebel, D.J., Kapatos, G., Bannon, M.J., 1992. Quantitation of rat dopamine transporter mRNA: effects of cocaine treatment and withdrawal. J. Neurochem. 59, 1179–1182. https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1992.tb08365.x

Xiong, H., Callaghan, D., Jones, A., Bai, J., Rasquinha, I., Smith, C., Pei, K., Walker, D., Lue, L.-F., Stanimirovic, D., Zhang, W., 2009. ABCG2 is upregulated in Alzheimer's brain with cerebral amyloid angiopathy and may act as a gatekeeper at the blood-brain barrier for Abeta(1-40) peptides. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 29, 5463–5475. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5103-08.2009

Xu, Q., Bernardo, A., Walker, D., Kanegawa, T., Mahley, R.W., Huang, Y., 2006. Profile and regulation of apolipoprotein E (ApoE) expression in the CNS in mice with targeting of green fluorescent protein gene to the ApoE locus. J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci. 26, 4985–4994. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5476-05.2006

Yager, L.M., Garcia, A.F., Wunsch, A.M., Ferguson, S.M., 2015. The ins and outs of the striatum: Role in drug addiction. Neuroscience 301, 529–541. https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.06.033

Yamaguchi, M., Suzuki, T., Abe, S., Hori, T., Kurita, H., Asada, T., Okado, N., Arai, H., 2002. Repeated cocaine administration differentially affects NMDA receptor subunit (NR1, NR2A-C) mRNAs in rat brain. Synap. N. Y. N 46, 157–169. https://doi.org/10.1002/syn.10132

Yamamoto, D.J., Zahniser, N.R., 2012. Differences in Rat Dorsal Striatal NMDA and AMPA Receptors following Acute and Repeated Cocaine-Induced Locomotor Activation. PLOS ONE 7, e37673. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037673

Yin, H.H., Knowlton, B.J., 2006. The role of the basal ganglia in habit formation. Nat. Rev. Neurosci. 7, 464–476. https://doi.org/10.1038/nrn1919

Yin, H.H., Knowlton, B.J., 2004. Contributions of striatal subregions to place and response learning. Learn. Mem. Cold Spring Harb. N 11, 459–463. https://doi.org/10.1101/lm.81004

Yin, H.H., Knowlton, B.J., Balleine, B.W., 2005. Blockade of NMDA receptors in the dorsomedial striatum prevents action-outcome learning in instrumental conditioning. Eur. J. Neurosci. 22, 505–512. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2005.04219.x

Yin, H.H., Knowlton, B.J., Balleine, B.W., 2004. Lesions of dorsolateral striatum preserve outcome expectancy but disrupt habit formation in instrumental learning. Eur. J. Neurosci. 19, 181–189. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03095.x

Yin, H.H., Mulcare, S.P., Hilário, M.R.F., Clouse, E., Holloway, T., Davis, M.I., Hansson, A.C., Lovinger, D.M., Costa, R.M., 2009. Dynamic reorganization of striatal circuits during the acquisition and consolidation of a skill. Nat. Neurosci. 12, 333–341. https://doi.org/10.1038/nn.2261

Yin, H.H., Ostlund, S.B., Balleine, B.W., 2008. Reward-guided learning beyond dopamine in the nucleus accumbens: the integrative functions of cortico-basal ganglia networks. Eur. J. Neurosci. 28, 1437–1448. https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2008.06422.x

Young, S.T., Porrino, L.J., Iadarola, M.J., 1991. Cocaine induces striatal c-fos-immunoreactive proteins via dopaminergic D1 receptors. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 88, 1291–1295.

Yu, T., Shakkottai, V.G., Chung, C., Lieberman, A.P., 2011. Temporal and cell-specific deletion establishes that neuronal Npc1 deficiency is sufficient to mediate neurodegeneration. Hum. Mol. Genet. 20, 4440–4451. https://doi.org/10.1093/hmg/ddr372

Zahm, D.S., 2000. An integrative neuroanatomical perspective on some subcortical substrates of adaptive responding with emphasis on the nucleus accumbens. Neurosci. Biobehav. Rev. 24, 85–105. https://doi.org/10.1016/s0149-7634(99)00065-2

Zahm, D.S., Brog, J.S., 1992. On the significance of subterritories in the “accumbens” part of the rat ventral striatum. Neuroscience 50, 751–767. https://doi.org/10.1016/0306-4522(92)90202-d

Zapata, A., Minney, V.L., Shippenberg, T.S., 2010. Shift from Goal-Directed to Habitual Cocaine Seeking after Prolonged Experience in Rats. J. Neurosci. 30, 15457–15463. https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4072-10.2010

Zeeb, F., Floresco, S., Winstanley, C., 2010. Contributions of the orbitofrontal cortex to impulsive choice: Interactions with basal levels of impulsivity, dopamine signalling, and reward-related cues. Psychopharmacology (Berl.) 211, 87–98. https://doi.org/10.1007/s00213-010-1871-2

Zelcer, N., Hong, C., Boyadjian, R., Tontonoz, P., 2009. LXR Regulates Cholesterol Uptake through Idol-dependent Ubiquitination of the LDL Receptor. Science 325, 100–104. https://doi.org/10.1126/science.1168974

Zeppelin, T., Ladefoged, L.K., Sinning, S., Periole, X., Schiøtt, B., 2018. A direct interaction of cholesterol with the dopamine transporter prevents its out-to-inward transition. PLOS Comput. Biol. 14, e1005907. https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005907

Zhou, J., Gardner, M.P.H., Stalnaker, T.A., Ramus, S.J., Wikenheiser, A.M., Niv, Y., Schoenbaum, G., 2019. Rat Orbitofrontal Ensemble Activity Contains Multiplexed but Dissociable Representations of Value and Task Structure in an Odor Sequence Task. Curr. Biol. 29, 897-907.e3. https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.01.048

Ziauddeen, H., Farooqi, I.S., Fletcher, P.C., 2012. Obesity and the brain: how convincing is the addiction model? Nat. Rev. Neurosci. 13, 279–286. https://doi.org/10.1038/nrn3212

RESUME

Durant cette thèse, nous avons développé une nouvelle procédure comportementale auto-ajustable pour étudier le comportement compulsif qui prend en considération le niveau de résistance individuel. Cette procédure, en plus de représenter un raffinement des principes des 3R, a permis de mettre en évidence que les mesures de motivation et de résistance à la punition n'étaient pas corrélées. Cela suggère que les processus neurobiologiques sous-jacents ces mesures sont distincts. Par la suite, nous avons étudié les effets persistants d'une exposition chronique à un régime hyperpalatable, ainsi que le sexe et à l'âge comme des facteurs de vulnérabilités. Les résultats ont montré que ce type de régime, indépendamment de l'âge ou du sexe, diminue la consommation de nourriture standard entre les périodes d'exposition et ne provoque pas de perturbations persistantes de la compulsivité ou de la motivation. L'absence d'effet persistant peut représenter une différence notable entre l'exposition à ce type de régime et l'exposition aux drogues. Enfin, nous avons étudié le rôle du métabolisme du cholestérol cérébral dans l'addiction. Les résultats ont montré qu'une injection aiguë de cocaïne modifie le métabolisme du cholestérol dans le noyau accumbens, le cortex cingulaire antérieur et le striatum dorsal (StD). De plus, la surexpression de la CYP46A1 dans le StD uniquement, a diminué la recherche de cocaïne des animaux. Le métabolisme du cholestérol, spécifiquement dans le StD, peut représenter une cible thérapeutique pour traiter l'addiction.

Mots-clés : cholestérol ; addiction aux drogues ; cocaïne ; addiction à la nourriture ; striatum dorsal ; rechute ; résistance à la punition ; motivation

ABSTRACT

During this thesis, we developed a new self-adjusting behavioral procedure to study compulsive behavior that takes into account the level of individual resistance. This procedure, in addition to representing a refinement of the 3Rs principles, revealed that measures of motivation and resistance to punishment were not correlated. This suggests that the neurobiological processes underlying these measures are distinct. Next, we investigated the persistent effects of chronic exposure to a hyperpalatable diet, as well as gender and age as vulnerability factors. The results showed that this type of diet, irrespective of age or sex, decreases the consumption of standard food between exposure periods and does not cause persistent disturbances in compulsivity or motivation. The lack of a persistent effect may represent a significant difference between exposure to this type of diet and exposure to drugs. Finally, we studied the role of brain cholesterol metabolism in addiction. The results showed that an acute injection of cocaine altered cholesterol metabolism in the nucleus accumbens, anterior cingulate cortex and dorsal striatum (DSt). In addition, overexpression of CYP46A1 in the DSt only, decreased the cocaine seeking. Cholesterol metabolism, specifically in the DSt, may represent a therapeutic target to treat addiction.

Keywords: cholesterol; drug addiction; cocaine; food addiction; dorsal striatum; relapse; resistance to punishment; motivation