

Université de Montréal

**Manipuler la pharmacocinétique de la cocaïne chez le rat pour
comprendre et traiter un phénotype toxicomane**

Par
Florence Allain

Département de Pharmacologie et Physiologie
Faculté de Médecine

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures et postdoctorales
En vue de l'obtention du grade de Docteur en Philosophie (Ph. D)
En Pharmacologie
Option Neuropharmacologie

Décembre 2017

© Florence Allain, 2017

Université de Montréal
Faculté des études supérieures et postdoctorales

Cette thèse intitulée

**Manipuler la pharmacocinétique de la cocaïne chez le rat pour
comprendre et traiter un phénotype toxicomane**

Présentée par
Florence Allain

A été évaluée par un jury composé des membres suivants

Nicole Leclerc

Présidente du jury

Anne-Noël Samaha

Directrice de recherche

Graziella Di Cristo

Membre du jury

Brigitte Kieffer

Examinatrice externe

Richard Robitaille

Représentant de la doyenne de la faculté des études supérieures

RÉSUMÉ

Consommer une drogue ne signifie pas être toxicomane. En effet, cette maladie neuropsychiatrique ne touche qu'une minorité des consommateurs de cocaïne. Alors pourquoi un consommateur de cocaïne va-t-il être capable de garder le contrôle sur sa consommation alors qu'un autre va devenir toxicomane ? En fonction du mode de consommation, le risque d'addiction n'est pas le même puisque la pharmacocinétique de la cocaïne peut être modifiée. Quantité, vitesse et fréquence d'administration sont des variables pharmacocinétiques de la cocaïne très à risque pour le développement d'un phénotype toxicomane. Pendant mon doctorat, je me suis intéressée à modéliser ces différentes variables chez le rat et à en étudier leur impact sur le développement d'une motivation excessive à obtenir la drogue – un symptôme de la toxicomanie. Typiquement, en recherche préclinique sur l'addiction, des rats s'auto-administrent de la cocaïne pendant des sessions prolongées où l'accès à la drogue est continu (rats LgA). Au sein d'une session LgA, les niveaux de cocaïne au cerveau restent donc élevés en continu. Ceci favorise à la fois la consommation d'une grande quantité de cocaïne qui augmente à travers les sessions et le développement de symptômes pertinents à l'addiction. Ainsi, la quantité de drogue consommée a longtemps été considérée comme cause principale de la transition vers l'addiction. Chez des rats qui s'auto-administrent la cocaïne par intermittence (rats IntA), les niveaux de cocaïne au cerveau fluctuent au sein de chaque session. Nous avons limité le nombre d'injections disponibles chez des rats IntA pour maintenir une consommation de cocaïne faible et stable dans le temps. Chez deux groupes de rats IntA qui s'auto-administrent la même quantité de cocaïne, le groupe ayant accès à des injections rapides de cocaïne développe une plasticité neurocomportementale pertinente à l'addiction (motivation excessive pour la cocaïne et dérégulation de l'homéostasie glutamatergique) comparativement au groupe ayant accès à des injections plus lentes. Ainsi, indépendamment de la quantité de drogue consommée, la vitesse d'administration de la cocaïne est critique dans le développement d'un phénotype toxicomane. Nous confirmons par la suite que la motivation pour la cocaïne de rats IntA qui s'auto-administrent des injections rapides de drogue

reste inchangée qu'on limite ou non leur consommation. Ceci suggère que des pics rapides de cocaïne qui arrivent au cerveau (et donc probablement des pics de dopamine) sont bien plus à risque dans la transition vers la toxicomanie qu'une exposition continue et élevée de drogue. En effet, des rats IntA ayant une limite imposée très stricte dans leur consommation deviennent par la suite plus motivés à s'auto-administrer la cocaïne que des rats LgA ayant un accès illimité et continu à la drogue. Pour finir, nous démontrons que co-libérer de l'amphétamine pendant l'auto-administration intermittente de cocaïne est efficace à diminuer la motivation des rats pour la drogue. L'efficacité thérapeutique de l'amphétamine pourrait résulter de sa capacité à aplatir/élargir les pics de dopamine au cerveau. Mieux comprendre le développement d'un phénotype toxicomane en manipulant la pharmacocinétique de la cocaïne est une étape clé pour mieux traiter la toxicomanie.

Mots-clés : Toxicomanie ; Cocaïne ; Auto-administration ; Rats ; Pharmacocinétique ; Accès intermittent ; Accès continu ; Dopamine ; Glutamate ; Amphétamine.

ABSTRACT

Taking a drug does not mean that you are a drug addict. Drug addiction is a neuropsychiatric disorder and only few people who take cocaine will lose control of their consumption. Part of the reason comes from the pattern of drug use, which can change the pharmacokinetics of cocaine. How much, how fast and how often the drug is administered are pharmacokinetic variables of cocaine that can be decisive in the drug addiction process. During my Ph.D. I was interested in modeling these pharmacokinetic variables in rats and determining their impact on the development of an excessive motivation for cocaine – a drug addiction symptom. Typically, in preclinical research on drug addiction, rats can self-administer cocaine continuously during extended sessions (LgA-rats). Within such LgA sessions, high brain cocaine levels are maintained. These elevated cocaine levels promote both the intake of large amounts of cocaine that increase over time and the development of clinically relevant drug addiction symptoms. Thus, taking large amounts of cocaine has long been considered as the principal factor in the transition toward a drug addiction phenotype. In rats that self-administer cocaine intermittently (IntA-rats), brain cocaine levels fluctuate within sessions. We limited the maximum number of cocaine injections available during IntA sessions in order to promote the intake of low levels of cocaine that stay stable over time. In two groups of IntA-rats that self-administer similar amounts of cocaine, those exposed to rapid injections of cocaine developed a neurobehavioral plasticity thought to be relevant to drug addiction (excessive motivation for cocaine and glutamate homeostasis dysregulation) compared to those exposed to slower injections. Thus, independently of the amount of cocaine taken, the speed of cocaine delivery can drastically increase the development of a drug-addiction phenotype. We next showed that motivation for cocaine in IntA-rats that self-administer rapid injections of the drug was the same whether cocaine intake was limited or not. This suggests that rapid spikes in brain cocaine levels (presumably leading to spikes in dopamine levels) pose a greater risk than a continuous and excessive exposition to cocaine for developing drug-addiction symptoms. Indeed, IntA-rats, whose self-administration is strictly limited to very low levels of cocaine, consequently

develop higher motivation for cocaine than LgA-rats with free and continuous access to the drug. Finally, co-release of amphetamine during intermittent cocaine self-administration reduces the motivation for cocaine. This efficacy of amphetamine can be the result of its ability in widening/flattening brain dopamine spikes. A better understanding on the reasons underlying whether or not a drug addiction phenotype develops when we vary the pharmacokinetics of cocaine is a key determinant in developing treatments for drug addiction.

Keywords: Drug addiction; Cocaine; Self-administration; Rats; Pharmacokinetics; Intermittent-access; Long-access; Dopamine; Glutamate; Amphetamine.

TABLE DES MATIÈRES

| | Page |
|----------------------------------|-------------|
| Résumé | i |
| Abstract | iii |
| Liste des Figures | viii |
| Liste des Tableaux | xii |
| Sigles & Abréviations | xiii |
| Remerciements | xv |

CHAPITRES

| | |
|--|----|
| I. Introduction générale | 1 |
| 1. L'addiction à la cocaïne, pourquoi l'étudier ? | 2 |
| 1.1 La cocaïne, historique | 2 |
| 1.2 L'addiction à la cocaïne, un problème de santé publique majeur ! | 2 |
| 1.3 Je consomme donc je suis toxicomane ? | 3 |
| 1.3.1 Définitions et perception de l'addiction | 3 |
| 1.3.2 Établir un diagnostic d'addiction | 5 |
| 1.3.3 Vulnérabilité interindividuelle | 7 |
| 2. Pharmacocinétique et pharmacodynamie de la cocaïne en fonction du mode de consommation | 11 |
| 2.1 Concepts généraux sur la pharmacocinétique | 11 |
| 2.1.1 Relation entre pharmacocinétique et pharmacodynamie | 11 |
| 2.1.2 Modéliser la pharmacocinétique d'une drogue | 11 |
| 2.1.3 Paramètres pharmacocinétiques | 13 |
| 2.2 La cocaïne sous toutes ses formes | 15 |
| 2.2.1 Les feuilles de coca | 15 |
| 2.2.2 La pâte de coca | 16 |
| 2.2.3 Le chlorhydrate de cocaïne ou cocaïne HCl | 16 |
| 2.2.4 La cocaïne 'freebase' et le 'crack' | 17 |
| 2.3 Effets physiologiques et psychologiques de la cocaïne | 18 |

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 2.4 | Impact de la voie d'administration de la cocaïne sur sa pharmacocinétique et sa pharmacodynamie | 19 |
| 2.4.1 | La voie d'administration de la cocaïne comme facteur limitant de son absorption | 19 |
| 2.4.2 | Distribution, métabolisme et élimination de la cocaïne | 21 |
| 2.4.3 | Rapide et efficace | 22 |
| 2.4.4 | Potentiel addictif de la cocaïne en fonction de la voie de son administration | 24 |
| 2.5 | Vers une pharmacocinétique de la cocaïne en pics chez les consommateurs expérimentés | 26 |
| 3. | Renforcement positif versus potentiel addictif de la cocaïne chez l'animal | 30 |
| 3.1 | Évaluer l'effet renforçant d'une drogue en préclinique | 31 |
| 3.1.1 | Les comportementalistes Pavlov et Skinner | 31 |
| 3.1.2 | Préférence de place conditionnée | 32 |
| 3.1.3 | Autostimulation intracrânienne | 33 |
| 3.1.4 | Auto-administration intraveineuse de drogue | 34 |
| 3.2 | Des rats 'toxicomanes' ? | 36 |
| 3.2.1 | Appuyer sur un levier n'est pas synonyme d'addiction ! | 36 |
| 3.2.2 | Consommation type 'binge' et augmentation de la consommation dans le temps | 38 |
| 3.2.3 | Augmentation de la motivation pour la drogue | 41 |
| 3.2.4 | Résistance à l'extinction et réinstallation de la recherche de drogue après extinction | 45 |
| 3.2.5 | Résistance à la punition | 48 |
| 3.2.6 | Une majorité de rats consommateurs pour une minorité de rats 'toxicomanes' | 48 |
| 3.3 | Neuro-adaptations engagées par l'addiction à la cocaïne | 49 |
| 3.3.1 | La dopamine : Relais de l'effet récompensant de la cocaïne | 49 |
| 3.3.2 | Concepts de tolérance versus sensibilisation | 51 |
| 3.3.3 | Homéostasie glutamatergique | 54 |
| 4. | Modéliser la toxicomanie en laboratoire en manipulant la pharmacocinétique de la cocaïne | 58 |
| 4.1 | La <i>quantité</i> de cocaïne consommée : une variable pharmacocinétique critique dans l'établissement d'un phénotype toxicomane | 58 |
| 4.2 | La <i>vitesse</i> d'administration de la cocaïne : une variable pharmacocinétique critique dans l'établissement d'un phénotype toxicomane | 62 |

| | | |
|-------------|--|-----|
| 4.2.1 | Différentes voies d'administration des drogues chez l'animal | 62 |
| 4.2.2 | Une voie d'administration de la cocaïne, la voie intraveineuse, pour différentes vitesses d'injection | 63 |
| 4.2.3 | Variation de la vitesse d'administration de la cocaïne pour promouvoir un phénotype toxicomane | 65 |
| 4.3 | La <i>fréquence</i> de consommation de la cocaïne : une variable pharmacocinétique critique dans l'établissement d'un phénotype toxicomane | 68 |
| II. | Article 1 Intermittent intake of rapid cocaine injections promotes robust psychomotor sensitization, increased incentive motivation for the drug and mGlu2/3 receptor dysregulation | 75 |
| III. | Article 2 High and escalating levels of cocaine intake are dissociable from subsequent incentive motivation for the drug in rats | 114 |
| IV. | Article 3 Revisiting long-access versus short-access cocaine self-administration in rats: intermittent intake promotes addiction symptoms independent of session length | 143 |
| V. | Données non publiées Continuous d-amphetamine treatment during intermittent cocaine intake reduces addiction-like behaviors in rats and prevents sensitized cocaine response at the dopamine transporter | 169 |
| VI. | Discussion générale | 187 |
| | Manipuler la pharmacocinétique de la cocaïne chez le rat pour <i>comprendre</i> un phénotype toxicomane | 188 |
| | Manipuler la pharmacocinétique de la cocaïne chez le rat pour <i>traiter</i> un phénotype toxicomane | 201 |
| | Annexe How fast and how often: The pharmacokinetics of drug use are decisive in addiction | 246 |

LISTE DES FIGURES

| | Page |
|--|-------------|
| CHAPITRE I | |
| Figure 1 Le trafic de cocaïne dans le monde en 2015 | 3 |
| Figure 2 Langage stigmatisant envers la toxicomanie | 4 |
| Figure 3 Facteurs de risque dans la toxicomanie | 9 |
| Figure 4 Pharmacocinétique et pharmacodynamie d'une drogue | 11 |
| Figure 5 Modélisation de la pharmacocinétique d'une drogue | 12 |
| Figure 6 Schéma des niveaux plasmatiques d'une drogue administrée par voie orale ou par voie intraveineuse | 13 |
| Figure 7 Action sympathomimétique de la cocaïne | 18 |
| Figure 8 Arrivée de la cocaïne dans la circulation systémique en fonction de la voie d'administration | 20 |
| Figure 9 Niveaux plasmatiques de cocaïne et réponse physiologique en fonction de la voie d'administration | 23 |
| Figure 10 Représentation d'un schéma de consommation intermittent de cocaïne entre (<i>between</i>) les événements type 'binge' et au sein même (<i>within</i>) de ces événements | 28 |
| Figure 11 Conditionnement pavlovien | 31 |
| Figure 12 Préférence de place conditionnée par la cocaïne | 32 |
| Figure 13 Facilitation de l'autostimulation intracrânienne par la cocaïne | 33 |
| Figure 14 Auto-administration de cocaïne chez le rat | 35 |
| Figure 15 Détermination des paramètres Q_0 , α , O_{max} et P_{max} selon un paradigme d'économie comportementale | 44 |
| Figure 16 Protocole de réinstallation d'un comportement de recherche de drogue après extinction | 46 |
| Figure 17 Compartimentation du glutamate synaptique et du glutamate non synaptique | 54 |
| Figure 18 Schématisation des niveaux de cocaïne au cerveau chez des rats LgA et ShA en fonction du temps | 59 |
| Figure 19 Représentation d'une phase de chargement rapide des niveaux de cocaïne au cerveau suivie d'une phase de maintien | 59 |
| Figure 20 Comparatif entre une session LgA et une session IntA d'auto-administration de cocaïne | 71 |

CHAPITRE II

| | | |
|-----------------|---|----|
| Figure 1 | The sequence of experimental events | 82 |
| Figure 2 | Intake and estimated brain cocaine levels during an intermittent-access drug self-administration session in representative rats from the 5- and 90-s groups, respectively | 89 |
| Figure 3 | Rats in the 5-s and 90-s groups took a similar average amount of cocaine during IntA-sessions, but 5s-rats subsequently showed greater incentive motivation for the drug | 91 |
| Figure 4 | Only 5s-rats showed increased functional coupling of mGluR2/3s to $G_{i/o}$ proteins in the prelimbic cortex (PrL) and the nucleus accumbens (Nac) | 92 |
| Figure 5 | The 5s- and 90s-rats took a similar average amount of cocaine during IntA-sessions, but only the 5s-rats developed robust psychomotor sensitization | 94 |
| Figure 6 | More robust psychomotor sensitization predicts increased incentive motivation for cocaine | 95 |
| Figure 7 | LY379268 preferentially attenuated incentive motivation for cocaine when this motivation was high | 97 |

CHAPITRE III

| | | |
|-----------------|--|-----|
| Figure 1 | The sequence of experimental events | 120 |
| Figure 2 | Rats self-administering cocaine during intermittent-access sessions (IntA) escalate their drug intake within and between sessions | 124 |
| Figure 3 | Rats self-administering cocaine during intermittent-access sessions (IntA) develop a binge-like pattern of drug intake | 126 |
| Figure 4 | Breakpoint for cocaine under a progressive ratio schedule of reinforcement increases with dose and does not significantly correlate with the degree of prior escalation of drug intake or with prior cumulative cocaine intake | 127 |
| Figure 5 | Under intermittent-access conditions (IntA), high and escalating levels of cocaine intake do not promote increased motivation to obtain the drug compared to low and stable levels of intake | 129 |
| Figure 6 | Compared to LgA-rats, IntA-Lim self-administer significantly less cocaine but develop greater incentive motivation to take the drug | 132 |

CHAPITRE IV

| | | |
|-----------------|---|-----|
| Figure 1 | The sequence of experimental events | 151 |
| Figure 2 | Extended IntA-sessions (6 hours) promote high and escalating levels of cocaine intake while shorter IntA-sessions (2 hours) produce low and stable levels of intake | 153 |
| Figure 3 | Rats self-administering cocaine during either extended (6 hours) or shorter (2 hours) IntA-sessions develop a burst-like pattern of cocaine use | 155 |
| Figure 4 | Rats self-administering cocaine during either extended (6 hours) or shorter (2 hours) IntA-sessions develop robust psychomotor sensitization | 156 |
| Figure 5 | Rats with a history of self-administering cocaine during either extended (6 hours) or shorter (2 hours) IntA-sessions show similar levels of incentive motivation for the drug and similar levels of cocaine-primed reinstatement of extinguished drug-seeking behavior after 1 month of abstinence | 158 |

CHAPITRE V

| | | |
|-----------------|---|-----|
| Figure 1 | The sequence of experimental events | 177 |
| Figure 2 | Ctrl-rats and Amph-1 rats self-administer the same amount of cocaine and increase their intake over time, but amphetamine co-release abolishes cocaine-induced spikes in locomotor activity | 178 |
| Figure 3 | Continuous amphetamine release during intermittent cocaine self-administration decreases the development of an excessive motivation for cocaine | 179 |
| Figure 4 | Continuous amphetamine release during intermittent cocaine self-administration decreases cocaine-primed reinstatement of extinguished drug-seeking behavior | 180 |
| Figure 5 | Ctrl-rats continue to escalate their cocaine intake even when amphetamine is co-released | 181 |
| Figure 6 | In cocaine-experienced rats, continuous amphetamine release during intermittent cocaine self-administration decreases the expression of increased motivation for cocaine | 182 |
| Figure 7 | Sensitized cocaine effect at the dopamine transporter promoted by intermittent cocaine self-administration is prevented when amphetamine is co-released | 183 |

CHAPITRE VI

- Figure 1** La livraison rapide de cocaïne au cerveau est un facteur de risque dans le développement de la toxicomanie 191
- Figure 2** Quand l'accès à la cocaïne est intermittent, ni la quantité de drogue consommée, ni l'augmentation de la consommation dans le temps, ni la durée de la session ne limitent le développement d'une motivation excessive pour la drogue 195

Annexe

- Figure 1** The pharmacokinetic profiles of plasma cocaine levels in humans as a function of the route of drug administration 252
- Figure 2** The pharmacokinetic profiles of plasma cocaine levels in rats following intravenous (i.v.) and intraperitoneal (i.p.) administration 256
- Figure 3** Increasing the speed of intravenous cocaine delivery facilitates the development of psychomotor sensitization and promotes c-fos mRNA expression in corticolimbic regions 259
- Figure 4** The effect of manipulating dose on rate of responding and total intake for a group of rats self-administering intravenous injections of various unit doses of cocaine during daily two-hour sessions 264
- Figure 5** The pattern of intake and modelled cocaine levels in the brain for representative animals tested during three distinct self-administration procedures 266
- Figure 6** In rats given extended daily access to cocaine, only those self-administering rapid cocaine injections escalate their drug intake over time 269
- Figure 7** The self-administration of rapid cocaine injections in the past leads to increased motivation to take the drug in the future 272

LISTE DES TABLEAUX

Page

CHAPITRE I

| | | |
|--------------------|---|----|
| Tableau I | Critères diagnostiques pour un trouble d'usage de stimulants | 6 |
| Tableau II | Pourcentage de consommateurs qui vont développer une addiction à leur drogue de choix | 8 |
| Tableau III | Amplitude des effets physiologiques et subjectifs de la cocaïne en fonction de la voie d'administration | 24 |
| Tableau IV | Les symptômes de l'addiction à la cocaïne retrouvés chez le rat | 38 |
| Tableau V | Nombre d'appuis sur le levier nécessaires pour obtenir une injection de cocaïne sous ratio progressif | 42 |

SIGLES ET ABRÉVIATIONS

Alpha, α : Index d'élasticité de la courbe de demande

APA : American Psychiatric Association

Cmax : Concentrations maximales

Cocaïne HCl : Hydrochlorate de cocaïne

cPmax : Valeur de Pmax calculée mathématiquement

CPP : Préférence de place conditionnée (*conditioned place preference*)

Crit : Critère (0Crit = 0 critère, 1Crit = 1 critère, 2Crit = 2 critères, 3Crit = 3 critères)

DSM : Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders

DA : Dopamine

DAT : Transporteur membranaire de la dopamine (*dopamine transporter*)

DT : Programme à nombre d'essais discrets (*discrete trials*)

FR: Ratio fixe (*fixed ratio*)

gPmax : Valeur de Pmax identifiée graphiquement

ICSS : Autostimulation intracrânienne (*intracranial self-stimulation*)

i.n. : Intranasal

IntA : Programme d'accès intermittent (*intermittent access*)

i.p. : Intrapéritonéal

i.v. : Intraveineux

LgA : Programme d'accès long et continu (*long access*)

Nac : Noyau accumbens (*nucleus accumbens*)

NE : Norépinephrine

NET : Transporteur membranaire de la norépinephrine (*norepinephrine transporter*)

Omax : Nombre maximal d'appuis qui détermine le gPmax

PFC : Cortex préfrontal (*prefrontal cortex*)

Pmax : Coût unitaire de la cocaïne 'maximal'

PR : Ratio progressif (*progressive ratio*)

Q0 : Valeur économique de consommation à faible coût de la cocaïne

ShA : Programme d'accès court et continu (*short access*)

SSC : Surface sous la courbe

t_{1/2} : Demi-vie

Tmax : Temps nécessaire pour atteindre le Cmax (Temps maximal)

VTA : Aire tegmentaire ventrale (*ventral tegmental area*)

À mes parents

REMERCIEMENTS

La première personne que j'aimerais remercier est la personne responsable de tout ce travail, je parle bien sûr de ma directrice de thèse, le Dr. **Anne-Noël Samaha**. La première fois que je suis venue dans votre bureau, Anna, j'ai le sentiment que vous vous êtes dit : *'Tiens, cette fille, je vais lui donner toute ma confiance et jamais je ne la lui reprendrai'*. Alors, Anna, merci pour ça ! Vous ne pouvez pas vous imaginer à quel point ce gage de confiance a été important pour moi. Je tiens également à vous remercier d'avoir cédé à tous mes caprices, d'avoir accepté toutes mes propositions d'expérience (avec le sourire en plus), et d'avoir répondu présente quand j'avais besoin de vous. Je pense que la liberté que j'ai eu dans ma recherche est quelque chose de rare en sciences et je m'estime privilégiée que vous me l'ayez donnée tout le long de ces cinq années. Anna, il n'y a pas d'autre mot, Merci !

Une deuxième personne a été très importante pour moi pendant ces cinq années de doctorat. Il s'agit du Dr. **David C.S. Roberts**. Je vais encore parler de cette première fois où je suis allée dans le bureau d'Anna, mais c'est parce qu'il s'agit d'un moment décisif dans mon cursus. Ce jour bien précis (Le 07 janvier 2013 si je ne me trompe pas), Anna m'a mis entre les mains cet article scientifique sur le modèle intermittent d'auto-administration de cocaïne chez le rat, modèle imaginé et mis en place au laboratoire du Dr. Roberts. Anna m'a donc dit : *'Ok Florence, voilà ta mission, tu installes ça dans le labo !'*. Tâche loin d'être évidente, mille mercis au Dr. Roberts d'avoir répondu à distance à tous mes appels à l'aide et de m'avoir si généreusement enseigné comment utiliser son programme pour modéliser les niveaux de cocaïne au cerveau.

Bien sûr, j'aimerais remercier les différents membres de mon jury de thèse – Dr. **Nicole Leclerc**, Dr. **Graziella Di Cristo** et Dr. **Brigitte Kieffer** – qui ont accepté d'évaluer mon travail. Merci également au Dr. **Richard Robitaille** d'avoir répondu présent pour assister à ma soutenance.

Qu'auraient été ces cinq années sans vous, **Ellie-Anna Minogianis**, **Alice Servonnet** et **Cynthia El Hage** ? Je n'ai pas la réponse à cette question, mais pour sûr, cela aurait été moins bien. On a beaucoup pleuré ensemble, mais on a aussi séché nos larmes et on a beaucoup ri. Je suis triste aujourd'hui de vous quitter en tant que collègues mais vraiment heureuse de vous garder en tant qu'amies. **Ellie-Anna**, sans toi je serais aujourd'hui probablement morte de faim. Oui, parce qu'en plus d'écouter tous mes problèmes d'une oreille attentive pendant

ces cinq années, tu m'as nourri comme une maman ces derniers mois. Blague mise à part, merci Ellie pour tout, tu as été un de mes piliers pendant ce doctorat et j'ai aimé chacune de nos conversations, scientifiques et moins scientifiques. **Alice**, ma résistante du bureau des étudiants, merci pour nos longues soirées de travail en commun et nos innombrables '*ahhhhh, on travaille trop quand même, allé on va se prendre une bière ...*'. Hâte de te faire découvrir cette merveilleuse ville de Caen dont tu rêves jours et nuits. Promis-juré, on a l'électricité en Normandie ! **Cynthia**, malgré le fait que tu m'aies lâchement abandonnée sans préavis au cours de ma thèse, je t'aime quand même. Tu m'as aidée à me sentir bien quand je suis arrivée à Montréal et à me déconnecter du labo. Je suis contente de savoir qu'on peut compter l'une sur l'autre en tout temps et j'espère de tout cœur pouvoir découvrir le Liban un jour avec toi. En bref, les filles, sachez que je vous suis très reconnaissante ♡

J'aimerais aussi remercier les différents membres du laboratoire. Un laboratoire de recherche est un lieu de passage qui permet la rencontre de belles personnes. Alors bien sûr, merci à **Hajer Algallal, Karim Bouayad-Gervais, Aliou Badara Gueye et Aissatou Ndiaye** pour vos implications dans nos projets communs. **Karim**, merci pour tes longues heures de programmation afin de valider l'accès intermittent aux leviers dans les cages opérantes. Cela aura été périlleux et nous aura valu ce fameux '*They are smarter than us*', dont je me souviendrai toute ma vie. **Aliou et Hajer**, j'espère vous avoir aidé du mieux que j'ai pu dans vos beaux projets respectifs. Sachez, tous les deux, que je suis très admirative du fait que vous arriviez à concilier vos expériences d'auto-administration avec votre vie familiale et vos enfants. Moi qui ne suis même pas capable de me faire cuire des pâtes quand je suis en expérience ... **Aissatou**, merci pour ton sourire et ta joie de vivre au quotidien. Aies confiance en tes capacités. Comme dirait Ellie : *t'es belle, t'es bonne, t'es capable !* Merci également à **Giovanni Hernandez** ainsi qu'aux différents stagiaires qui sont passés dans le labo et qui permettent de créer la bonne humeur au quotidien, **Frederik Asselin, Eric Borduas, Casey Bourdeau, Alexandra Charron, Marc-Antoine Charron, Maya Chebl, Noémie Deschênes, Marie-Pier Fillion, Alice Gravel-Chouinard, Joée Guillemette Lafontaine, Louis-Philippe Moreau, Bianca Popa, Vesna Risso et Amine Zoughlami**, avec une attention toute particulière à **Marie-Pierre Beaudoin** qui m'a beaucoup aidée pendant son stage avec moi.

Un grand merci à nos proches collaborateurs Dr. **Daniel Lévesque**, Dr. **Louis-Eric Trudeau** et Dr. **Vincent Jacquemet**. C'est un plaisir de savoir qu'on peut compter sur vos expertises respectives pour mener à bien nos projets. Je tiens d'ailleurs à remercier particulièrement **Benoît Delignat-Lavaud**. Mille mercis Benoît de ne pas m'avoir tapé dessus quand je t'annonçais que tu allais devoir venir un dimanche au labo pour moi.

Merci au Dr. **Terry E. Robinson** ainsi qu'à son étudiant **Alex Kawa** – bien sûr pour l'inspiration scientifique à travers ces cinq années de doctorat mais aussi pour l'opportunité que vous m'avez donné d'écrire ensemble : c'est un grand honneur pour moi !

Pour finir, j'aimerais de tout cœur remercier mes proches. Il y a trois personnes en particulier à qui je me dois d'adresser ici quelques mots. Mes parents, bien sûr, en font partie. Sans distinction aucune, je vous dédicace ce travail. J'espère que vous ne le prendrez pas comme un affront mais plutôt comme un appel à un début de réconciliation. Cette thèse est maintenant à vous. Je l'ai couvée pendant cinq ans, je vous confie la dure tâche d'en prendre bien soin. Maman, j'espère qu'on pourra retrouver notre complicité (j'en suis convaincue ☺). La troisième personne concernée est ma sœur. Merci Julie d'être ma première supportrice, tu crois bien plus en moi que je ne crois en moi-même. Merci de répondre jours et nuits à mes requêtes insensées pour me construire un rat dans une cage (Fig. 14, chapitre I) ou encore me régler des problèmes de formatage de thèse qui m'ennuient, t'es la meilleure ! Un grand merci à mes proches qui, de près ou de loin, m'ont soutenue ces cinq dernières années.

Alors voilà, vous me manquez tous, c'est bien Montréal, mais il fait froid et vous n'êtes pas là !



*'Chaque fois que la science avance d'un pas, c'est qu'un imbécile la pousse,
sans le faire exprès'*

E. Zola – La joie de vivre 1884

CHAPITRE I

Introduction générale

1. L'addiction à la cocaïne, pourquoi l'étudier ?

1.1 La cocaïne, historique

Bien qu'aujourd'hui la cocaïne soit reconnue comme une drogue psychostimulante à très fort potentiel d'abus, ceci n'a pas toujours été le cas. La cocaïne est un alcaloïde naturel extrait des feuilles de coca (*Erythroxylum coca*), une plante répandue en Amérique du sud. Tant pour des raisons religieuses, médicinales et sociales, la mastication des feuilles de coca est considérée, depuis des millénaires, comme un acte sacré dans les pays andins (Stolberg, 2011). Ce n'est qu'en 1860 qu'Albert Niemann isole la cocaïne comme principe actif des feuilles de coca. A partir des années 1880, la cocaïne connaît ses heures de gloire en étant incorporée, pour ses effets toniques, dans divers produits de consommation comme les vins Mariani ou encore le Coca-cola. La cocaïne a même été recommandée par Sigmund Freud pour traiter la dépression, l'impuissance ou encore l'addiction à la morphine (Über Coca, 1884). Durant cette même période, Carl Koller a pu pratiquer, avec succès, une chirurgie de la cataracte en utilisant les propriétés d'anesthésique local de la cocaïne (Koller, 1892; Markel, 2011). Finalement, au début des années 1900, à cause de ses propriétés addictives, la popularité de la cocaïne connaît un déclin et commence à être retirée des produits commerciaux. Une dizaine d'années plus tard, la cocaïne est réglementée suite à la loi Harrison de taxation des narcotiques (Harrison Act, 1914), pour être finalement classée drogue illicite par les Nations Unies en 1961 (Convention unique sur les stupéfiants, ONU, 1961).

1.2 L'addiction à la cocaïne, un problème de santé publique majeur !

Le trafic de drogues illégales est aujourd'hui un vrai problème mondial puisqu'il est au cœur de la corruption, du terrorisme, du crime organisé ou encore de flux monétaires illicites. Parmi les drogues illégales, le trafic de cocaïne est un des plus importants dans le monde. D'après le rapport mondial sur les drogues publié en 2017 (UNODC, 2017), la production et le trafic de cocaïne ont augmenté en 2015 (**Fig. 1**). Les rapports d'analyse des eaux usées de benzoylecgonine (métabolite de la cocaïne) suggèrent également que la consommation de

cocaïne est en hausse en Amérique du Nord et en Europe (les deux plus grands marchés de cocaïne) entre 2011 et 2016 (UNODC, 2017). Au niveau économique, l'addiction à la cocaïne est un fardeau puisque très coûteuse, que ce soit via des coûts relatifs à la criminalité et/ou aux soins (e.g. emprisonnement, hospitalisation), via des accidents de la voie publique ou encore via la baisse de productivité au travail. À titre d'exemple, en 2007, la perte économique liée à l'usage de drogues illicites dans la société américaine a été estimée à 193 milliards de dollars – 61.5 milliards liés aux crimes, 11.4 milliards liés à la santé et 120.3 milliards liés à la perte de productivité (National Drug Threat Assessment, 2011).

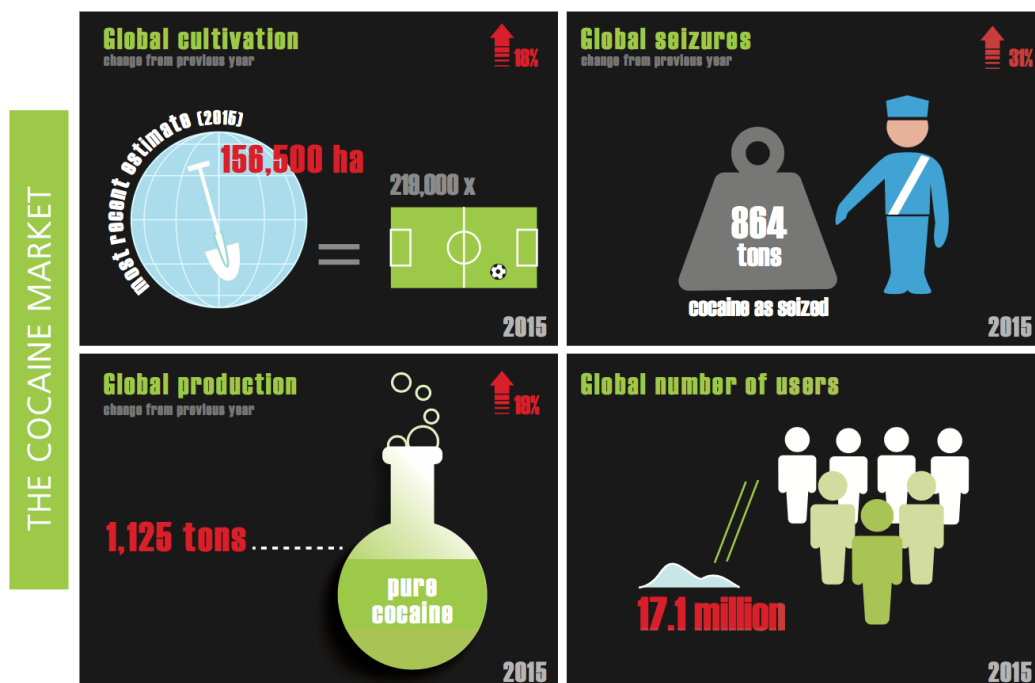


Fig. 1. Le trafic de cocaïne dans le monde en 2015. Plus de 17 millions d'individus consommeraient de la cocaïne dans le monde. Parmi les trafics de drogues illégales dans le monde, celui de cocaïne est le 2^{ème} plus important (après celui du cannabis). Référence : UNODC (2017).

1.3 Je consomme donc je suis toxicomane ?

1.3.1 Définitions et perception de l'addiction

Étymologiquement parlant, le terme addiction vient du latin 'ad-dicere' qui signifie 'dire à' ou 'adonné à'. Le terme addiction a donc, à proprement dit, une connotation de contrainte, de soumission à quelqu'un ou à quelque chose. Ainsi l'esclave était 'dictus ad' ou 'dit à' son maître

alors que le drogué est 'dictus ad' ou 'dit à' sa drogue (Fernandez and Sztulman, 1997). L'addiction a d'abord été considérée comme une forme de faiblesse, faiblesse psychologique et morale ou faiblesse de volonté menant à un manque de jugement [akrasia, (Wallace, 1999)]. Ainsi, les toxicomanes ont été pointés du doigt et qualifiés de déviants, de dépravés ou encore de personnes immatures et irresponsables (Miller and Giannini, 1990). Bien que cette image ait heureusement grandement évolué et que l'addiction soit maintenant reconnue comme maladie (Meyer, 1996), on ne peut pour autant pas ignorer que l'addiction est toujours aujourd'hui stigmatisée. Les personnes souffrant d'addiction sont souvent perçues comme dangereuses et imprévisibles, et de fait renvoient une image négative au sein de la population générale mais aussi au sein du personnel soignant (Crisp et al., 2000; Meltzer et al., 2013; Mannarini and Boffo, 2014). C'est pourquoi des campagnes contre la stigmatisation sont mises en place pour faire évoluer les mentalités sur l'addiction dans le but d'empêcher le repli sur soi des personnes affectées et d'améliorer leur prise en charge (Fig. 2).

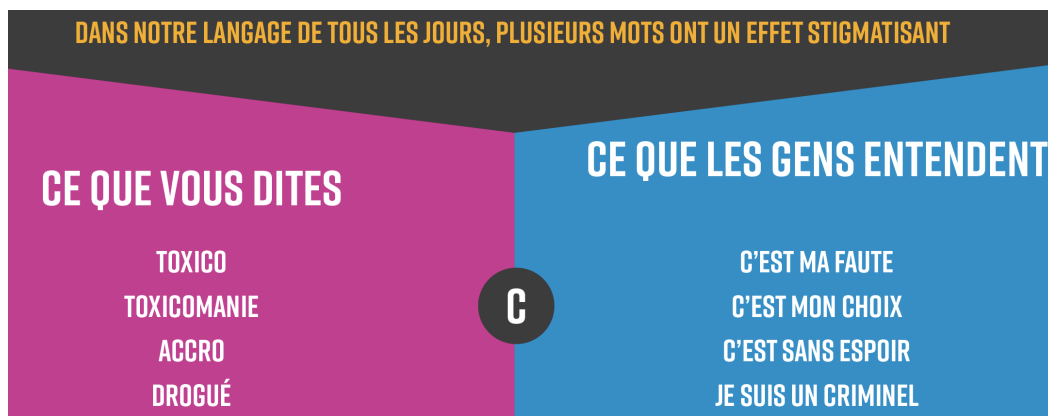


Fig. 2. Langage stigmatisant envers la toxicomanie. 'Aujourd'hui, la stigmatisation est l'un des obstacles les plus importants au traitement et au rétablissement de la dépendance, et le langage que nous utilisons contribue trop souvent à cette stigmatisation'. Campagne contre la stigmatisation réalisée dans le cadre de la semaine nationale de sensibilisation aux dépendances en novembre 2017. Référence : Centre Canadien sur les Dépendances et l'Usage de Substances (2017).

Communément, l'addiction désigne la mise en place d'un comportement ayant pour but de produire du plaisir ou d'échapper à une situation d'inconfort. L'addiction est ainsi définie par (1) une inaptitude à contrôler ce comportement et (2) une répétition de ce comportement malgré les conséquences négatives (Goodman, 1990). Ainsi, l'addiction est fortement

associée avec les notions de plaisir, de répétition, de chronicité de consommation et de dépendance. Cependant, tant la définition de l'addiction que son diagnostic sont complexes et encore aujourd'hui, l'utilisation de ces termes est discutée. C'est pourquoi dans la dernière version du manuel statistique et diagnostique des troubles mentaux [Diagnostic and Statistical Manual of mental disorders, DSM-5 (American Psychiatric Association, APA, 2013)], les termes 'addiction' et 'dépendance' ont été dissociés [comparé au DSM-4 (APA, 1994)], la dépendance physique pouvant survenir sans qu'il y ait un diagnostic d'addiction (O'Brien et al., 2006). Ensuite, le terme *trouble d'usage de substances* (SUD, Substance Use Disorder) considéré plus neutre est maintenant préféré à celui d'*addiction* pouvant avoir une connotation péjorative et ainsi stigmatiser les consommateurs (Erickson and Wilcox, 2006; O'Brien et al., 2006). Le terme 'addiction' (ou toxicomanie) sera quand même utilisé ici comme référence puisque communément employé dans les études précliniques sur cette maladie.

1.3.2 Établir un diagnostic d'addiction

Nous venons de voir que la définition de l'addiction faisait débat, il en va de même pour son diagnostic. Les critères diagnostiques de l'addiction sont donc actualisés à travers les différentes versions du DSM ainsi qu'à travers leurs révisions (Hasin et al., 2013; Piazza and Deroche-Gamonet, 2013). Pourquoi est-ce si complexe d'établir un diagnostic d'addiction ? La réponse repose sur le fait qu'il n'existe pas de marqueur biochimique détectable de l'addiction et que le diagnostic est uniquement basé sur des critères comportementaux qui sont constatés, pour la plupart, par les consommateurs eux-mêmes. Au vu du caractère compulsif de l'addiction, la perception de son propre comportement face à la drogue (voir **citation 1**) peut-elle même être ambiguë chez les consommateurs.

Citation 1 :

Doc, I don't understand what's going on. I really meant it when I told my therapy group yesterday that I never wanted to touch cocaine again. Now after seeing that video (videotape simulated cocaine use), I want cocaine more than anything and I feel the urge to go out and get it. What's the real me?
(O'Brien et al., 1998)

Il existe onze critères diagnostic de l'addiction dans le DSM-5 (APA, 2013), détaillés dans le **tableau I** (e.g. Trouble d'usage des stimulants). Le cumul du nombre de critères augmente l'index de sévérité de l'addiction (Feingold and Rounsaville, 1995) avec un maximum quand 6 ou plus des 11 symptômes sont observables (**tableau I**).

Onze critères diagnostiques pour les troubles liés à la consommation d'une substance psychoactive. Le diagnostic de l'addiction est effectué quand le sujet présente, ou a présenté au cours des douze derniers mois, au moins deux des onze critères énumérés ci-dessous :

| | | |
|----|--|--|
| 1 | La drogue est souvent prise en quantité plus importante ou lors d'une période plus grande que celle prévue | Perte de contrôle sur la consommation |
| 2 | Il existe un désir persistant ou des efforts infructueux pour diminuer ou contrôler la consommation de drogue | |
| 3 | Temps conséquent passé à obtenir et consommer la drogue ou récupérer de ses effets | |
| 4 | <i>Craving</i> où envie irréprouvable de consommer la drogue | |
| 5 | La consommation répétée de drogue conduit à l'incapacité de remplir ses obligations au travail, à l'école ou à la maison | Altération du fonctionnement social |
| 6 | Consommation continue malgré des problèmes interpersonnels ou sociaux, persistants ou récurrents, causés ou exacerbés par les effets de la drogue | |
| 7 | Des activités sociales, occupationnelles ou récréatives importantes sont abandonnées ou réduites à cause de la consommation de drogue | |
| 8 | Consommation même dans des situations où cela peut être physiquement dangereux | Consommation risquée de la drogue |
| 9 | La personne continue de consommer bien qu'elle ait conscience d'avoir un problème psychologique ou physique, persistant ou récurrent susceptible d'avoir été causé ou exacerbé par la drogue | |
| 10 | Tolérance, définie par l'un des symptômes suivants : - besoin de quantités nettement plus fortes de drogue pour obtenir une intoxication ou l'effet désiré - effet nettement diminué en cas d'utilisation continue d'une même quantité de drogue | Critères pharmacologiques (Tolérance et sevrage) |
| 11 | Sevrage, caractérisé par l'une ou l'autre des manifestations suivantes : - syndrome de sevrage caractérisé à la substance - la drogue, ou une substance proche, est prise pour soulager ou éviter les symptômes de sevrage | |

Présence de 2-3 symptômes : Addiction qualifiée de faible
Présence de 4-5 symptômes : Addiction qualifiée de modérée
Présence de 6 symptômes ou plus : Addiction qualifiée de sévère

Tableau I. Critères diagnostiques pour un trouble d'usage de stimulants. Référence : APA (2013).

De ces 11 critères, le ‘*craving*’ ou désir intense/besoin urgent de consommer la drogue [critère numéro 4 dans **tableau I**, voir aussi **citation 1** (O'Brien et al., 1998)] est un ajout comparativement à la version précédente (APA, 1994, 2013) puisqu'il semble uniquement observé chez des individus toxicomanes (Volkow et al., 2005). Ce critère pourrait être une cible majeure des traitements contre l'addiction (O'Brien et al., 1992; O'Brien, 2005). Le DSM est utile pour établir un diagnostic d'addiction mais aussi pour évaluer sa rémission. Une rémission précoce sera constatée si aucun critère n'est diagnostiqué sur une période d'au moins 3 mois (mais < 12 mois). Si aucun critère n'est diagnostiqué sur une période de plus de 12 mois, alors la rémission est considérée soutenue (APA, 2013). À noter que le critère diagnostique du ‘*craving*’ est ici à exclure puisqu'il peut persévérer voire s'intensifier après rémission (Gawin and Kleber, 1986; Bedi et al., 2011; Pickens et al., 2011). Il peut donc être risqué de qualifier la rémission de l'addiction comme totale (**citations 2 et 3**) puisqu'il s'agit d'une maladie à fort risque de rechute même après une longue période d'arrêt de la drogue (Hunt et al., 1971; Leshner, 1997).

Citation 2 :

Contrary to commonly held beliefs, addiction does not end when the drug is removed from the body or when the acute post drug-taking illness dissipates. Rather, the underlying addictive disorder persists, and this persistence produces a tendency to relapse to active drug-taking (O'Brien and McLellan, 1996)

Citation 3 :

As is the case with chronic medical illnesses such as arthritis, addictive behavior has a proclivity to return repeatedly, despite apparently successful short-term treatment (O'Brien et al., 1992)

1.3.3 Vulnérabilité interindividuelle

Pour la population âgée de 15-64 ans, on estime que 255 millions d'individus (158-351 millions) ont consommé des drogues lors de l'année 2015. Parmi ce quart de milliard d'individus consommateurs, on estime que 11% ou 29.5 millions (15-43 millions) ont développé un trouble lié à l'usage d'une substance (UNODC, 2017). Ceci révèle que l'addiction ne se développe que pour une minorité de consommateurs. Il est important de noter que ce

risque d'addiction varie en fonction de la drogue consommée (Goldstein and Kalant, 1990). Les valeurs de risque montrées dans le **tableau II** ont été normalisées par rapport à la proportion d'individus ayant expérimenté des drogues. En effet, des drogues licites comme le tabac et l'alcool sont beaucoup plus facilement accessibles et donc plus représentées que les drogues illicites chez les consommateurs. Par exemple, l'alcool est la drogue la plus expérimentée, pour autant elle n'est que 4^{ème} dans cette classification (Anthony et al., 1994).

| Tabac | Héroïne | Cocaïne | Alcool | Stimulants autres que cocaïne | Cannabis | Hallucinogènes |
|-------|---------|---------|--------|-------------------------------|----------|----------------|
| 32 % | 23 % | 17 % | 15 % | 11 % | 9 % | 5 % |

Tableau II. Pourcentage de consommateurs qui vont développer une addiction à leur drogue de choix. *Le risque de développer une addiction varie en fonction de la drogue consommée. Entre 1 et 2 consommateurs de cocaïne sur 10 sont susceptibles de développer une addiction à cette drogue. La cocaïne est donc classée 3^{ème} drogue la plus susceptible de mener à l'addiction. Référence : Anthony et al. (1994).*

Pour la cocaïne, le pourcentage de consommateurs à risque de développer une addiction a été estimé à 15-17% (Anthony et al., 1994; Wagner and Anthony, 2002; Lopez-Quintero et al., 2011), ce qui la place 3^{ème} après le tabac et l'héroïne (**tableau II**). La cocaïne est également classée 2^{ème} drogue la plus nuisible juste après l'héroïne [Échelle utilisant des paramètres comme les dommages physiques et sociaux occasionnés par la drogue ou encore la dépendance psychologique et physique (Nutt et al., 2007)].

Alors finalement, pourquoi un consommateur de cocaïne va maintenir une consommation contrôlée voire la cesser alors qu'un autre (parmi les 15-17%) va devenir toxicomane ? Cette vulnérabilité peut être la cause de facteurs individuels et/ou environnementaux (**Fig. 3**) pouvant interagir et réguler des traits de personnalité comme l'impulsivité, la prise de risque ou encore la réponse au stress (Kreek et al., 2005). En effet, l'addiction serait une maladie psychiatrique à caractère héréditaire (Duaux et al., 2000; Goldman et al., 2005; Kreek et al., 2005). En préclinique, il est connu que l'effet renforçant des drogues peut varier en fonction de la souche de rats (Suzuki et al., 1988; Kosten et al., 1994). Par ailleurs, le caractère

héréditaire de l'addiction serait lui-même dépendant de la drogue consommée et ainsi corrélé au risque d'addiction (Goldman et al., 2005). La génétique peut donc augmenter le risque de toxicomanie et ce pour différentes raisons – par exemple en modifiant le métabolisme des drogues ou en modifiant leurs effets subjectifs (une même drogue peut être plus ou moins plaisante ou déplaisante en fonction du patrimoine génétique). La contribution génétique à la toxicomanie peut se faire à différents stades de la pathologie : lors de l'initiation de la consommation ou encore lors de l'arrêt de la consommation (e.g. pendant l'abstinence). La génétique peut également contribuer à l'efficacité des traitements disponibles pour lutter contre la toxicomanie (e.g. en jouant sur leur métabolisme).

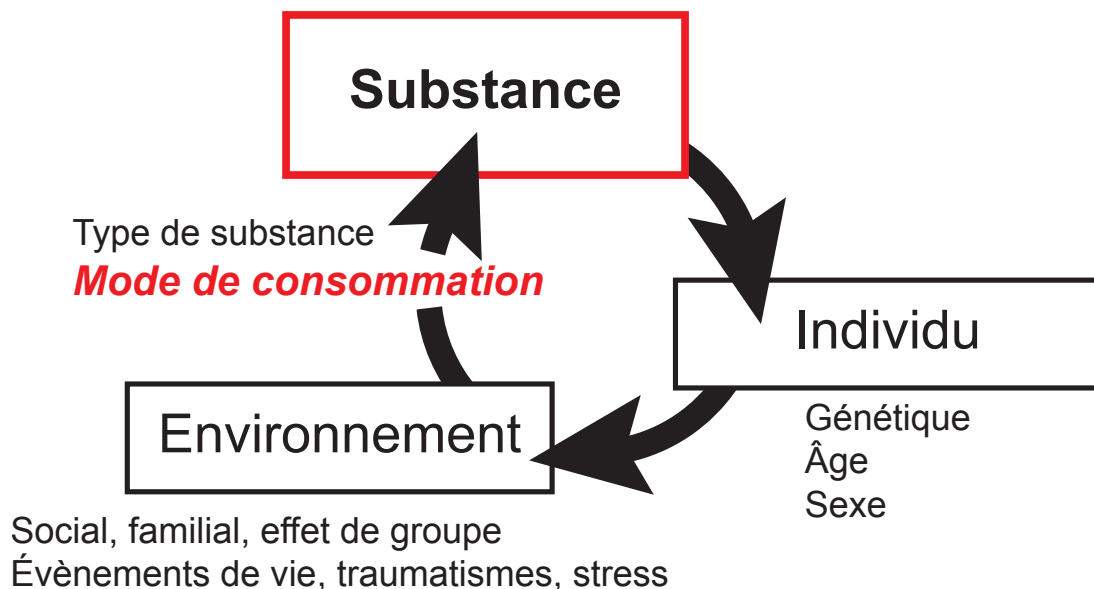


Fig. 3. Facteurs de risque dans la toxicomanie. La vulnérabilité à l'addiction peut être augmentée à cause de facteurs individuels, environnementaux ou encore via des facteurs propres à la drogue consommée.

L'environnement est également déterminant dans le processus de l'addiction. Le risque d'addiction peut augmenter en réponse à un événement négatif de la vie pouvant causer un traumatisme (Sinha, 2008). Chez les rats, la vulnérabilité à l'addiction est également dépendante d'évènements stressants (Goeders, 2002) alors qu'à l'inverse un environnement enrichi peut être protecteur (Bardo et al., 2001). Ces différents facteurs peuvent être cruciaux

tant pour l'initiation de la consommation, son maintien, le développement de l'addiction et la vulnérabilité à la rechute (Goeders, 2002; Kreek et al., 2005).

Un troisième facteur est également critique dans la vulnérabilité à l'addiction. Il s'agit de la substance elle-même. En effet, nous avons vu plus haut que le risque d'addiction différait en fonction de la substance consommée. Mais pas uniquement ! Pour une même drogue, la manière de la consommer peut également être déterminante. Ainsi, le développement de l'addiction dépend étroitement de l'interaction entre ces trois facteurs (**Fig. 3**), l'environnement, l'individu et la substance elle-même (O'Brien, 2008). Mon sujet de doctorat s'intéresse essentiellement à ce troisième facteur, la substance, et notamment au mode de consommation de la cocaïne comme facteur de vulnérabilité de l'addiction.

Le passage d'une consommation récréative vers une consommation pathologique se caractérise par une augmentation des niveaux de cocaïne administrés (La drogue est souvent prise en quantité plus importante ou lors d'une période plus grande que celle prévue, symptôme numéro 1 du **tableau I**). Ainsi, cette augmentation de la quantité de cocaïne consommée – variable qui modifie la pharmacocinétique de la cocaïne en augmentant les niveaux maximums de drogue au cerveau – est largement considérée comme cause principale de la transition vers la toxicomanie (Ahmed, 2012; Edwards and Koob, 2013). Ceci est faux, et sera démontré tout le long de ma thèse à travers les différents chapitres.

Lors de mes cinq années de doctorat, je me suis focalisée sur deux autres aspects de la consommation de cocaïne : (1) la vitesse et (2) la fréquence d'administration. J'ai manipulé ces deux variables pharmacocinétiques chez le rat et j'ai évalué comment ceci pouvait affecter tant le comportement des animaux envers la drogue (i.e. augmenter oui ou non le risque d'addiction) que la neurobiologie de l'addiction.

2. Pharmacocinétique et pharmacodynamie de la cocaïne en fonction du mode de consommation

2.1 Concepts généraux sur la pharmacocinétique

2.1.1 Relation entre pharmacocinétique et pharmacodynamie

Quand une drogue est administrée, l'étude des concentrations circulantes de cette drogue dans le corps (dans le plasma et/ou dans les organes effecteurs) en fonction du temps est appelée *pharmacocinétique*. En parallèle, pour cette même drogue administrée, l'étude de la réponse pharmacologique en fonction des concentrations circulantes du corps (dans le plasma et/ou dans les organes effecteurs) est appelée *pharmacodynamie* (**Fig. 4**).

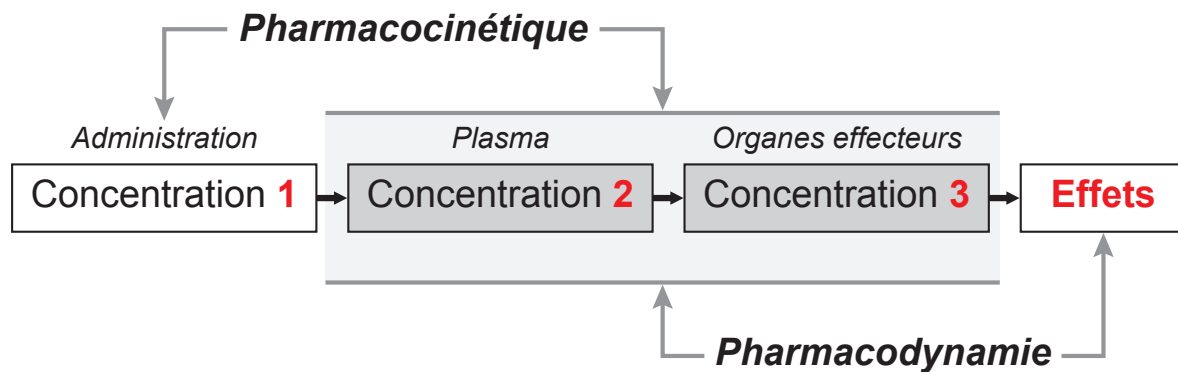


Fig. 4. Pharmacocinétique et pharmacodynamie d'une drogue. Quand une certaine dose d'une drogue est administrée dans l'organisme, elle va être soumise à une chaîne de réactions. Elle va d'abord être absorbée, puis distribuée, métabolisée et enfin éliminée de l'organisme. Il s'agit de la pharmacocinétique de la drogue i.e. le lien entre la concentration administrée et la concentration plasmatique et/ou aux organes effecteurs. La concentration effectrice dans l'organisme va produire une réponse pharmacologique. Il s'agit de la pharmacodynamie de la drogue i.e. le lien entre la concentration plasmatique et/ou aux organes effecteurs et l'effet pharmacologique désiré.

2.1.2 Modéliser la pharmacocinétique d'une drogue

Il est donc crucial de comprendre la pharmacocinétique d'une drogue pour en extraire sa réponse pharmacologique. C'est pourquoi il existe des modèles mathématiques simplifiés qui nous aident à estimer la cinétique d'une drogue au sein de l'organisme en fonction du temps. Dans ces modèles, le corps et ses organes sont considérés comme des compartiments (Jusko and Gibaldi, 1972; Pan et al., 1991; Jenkins and Cone, 1998). Ainsi, dans un modèle mathématique à un compartiment unique (le compartiment 1 étant le corps), une drogue

ingérée est absorbée vers le compartiment 1 (via une constante d'absorption, k_a) puis en est éliminée (via une constante d'élimination, k_{el}). Dans un modèle plus élaboré, le compartiment 1 (compartiment central, le sang) communique maintenant avec un deuxième compartiment (compartiment périphérique). Ce modèle est fréquemment utilisé en préclinique pour modéliser les niveaux de cocaïne au cerveau (Pan et al., 1991; Wise et al., 1995; Nicola and Deadwyler, 2000; Samaha et al., 2002; Shou et al., 2006; Zimmer et al., 2011; Zimmer et al., 2012; Calipari et al., 2014c; Martin-Garcia et al., 2014; Allain et al., 2017; Allain et al., 2018), le cerveau étant le compartiment numéro 2. Dans ce modèle à deux compartiments, une drogue ingérée est absorbée vers le compartiment 1 puis distribuée vers le compartiment 2 (via une constante de distribution, k_{12}). En parallèle d'être distribuée au compartiment 2, la drogue est éliminée du compartiment 1. Une fois que la concentration de drogue dans le compartiment 2 est supérieure à celle du compartiment 1, la drogue est redistribuée vers le compartiment 1 (via une constante de redistribution, k_{21}) pour en être finalement éliminée (via k_{el}). Ces deux modèles sont schématisés dans la **figure 5**.

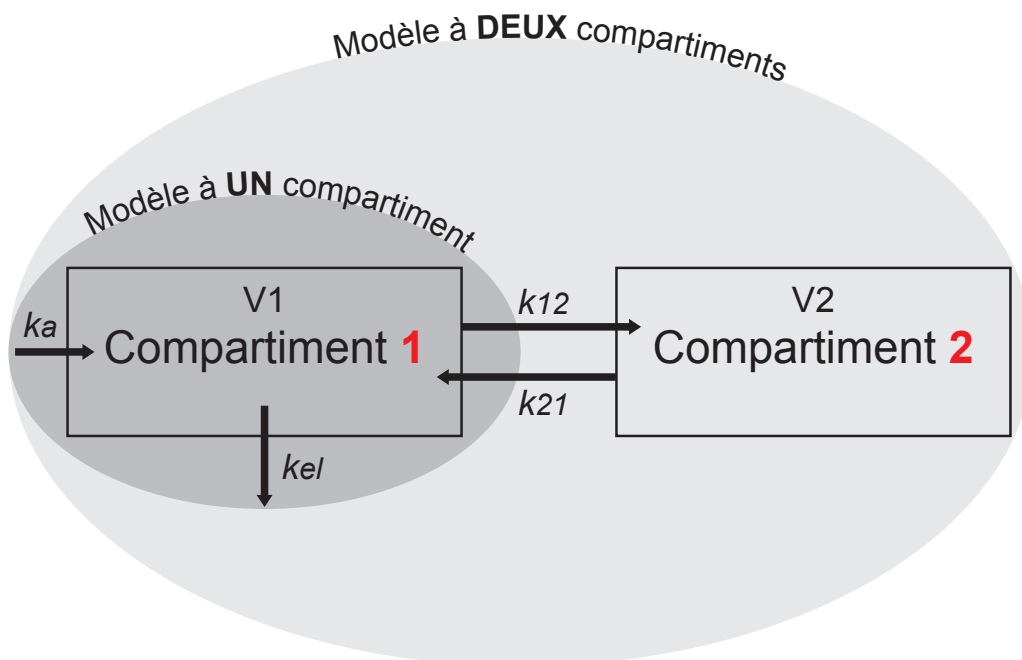


Fig. 5. Modélisation de la pharmacocinétique d'une drogue. Les modèles à un et deux compartiment(s) sont ici comparés. Dans le modèle à un compartiment, seuls les paramètres d'absorption et d'élimination d'une drogue sont pris en considération. Le modèle à deux compartiments intègre les mécanismes de distribution vers un organe cible de la drogue. k_a , constante d'absorption. k_{12} , constante de distribution de la drogue du compartiment 1 vers le compartiment 2. k_{21} , constante de redistribution de la drogue du compartiment 2 vers le compartiment 1. k_{el} , constante d'élimination de la drogue. V_1 et V_2 sont les volumes de distribution apparents des compartiments 1 et 2, respectivement.

2.1.3 Paramètres pharmacocinétiques

C_{max} et T_{max}

Une drogue administrée par voie orale sera absorbée au niveau de l'intestin, distribuée aux organes cibles puis finalement éliminée de l'organisme. En ne considérant que les mécanismes d'absorption et d'élimination (modèle à un compartiment, **Fig. 5**), au temps zéro, la dose de drogue dans l'intestin est totale et la vitesse d'absorption maximale. On se retrouve dans la phase ascendante des niveaux plasmatiques de drogue représentés sur la courbe grise de la **figure 6**. Pendant cette phase, les concentrations plasmatiques de drogue augmentent, la vitesse d'absorption diminue et la vitesse d'élimination augmente (mais la vitesse d'absorption est toujours supérieure à la vitesse d'élimination de la drogue).

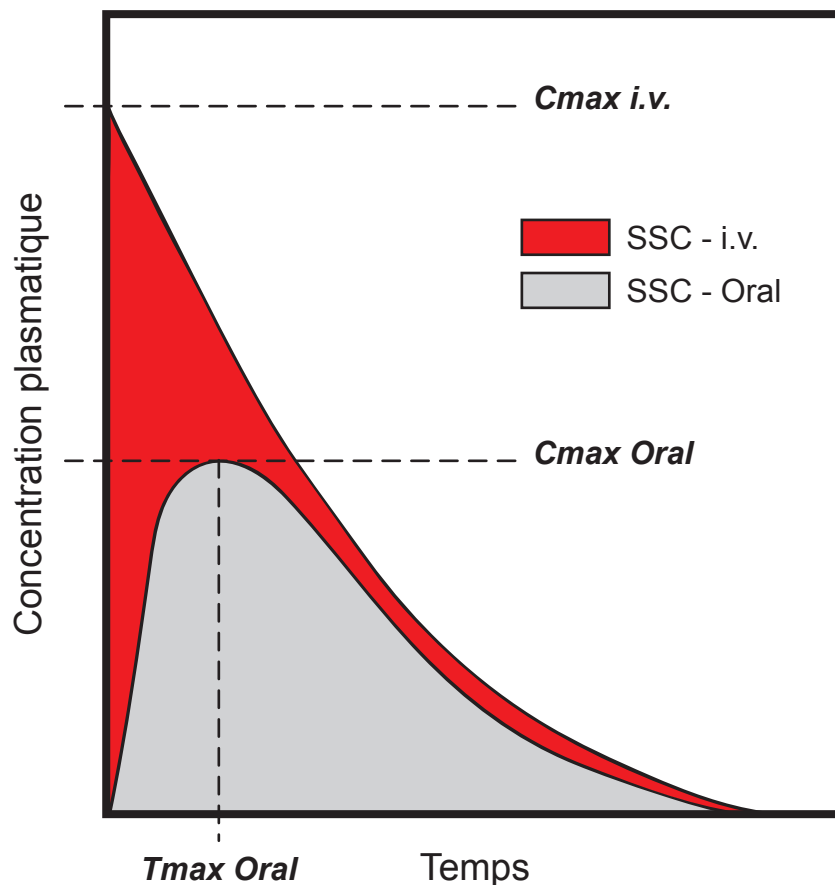


Fig. 6. Schéma des niveaux plasmatiques d'une drogue administrée par voie orale ou par voie intraveineuse. Les concentrations plasmatiques sont représentées en fonction du temps pour une injection de drogue administrée par voie orale (courbe grise) ou par voie intraveineuse (i.v. courbe rouge). Cette représentation permet d'extraire des paramètres pharmacocinétiques comme le C_{max}, le T_{max}, la biodisponibilité ou encore la demi-vie de la drogue. SSC, Surface Sous la Courbe.

Au temps T_{max} , les niveaux plasmatiques de drogue sont au maximum (C_{max}), les vitesses d'absorption et d'élimination de drogue sont alors identiques. Finalement, pendant la phase descendante des niveaux plasmatiques de drogue, la vitesse d'élimination est supérieure à la vitesse d'absorption jusqu'à ce que la dose de drogue dans l'intestin soit nulle et que seul le processus d'élimination reste. Si une nouvelle dose n'est pas administrée alors les niveaux plasmatiques de drogue retournent à zéro (**Fig. 6**).

En considérant maintenant les mécanismes de distribution (modèle à deux compartiments ou plus, **Fig. 5**), la phase descendante de la cinétique de la drogue (pour les deux voies, orale et intraveineuse, **Fig. 6**) devrait être dissociée en deux sous-phases. Une première avec une diminution initiale rapide des niveaux plasmatiques de drogue due à la distribution de la drogue vers le compartiment 2 et une deuxième avec une diminution moins abrupte mais soutenue due à l'élimination de la drogue du compartiment 1 (Gibaldi and Levy, 1976; Benet and Zia-Amirhosseini, 1995; Jenkins and Cone, 1998).

Biodisponibilité

Pour une drogue ayant une cinétique d'ordre premier, les processus d'absorption, de distribution et d'élimination répondent de manière proportionnelle à la dose ingérée. Ainsi, l'efficacité d'une drogue à ses sites d'action sera très dépendante de sa part bio-disponible dans la circulation générale. Il est important de noter qu'une drogue administrée par voie orale peut être soumise à un effet de premier passage (processus de biotransformation via la muqueuse intestinale et le foie) diminuant sa biodisponibilité (voir aussi **Fig. 8**). Quand administrée par voie intraveineuse (courbe rouge, **Fig. 6**), la drogue n'est pas soumise à l'effet de premier passage (la drogue est directement administrée dans le compartiment 1, **Fig. 5**) et est donc bio-disponible à 100% (Gibaldi and Levy, 1976; Jenkins and Cone, 1998). Le pourcentage bio-disponible d'une drogue est calculé selon la formule suivante :

$$\frac{\text{SSC Oral}}{\text{SSC i.v.}} \times 100, \text{ Figure 6}$$

Demi-vie ($t_{1/2}$)

La demi-vie d'une drogue est le temps nécessaire pour que les niveaux plasmatiques de cette drogue soient réduits de 50%. Ce paramètre varie en fonction du volume de distribution et des mécanismes d'élimination de la drogue. La demi-vie est inversement proportionnelle à la clairance, ce qui signifie que plus l'élimination de la drogue est efficace, plus la demi-vie est courte. Au contraire, la demi-vie est directement proportionnelle au volume de distribution, ce qui signifie que plus le volume de distribution est grand, plus la demi-vie de la drogue sera longue (Benet and Zia-Amirhosseini, 1995; Jenkins and Cone, 1998; Feucht and Patel, 2011).

Des facteurs jouant tant sur l'absorption, la distribution et/ou l'élimination des drogues au sein de l'organisme peuvent être critiques en modifiant le C_{max} , le T_{max} , la biodisponibilité et/ou la demi-vie de la drogue. Ces changements dans les niveaux plasmatiques de drogue (et/ou au niveau des organes effecteurs) en fonction du temps (pharmacocinétique) peuvent directement modifier la réponse pharmacologique de la drogue en fonction du temps (pharmacodynamie).

2.2 La cocaïne sous toutes ses formes

Il existe différentes formes de cocaïne, les feuilles de coca, la pâte de coca, le chlorhydrate de cocaïne, la cocaïne 'free base' ou encore le 'crack'. Ces différentes formes résultent de procédés de fabrication différents et sont généralement associées avec une voie d'administration de la drogue bien particulière.

2.2.1 Les feuilles de coca

Nous avons vu plus haut que les feuilles de coca peuvent elles-mêmes être consommées pour lutter contre le froid et le mal de l'altitude. Elles peuvent être mâchées (sous forme d'une chique) ou encore prises en infusion (mate de coca). Les feuilles de coca peuvent également directement être fumées dans des cigares ou cigarettes mais compte tenu de la faible teneur

en cocaïne des feuilles, l'apparition de problèmes sérieux suite à cette pratique n'a pas été répertoriée (Siegel, 1982).

2.2.2 La pâte de coca

Vu que les feuilles de coca sont généralement pauvres en cocaïne [de 0.3 à 1.5%, moyenne à 0.8% relatif au poids des feuilles séchées (Casale and Klein, 1993)], elles vont être très concentrées pour fabriquer la pâte de coca [100-150 kg de feuilles de coca séchées sont plus ou moins nécessaires pour obtenir 1 kg de pâte de coca (Karch, 1993)]. Cette pâte est fabriquée dans des 'Paste lab', généralement situés sur le lieu même de la culture des feuilles, et constitue la matière première de la cocaïne (Karch, 1993; Dujourdy et al., 2010). La pâte de coca, étant un mixe de diverses substances, peut paraître blanche ou brune et est beaucoup plus concentrée en cocaïne que les feuilles [de 40 à 90% de cocaïne (Jeri, 1984)]. La pâte de coca est une étape intermédiaire à la fabrication de cocaïne, mais peut toutefois être fumée (Jeri, 1984; Casale and Klein, 1993; Karch, 1993). La technique est de bourrer l'extrémité terminale d'une cigarette avec de la pâte de coca séchée et de fermer la feuille de tabac par-dessus. La prise en bouffées rapides de cigarette permet ensuite la combustion de la pâte et son inhalation jusqu'aux poumons (Jeri, 1984).

2.2.3 Le chlorhydrate de cocaïne ou cocaïne HCl

La pâte de coca (forme base) peut ensuite être transférée dans des laboratoires clandestins, des 'Crystal lab' toujours situés dans le pays de production, pour être transformée en chlorhydrate de cocaïne [Pâte de coca dissoute avec de l'acide chlorhydrique (Casale and Klein, 1993; Karch, 1993; Dujourdy et al., 2010)]. La cocaïne HCl est la forme finale de cocaïne, qui fait l'objet de trafics illicites et qui ressemble à une poudre blanche cristalline et floconneuse. C'est la forme la plus pure de cocaïne possible, mais elle est souvent coupée avec des additifs pour être vendue dans la rue. Cette forme de cocaïne est généralement prise par voie intraveineuse ou intranasale (injectée ou sniffée, respectivement). La cocaïne base

fond à 98°C alors que la cocaïne HCl, sel hydrosoluble stable, fond à 195°C ce qui empêche toute possibilité de la fumer directement. Une option est donc de saupoudrer de la cocaïne HCl le long d'une cigarette de tabac (Siegel, 1977), ceci ayant une efficacité très mineure avec de faibles niveaux d'intoxication (Siegel, 1982).

2.2.4 La cocaïne 'freebase' et le 'crack'

Vu que la cocaïne HCl ne se fume pas, l'idée est d'effectuer une réaction chimique inverse pour retourner à une forme de cocaïne base. La cocaïne HCl ne se trouve plus dans les pays de production mais bien dans les pays de consommation. Ce sont donc les vendeurs ou les consommateurs eux-mêmes qui font la transformation chimique inverse de leur drogue. Le concept de cette transformation est de retirer l'acide chlorhydrique de la poudre de cocaïne pour ainsi libérer la forme base de ce composé (**citation 4**).

Citation 4 :

Freebasing is the creation of smokeable cocaine [...] The cocaine base is 'freed' from the hydrochloric acid, hence the term 'free base' (Freye, 2009a)

Généralement, la cocaïne HCl est mélangée avec du bicarbonate de soude et de l'eau puis et chauffé pour donner le 'crack' – nom attribué du fait des craquements entendus quand les cailloux de cocaïne sont chauffés. Le 'crack' est beaucoup plus utilisé que le 'freebase', notamment parce que le processus de transformation du sel de cocaïne en 'freebase' implique une étape d'extraction dans de l'éther qui peut être dangereuse [e.g. feux, (Hatsukami and Fischman, 1996; Freye, 2009a)]. Même si les cailloux de crack peuvent éventuellement être injectés, la voie majoritaire d'administration de cette forme de cocaïne est la voie fumée à l'aide d'une pipe à crack ou d'un bangh (pipes à air et à eau, respectivement).

Ainsi, nous venons de voir que quatre voies d'administration de la cocaïne se dégagent, dépendamment de la forme de la substance disponible : (1) La voie *orale*, (2) la voie *intranasale*, (3) la voie *fumée* et (4) la voie *intraveineuse*. Les feuilles de coca (voie orale) et

la pâte de coca (voie fumée) sont des formes peu utilisées et généralement confinées aux pays de production de la cocaïne. Les deux formes de cocaïne les plus commercialisées et utilisées dans les pays de consommation sont donc la cocaïne HCl (voies intranasale et intraveineuse) et le crack ('freebase', voie fumée).

2.3 Effets physiologiques et psychologiques de la cocaïne

En tant qu'inhibiteur des canaux sodiques, la cocaïne possède des propriétés d'anesthésique local quand appliquée de façon topique ou proche des nerfs (Byck and Van Dyke, 1977). La cocaïne agit aussi comme bloqueur de la recapture des monoamines dopamine, sérotonine et norépinephrine au niveau des terminaisons neuronales, ceci ayant pour conséquence directe l'accumulation de ces neurotransmetteurs dans la fente synaptique. Du fait de cet excès de norépinephrine (NE) qu'elle provoque, la cocaïne est une drogue sympathomimétique puissante, la norépinephrine étant le neurotransmetteur principal du système nerveux sympathique (**Fig. 7**).

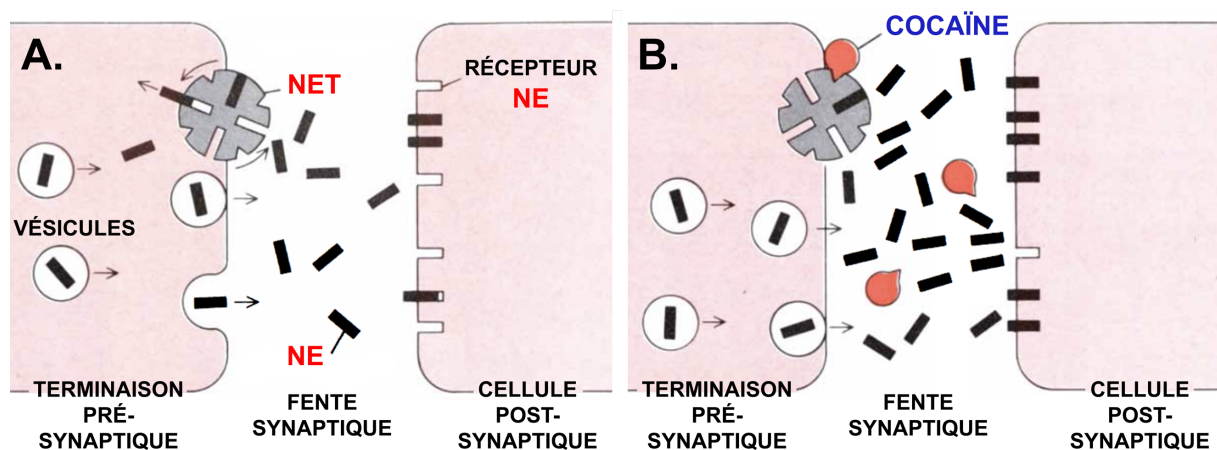


Fig. 7. Action sympathomimétique de la cocaïne. (A) Entre les deux cellules nerveuses, la pompe située du côté présynaptique (NET, transporteur membranaire de la norépinephrine) recapture la norépinephrine (NE) de la fente synaptique vers la terminaison nerveuse présynaptique. (B) En présence de cocaïne, le NET est bloqué, ce qui mène à l'accumulation de NE dans la fente synaptique et ainsi à une plus grande activation des récepteurs postsynaptiques. Via cette augmentation de la transmission NE, la cocaïne agit comme agoniste du système nerveux sympathique [adapté de Van Dyke and Byck (1982)].

Les effets physiologiques reconnus de la cocaïne sont donc une vasoconstriction (pouvant diminuer/ralentir l'absorption même de la drogue vers la circulation générale), une

augmentation de la pression artérielle et du rythme cardiaque, une dilatation pupillaire et une augmentation de la température corporelle (Benchimol et al., 1978; Lathers et al., 1988). Ces effets physiologiques sont accompagnés d'effets psychologiques menant à une grande euphorie souvent comparée à l'orgasme (Warner, 1993), mais aussi une augmentation d'énergie, une augmentation de l'estime de soi, une désinhibition, une plus grande vigilance, une perte de l'appétit, une perte de sommeil, une plus grande irritabilité, une activité sexuelle altérée, de la violence, des mouvements répétés (stéréotypés) ou même de la psychose (Post, 1975; Byck and Van Dyke, 1977; Gawin and Ellinwood, 1988; Lathers et al., 1988; Freye, 2009b). À plus forte stimulation du système nerveux central, la cocaïne peut être très toxique et générer une insensibilité aux bruits extérieurs, des réflexes exacerbés, une augmentation de la pression artérielle, un accident vasculaire cérébral, une ischémie puis la mort (Lathers et al., 1988). Dans le prochain paragraphe nous allons voir que la voie d'administration de la cocaïne détermine la pharmacocinétique de la drogue et que ceci régule tant les effets physiologiques que les effets psychologiques de la cocaïne (pharmacodynamie).

2.4 Impact de la voie d'administration de la cocaïne sur sa pharmacocinétique et sa pharmacodynamie

2.4.1 La voie d'administration de la cocaïne comme facteur limitant de son absorption

Quand administrée par voie intraveineuse, la cocaïne se retrouve instantanément dans le système sanguin et n'est soumise à aucun effet de premier passage (**Fig. 8**) ce qui permet une biodisponibilité de la drogue de 100%. La pureté de la cocaïne HCl achetée va donc être le facteur limitant pour atteindre la réponse pharmacologique désirée (Verebey and Gold, 1988). La cocaïne injectée par voie intraveineuse doit ensuite traverser les poumons pour revenir au cœur gauche, en être expulsée et être distribuée au cerveau (**Fig. 8**).

Quand inhalée, une drogue est directement absorbée par les alvéoles pulmonaires (très grande surface d'absorption) vers la circulation sanguine puis est finalement pompée par le ventricule gauche pour être distribuée au cerveau (**Fig. 8**). Les deux voies d'administration,

intraveineuse et fumée, véhiculent donc la cocaïne au cerveau très rapidement [~15 secondes (Evans et al., 1996)].

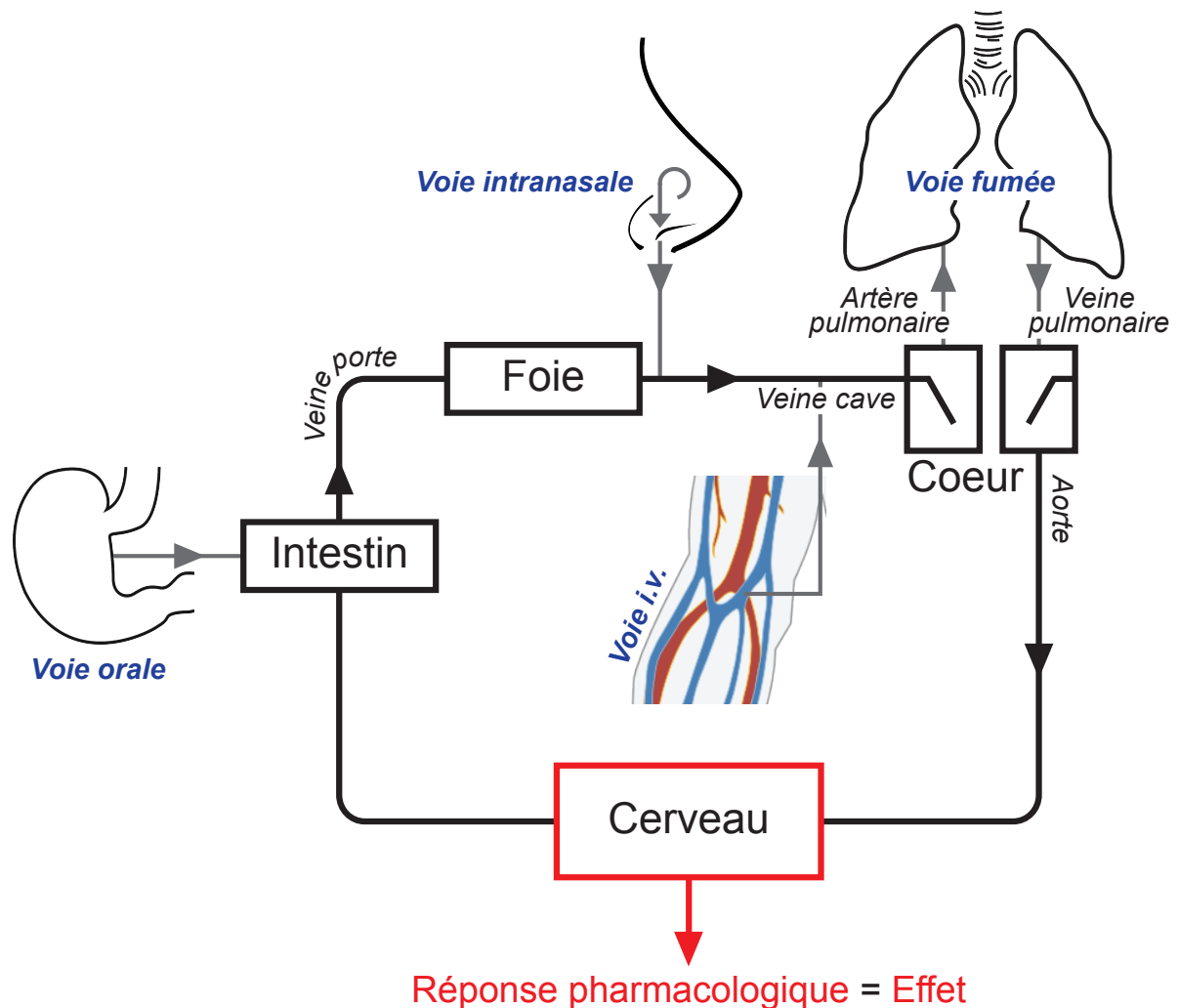


Fig. 8. Arrivée de la cocaïne dans la circulation systémique en fonction de la voie d'administration. Les mécanismes d'absorption de la cocaïne sont très dépendants de la manière dont la drogue est administrée. La voie intraveineuse (i.v.) est la voie d'administration de référence menant à une biodisponibilité de la cocaïne égale à 100%. Dépendamment de la voie d'administration privilégiée, l'absorption peut mener à (1) des pertes de drogue avant distribution aux organes effecteurs et (2) des temps d'arrivée à la circulation systémique différents.

Le pourcentage bio-disponible d'une drogue inhalée peut, par contre, être difficile à déterminer comparé à une drogue injectée (**citation 5**) et variable d'un consommateur à l'autre puisqu'il est étroitement lié à la manière de fumer : le nombre de prises en bouffées, la durée, l'intensité, la profondeur de l'inhalation ou encore la fraction de drogue inhalée par rapport à l'air sont des facteurs de variabilité (Benowitz, 1990). La biodisponibilité de la cocaïne fumée est également dépendante de la température à laquelle elle est chauffée. Plus la température

est élevée, plus la cocaïne se décompose via un mécanisme de pyrolyse et moins la biodisponibilité de la cocaïne est bonne (Hatsukami and Fischman, 1996). Le pourcentage de cocaïne qui reste dans la pipe par condensation est également un facteur à considérer (Jones, 1990). La biodisponibilité de la cocaïne fumée a toutefois été évaluée relativement élevée [57-70% (Jeffcoat et al., 1989; Cone, 1995, 1998)].

Citation 5 :

The intravenous route is considered to be a reasonable paradigm for cocaine smoking, but with more precise and predictable dosage control. Smoking, on the other hand, provides a noninvasive way to achieve instant access of cocaine to the systemic circulation (Jatlow, 1988)

Les mécanismes d'absorption de la cocaïne vont être différents pour les voies d'administration orale et intranasale, considérées plus lentes. Tout d'abord, quand sniffée, la cocaïne est absorbée à travers les muqueuses nasales et le caractère vasoconstricteur de la cocaïne va limiter et ralentir sa propre absorption [pouvant aussi mener à la perforation puis la nécrose du septum nasal après insufflations répétées (Verebey and Gold, 1988)]. Une observation clinique a montré que la cocaïne absorbée par la muqueuse nasale pouvait arriver au cerveau en l'espace de 2 minutes [signes d'agitation et d'excitation (Jones, 1984)]. Quand prise par voie orale, la cocaïne peut être mâchée et avalée, ce qui peut mener à une absorption au niveau des muqueuses buccales en parallèle d'une absorption au niveau du tractus gastro-intestinal (Fischman, 1984). La cocaïne avalée peut alors être soumise à l'effet de premier passage hépatique (**Fig. 8**) pouvant diminuer son absorption vers la circulation systémique. La biodisponibilité de la cocaïne insufflée par le nez est plus ou moins similaire à celle de la cocaïne prise par voie orale et relativement variable, entre 20 et 60% (Wilkinson et al., 1980; Jones, 1984; Jatlow, 1988; Verebey and Gold, 1988).

2.4.2 Distribution, métabolisme et élimination de la cocaïne

A partir du moment où une molécule de cocaïne est absorbée, qu'elle soit arrivée rapidement ou lentement n'affecte plus vraiment sa pharmacocinétique (Hatsukami and

Fischman, 1996). La phase de distribution de la cocaïne est très rapide [Volume de distribution estimé à 2L/kg, cocaïne liée à l'albumine et l' α_1 -glycoprotéine (Chow et al., 1985; Quinn et al., 1997)]. Aussi, la cocaïne est rapidement éliminée du corps avec une demi-vie relativement courte [~40 minutes (Javaid et al., 1983; Chow et al., 1985)]. Seule une très faible proportion de cocaïne non métabolisée est retrouvée dans l'urine (1-5%). Pour la grande majorité d'une dose de cocaïne, le benzoylecgonine et l'ecgonine methyl ester – qui constituent à eux seuls 80 à 90% des métabolites de la cocaïne – sont excrétés dans l'urine (Jatlow, 1988; Fleming et al., 1990). Ces métabolites inactifs de la cocaïne ont une cinétique beaucoup plus lente et stable que la cocaïne avec une demi-vie plus longue (4-6 heures) et peuvent être détectés dans l'urine de nombreuses heures après administration de la cocaïne [jusqu'à 36 heures pour l'ecgonine methyl ester et jusqu'à 60 heures pour le benzoylecgonine (Ambre et al., 1984; Ambre, 1985; Jeffcoat et al., 1989)]. La détection de ces métabolites peut servir de marqueur de la consommation de cocaïne.

2.4.3 Rapide et efficace

La cinétique des niveaux plasmatiques de cocaïne est montrée en fonction des quatre voies d'administration de la drogue dans la **figure 1** de Allain et al. (2015), figure modifiée de Jones (1990) – revue en **annexe**. Ainsi la pharmacocinétique de la cocaïne injectée ressemble fortement à celle de la cocaïne inhalée (Van Dyke and Byck, 1982; Jeffcoat et al., 1989; Cook and Jeffcoat, 1990; Jones, 1990; Warner, 1993). De même, la pharmacocinétique de la cocaïne prise par voie intranasale ressemble fortement à celle de la cocaïne prise par voie orale (Wilkinson et al., 1980; Van Dyke and Byck, 1982; Jones, 1984, 1990).

Le temps requis (T_{max}) pour atteindre les niveaux maximums de cocaïne (C_{max}) dans le sang (**Fig. 9**) est de l'ordre de quelques minutes, donc très court pour les voies d'administration intraveineuse et fumée [~5 min (Javaid et al., 1978; Jeffcoat et al., 1989; Cook and Jeffcoat, 1990; Foltin and Fischman, 1991; Evans et al., 1996)], mais est beaucoup plus long pour les

voies d'administration intranasale et orale [~30-60 minutes (Van Dyke et al., 1976; Javaid et al., 1978; Javaid et al., 1983; Fleming et al., 1990; Jones, 1990)].

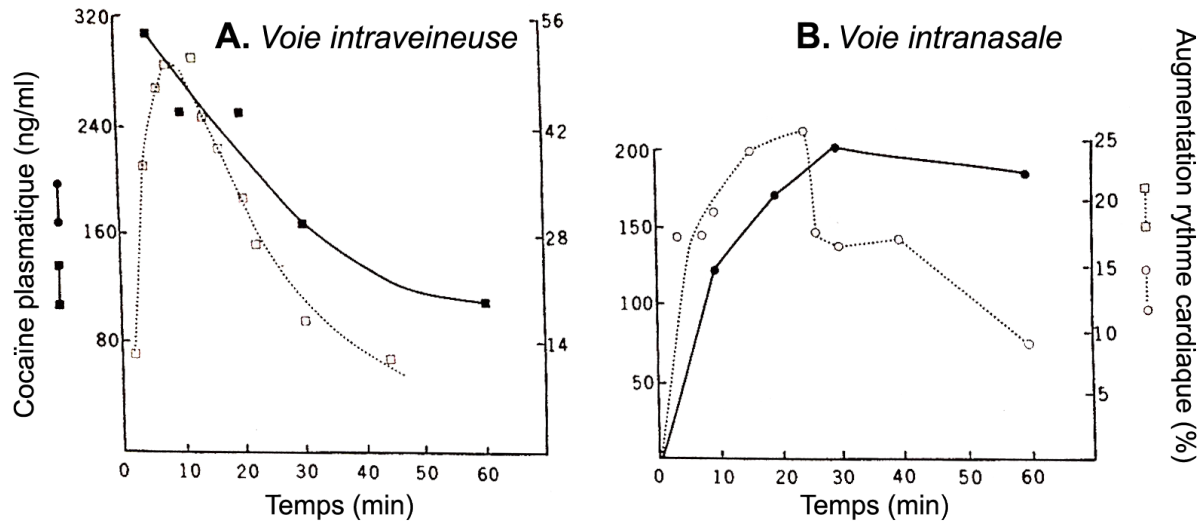


Fig. 9. Niveaux plasmatiques de cocaïne et réponse physiologique en fonction de la voie d'administration. La cocaïne a été administrée par deux voies différentes : (A) la voie intraveineuse (32 mg de cocaïne) et (B) la voie intranasale (96 mg de cocaïne). Les niveaux plasmatiques (pharmacocinétique) et l'augmentation du rythme cardiaque (réponse physiologique = pharmacodynamie) sont exprimés en fonction du temps après administration de la cocaïne. Le rythme cardiaque est exprimé en pourcentage de changement par rapport aux niveaux de base qui ont été mesurés 30 minutes avant l'administration de drogue [adapté de Javaid et al. (1978)].

L'intensité des effets physiologiques et subjectifs dus à la cocaïne (**tableau III**) est également semblable entre les voies intraveineuse et fumée d'une part (Perez-Reyes et al., 1982; Jones, 1990; Foltin and Fischman, 1991) puis entre les voies intranasale et orale d'autre part [(Jones, 1984, 1990), même si les temps d'apparition des effets sont plus rapides avec la voie intranasale qu'avec la voie orale].

Pour les voies rapides d'administration de la cocaïne, les niveaux de drogue dans le sang et la dose administrée corrént avec l'intensité des effets physiologiques et subjectifs [(Fischman et al., 1976; Resnick et al., 1977; Benchimol et al., 1978; Javaid et al., 1978; Evans et al., 1996), voir aussi **Fig. 9A**]. Pour la voie intranasale, il a également été démontré que les niveaux de cocaïne plasmatiques peuvent prédire les effets physiologiques et subjectifs de la drogue [(Resnick et al., 1977; Javaid et al., 1978), voir aussi **Fig. 9B**]. Pour la voie orale, la

concentration de cocaïne retrouvée dans les feuilles de coca semble à la fois corrélér avec les niveaux de drogue dans le sang ainsi qu'avec l'effet stimulant de la cocaïne (Holmstedt et al., 1979; Paly et al., 1979).

| | Voie d'administration | | | |
|---|----------------------------|-----------------------------|--------------------------|---------------------------|
| | i.v. (0.6 mg/kg) | Fumée (0.4 mg/kg) | i.n. (2 mg/kg) | Orale (2 mg/kg) |
| Augmentation rythme cardiaque, <i>bpm</i> | 46 | 32 | 26 | 20 |
| Augmentation PAS, <i>mmHg</i> | 28 | 32 | 24 | 19 |
| Augmentation PAD, <i>mmHg</i> | 16 | 22 | 11 | 14 |
| 'High' subjectif – Échelle de 1 à 100 | 48 | 35 | 18 | 18 |

Tableau III. Amplitude des effets physiologiques et subjectifs de la cocaïne en fonction de la voie d'administration. Ces données ont été collectées chez 10 consommateurs de cocaïne en faisant varier la voie d'administration de manière contrebalancée pour chacun des 10 consommateurs avec environ 3 jours de pause entre chaque mesure. *i.v.* voie intraveineuse ; *i.n.* voie intranasale ; *bpm*, battements par minute ; *PAS*, pression artérielle systolique ; *PAD*, pression artérielle diastolique [adapté de Jones (1990)].

Les effets physiologiques et psychologiques de la cocaïne sont donc plus importants (**tableau III**), plus rapides mais aussi plus brefs quand la cocaïne est administrée par des voies rapides (Freye, 2009a). Ainsi la voie fumée offre une alternative intéressante aux consommateurs de cocaïne qui s'injectent la drogue (Farre and Cami, 1991) puisqu'elle mène aux mêmes effets positifs que la voie intraveineuse comme un 'rush' très rapide (Javaid et al., 1978; Perez-Reyes et al., 1982; Jones, 1990) avec l'avantage d'éviter plusieurs aspects négatifs associés aux injections : procédure invasive pouvant être douloureuse (voir aussi **citation 5**), infections par le sang contaminé, stigmatisation des consommateurs qui s'injectent (Foltin et al., 1995).

2.4.4 Potentiel addictif de la cocaïne en fonction de la voie de son administration

Plutôt qu'une voie d'administration de la cocaïne avec une vitesse d'absorption de la drogue relativement lente et/ou incomplète pouvant mener à une réponse pharmacologique retardée et/ou diminuée, les consommateurs de cocaïne vont préférer une voie d'administration de la drogue avec une vitesse d'absorption rapide et complète qui mène à une cinétique rapide et une réponse pharmacologique élevée (Busto and Sellers, 1986). Pour autant, la voie

intranasale est la voie d'administration la plus utilisée parmi les consommateurs de cocaïne, notamment parce qu'il s'agit d'une voie d'administration simple ne nécessitant pas d'équipement (Oldendorf, 1992). Mais cette voie est majoritairement associée à une consommation récréative de cocaïne, ou encore à l'initiation de la consommation avant transition vers la toxicomanie (Hatsukami and Fischman, 1996). Les travaux de Pottieger et al. (1995) ont montré que presque 90% des consommateurs de crack – avant que le crack gagne en popularité (Siegel, 1982) – avaient initié leur consommation avec de la cocaïne HCl administrée par voie intranasale (voir aussi **citation 6**).

Citation 6 :

Intranasal use of cocaine hydrochloride may be a gateway drug or behavior to crack cocaine use, although there may have been a change to smoked cocaine as the initial route of administration since the mid 1980s and 1990s (Hatsukami and Fischman, 1996)

La voie d'administration de la cocaïne peut donc être déterminante dans la progression d'une consommation récréative vers une consommation compulsive (Hatsukami and Fischman, 1996; Quinn et al., 1997). Dans l'étude menée par Siegel (1985), tous les consommateurs compulsifs de cocaïne étaient des usagers de la voie fumée, une voie d'administration très rapide de la cocaïne. Ceci ne veut en aucun cas dire que la voie intranasale ne peut pas mener à un usage compulsif de la cocaïne, le potentiel addictif de cette voie d'administration ayant été reconnu (Siegel, 1985; Hatsukami and Fischman, 1996). Le message ici est que les voies les plus rapides ont un potentiel addictif plus grand que les voies plus lentes (Hatsukami and Fischman, 1996; Chen and Anthony, 2004), mais toute consommation comporte des risques.

Un autre facteur pharmacocinétique à considérer en fonction des voies d'administration rapides et plus lentes de la cocaïne est la dissipation des effets. Dans l'étude menée par Javaid et al. (1978), le 'high' maximal était ressenti 3-5 minutes après une injection intraveineuse de cocaïne et complètement dissipé ~30 minutes plus tard, ces temps pouvant être doublés voire

triplés avec une injection intranasale de cocaïne. Ces temps de dissipation des niveaux de drogue et des effets sont critiques dans l'addiction à la cocaïne puisqu'ils peuvent influencer (1) les intervalles entre les prises de drogue [(Oldendorf, 1992), voir aussi **citation 7**], (2) la fréquence de consommation et (3) des consommations répétées et très rapprochées (voir section **2.5**). Pour la voie orale, les niveaux de cocaïne dans le plasma peuvent être soutenus pendant plusieurs heures dû au fait par exemple que la cocaïne soit mâchée en continu (Paly et al., 1979). Ces niveaux de drogue soutenus, qui ne fluctuent pas, sont probablement une des raisons pour laquelle la voie d'administration orale de la cocaïne possède un faible potentiel addictif.

Citation 7 :

When users take cocaine repeatedly, the interval between doses varies depending on the route used. Applicants to our program reported that the typical interval between

- (1) intranasal cocaine doses is 30-40 min*
 - (2) intravenous cocaine injections is 10-20 min*
 - (3) smoked cocaine is 2-10 min*
- (Foltin et al., 1995)*

2.5 Vers une pharmacocinétique de la cocaïne en pics chez les consommateurs expérimentés

La transition vers une consommation type 'binge' de cocaïne serait associée avec la progression vers une voie d'administration plus intense et plus rapide (de la voie intranasale vers la voie fumée ou intraveineuse) mais aussi avec le développement même de l'addiction (Gawin, 1991). Ainsi, l'addiction se caractérise par un changement du mode de consommation de la cocaïne. Un unique épisode de 'binge' – caractérisé par une consommation compulsive, incontrôlable et rapide qui perturbe les cycles éveil/sommeil – peut durer de nombreuses heures voire quelques jours [~24 heures, généralement de 1 heure à 96 heures (Siegel, 1984a, 1985; Gawin and Kleber, 1986; Gawin and Ellinwood, 1989; Gawin, 1991)]. Ces épisodes peuvent être stoppés par le simple besoin de se réapprovisionner en drogue avec la recherche d'argent associée ou encore par l'extrême fatigue engendrée par le 'binge' lui-même [(Siegel, 1984a; Gawin and Ellinwood, 1989; Ward et al., 1997; Simon et al., 2002), voir aussi **citation**

8]. Il y a donc une notion d'intermittence de consommation de la cocaïne qui accompagne la consommation type 'binge' de drogue puisque plusieurs jours d'arrêt de consommation peuvent intercaler deux épisodes de 'binge' (Gawin and Kleber, 1986; Gawin, 1991). Ce schéma de consommation cyclique, intermittent entre les 'binges', se distingue d'une prise plus journalière et régulière de la drogue associée à un stade plus précoce de la maladie (Gawin and Kleber, 1986; Pottieger et al., 1995).

Citation 8 :

Smoking episodes continued until supplies of cocaine were depleted or users became exhausted and fell asleep (Siegel, 1984a)

Au sein même de ces 'binges', les consommateurs rapportent qu'ils ressentent de nombreuses périodes d'extrême euphorie (Gawin, 1991). Sachant que les effets subjectifs et physiologiques de la cocaïne corrèlent avec les niveaux de drogue administrés ainsi qu'avec les niveaux de cocaïne plasmatiques (voir section **2.4.3**), ceci suggère que la consommation de cocaïne est non seulement intermittente entre (*between*) les 'binges' mais aussi à l'intérieur (*within*) d'un même 'binge' (**citation 9**, voir aussi **Fig. 10**).

Citation 9 :

Drug users adopt intermittent patterns of use, and this is seen both within and between a bout of intoxication (Allain et al., 2015)

Cette hypothèse semble renforcée par une récente étude clinique qui a étudié le patron de consommation d'usagers de cocaïne en fonction de leurs années d'expérience (Beveridge et al., 2012). Dans cette étude, ont été comparés deux groupes de consommateurs, (1) des consommateurs ayant utilisé la cocaïne depuis 4-9 ans et (2) des consommateurs ayant utilisé la cocaïne depuis 25-32 ans. De manière très surprenante, il est indiqué que ces deux groupes achètent en moyenne une dose équivalente de cocaïne à leur vendeur, et de fait consomment des doses semblables de drogue. Ce qui semble distinguer ces deux groupes est la manière dont ils consomment cette dose de cocaïne achetée au sein d'un événement d'intoxication.

Les consommateurs les plus expérimentés consommeraient leur dose totale de drogue en un nombre de fois plus petit que les consommateurs les moins expérimentés et ainsi, pour chaque utilisation, à des niveaux plus élevés (Beveridge et al., 2012). Avec une attente d'environ 1 heure entre chaque prise (Beveridge et al., 2012; Zimmer et al., 2012), et sachant que la demi-vie de la cocaïne est égale à ~40 minutes (Javaid et al., 1983), il est peu probable que les niveaux de cocaïne plasmatiques (ainsi que ceux dans le cerveau) soient maintenus élevés en continu à l'intérieur d'une session d'intoxication chez les cocaïnomanes les plus expérimentés. Ceci suggère très fortement que chez les usagers expérimentés de cocaïne, la consommation de drogue est intermittente entre les sessions d'intoxication [i.e. entre les 'binges' (Gawin and Kleber, 1986; Gawin, 1991)], mais aussi au sein même de ces sessions, générant ainsi des pics de drogue plasmatiques (**Fig. 10**). Cette pharmacocinétique en pics de la cocaïne semble critique dans l'addiction à la cocaïne puisqu'associée à un schéma d'utilisation expérimentée de la drogue (Beveridge et al., 2012).

Bien qu'une consommation type 'binge' soit également observable pour une drogue comme l'amphétamine (Kramer et al., 1967), les effets de la cocaïne se dissipent beaucoup plus rapidement que ceux de l'amphétamine ce qui laisse supposer que l'amphétamine serait une drogue moins prompte à générer de nombreux pics de drogue au sein d'un événement type 'binge'. Ainsi, la demi-vie relativement courte de la cocaïne semble être un facteur critique pour la mise en place de ces pics de drogue 'intra-binges' (Beveridge et al., 2012).

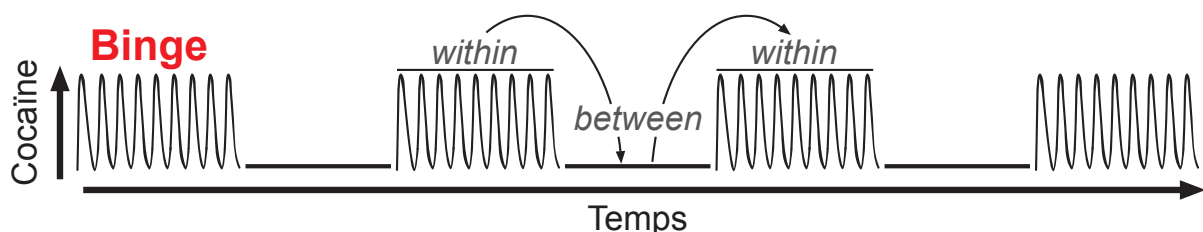


Fig. 10. Représentation d'un schéma de consommation intermittente de cocaïne entre (*between*) les événements type 'binge' et au sein même (*within*) de ces événements. La consommation de cocaïne étant intermittente au sein d'un 'binge' de consommation, ceci devrait générer des pics de cocaïne (dans le plasma ainsi que dans le cerveau). Il s'agit ici d'un concept, l'échelle de temps n'est donc pas représentative de la réalité, un 'binge' pouvant durer quelques heures comme plusieurs jours. Le nombre de pics au sein d'un 'binge' a également été choisi de manière arbitraire et répété pour le besoin de la figure, mais il faut imaginer que ceci peut être variable tant entre les 'binges' qu'entre les consommateurs de cocaïne.

De manière très intéressante, cette analyse semble être exactement la même pour les voies d'administration rapides et plus lentes de la cocaïne. Tout comme pour les consommateurs expérimentés versus moins expérimentés (Beveridge et al., 2012), une étude rapporte que des usagers de la voie intraveineuse et des usagers de la voie intranasale consomment plus ou moins la même quantité de cocaïne par semaine [~5 grammes (Gawin and Kleber, 1985)]. Ce qui dissocierait ces deux groupes d'usagers serait leur façon de consommer ces 5 grammes de drogue, avec une intoxication plus élevée en un temps plus restreint (bolus) et ainsi un nombre de consommations moindre chez les usagers qui s'injectent versus ceux qui consomment par voie intranasale (Gawin and Kleber, 1985).

Pour résumer, ces deux variables pharmacocinétiques peuvent aller de pair et favoriser la transition vers la toxicomanie : (1) la voie d'administration de la cocaïne qui contrôle sa vitesse d'absorption et de fait sa vitesse d'arrivée au cerveau et (2) l'intermittence de la consommation menant très probablement à des pics de cocaïne au cerveau chez les consommateurs les plus expérimentés.

3. Renforcement positif versus potentiel addictif de la cocaïne chez l'animal

Nous venons de voir qu'une liste de symptômes liés à un trouble d'usage de substance est à la disponibilité des cliniciens, et que c'est la validation de ces symptômes qui permet d'établir ou non un diagnostic d'addiction [section 1.3.2, **tableau I** (APA, 2013)]. Pour autant, il est très difficile – voire impossible – de savoir si la validation d'un de ces symptômes est une cause ou une conséquence de l'addiction. Ceci est une vraie limite à la compréhension de la pathologie dans un contexte clinique et c'est pourquoi la recherche animale est absolument nécessaire pour établir de vraies relations causales entre la consommation de drogue, le développement d'un phénotype toxicomane et la neuro-plasticité engagée par l'addiction (Olmstead, 2006).

Cependant, il a longtemps été considéré que l'addiction aux drogues était une condition réservée uniquement à l'humain du fait que les animaux ne puissent pas expliquer leurs effets. Spragg (1940) a ensuite démontré que des chimpanzés injectés de manière répétée avec de la morphine et en condition de sevrage étaient capables d'effectuer une tâche pour réclamer une injection passive de drogue à l'expérimentateur. Cette étude pionnière est révélatrice puisqu'elle démontre que les animaux ressentent les effets des drogues. Ainsi, encore aujourd'hui, un défi majeur en recherche préclinique est de générer des modèles animaux cliniquement pertinents, avec un schéma de consommation de drogue qui pourrait être assimilable à celui de consommateurs expérimentés (Roberts et al., 2007; Ahmed, 2012). Il est donc important d'utiliser des indicateurs comportementaux pour dissocier une consommation récréative d'une consommation pathologique de drogue chez l'animal. Les sciences comportementales – sciences observationnelles qui étudient un organisme dans son ensemble (**citation 10**) – sont un outil essentiel en recherche préclinique sur l'addiction.

Citation 10 :

Behavior is what an organism is doing – or more accurately what it is observed by another organism to be doing (Skinner, 1938)

3.1 Évaluer l'effet renforçant d'une drogue en préclinique

3.1.1 Les comportementalistes Pavlov et Skinner

Basés sur l'observation comportementale (**citation 10**), deux types de conditionnement ont été décrits : le conditionnement pavlovien et le conditionnement skinnerien – noms dus à leurs penseurs respectifs, Ivan Petrovich Pavlov et Burrhus Frederic Skinner (Catania and Laties, 1999). Ces deux types de conditionnement servent aujourd'hui toujours de base fondamentale aux études précliniques comportementales.

Le conditionnement pavlovien date des années 1900 et a été décrit par I. P. Pavlov lors d'observations comportementales effectuées sur son chien. Dans ce conditionnement, le chien salive (réponse non conditionnée) quotidiennement en réponse à la présence de nourriture (stimulus non conditionné, étape 1, **Fig. 11**). En parallèle, un stimulus neutre (dans ce cas le son d'une cloche) ne génère aucun réflexe (étape 2, **Fig. 11**). Lors de l'étape suivante (étape 3, **Fig. 11**), l'apprentissage du conditionnement commence en associant la présence de nourriture à la présence du stimulus neutre. L'étape 3 doit être répétée plusieurs fois pour parvenir à transformer le stimulus neutre en stimulus conditionné qui générera ensuite à lui seul une réponse conditionnée (salivation sans présence de nourriture, étape 4, **Fig. 11**).

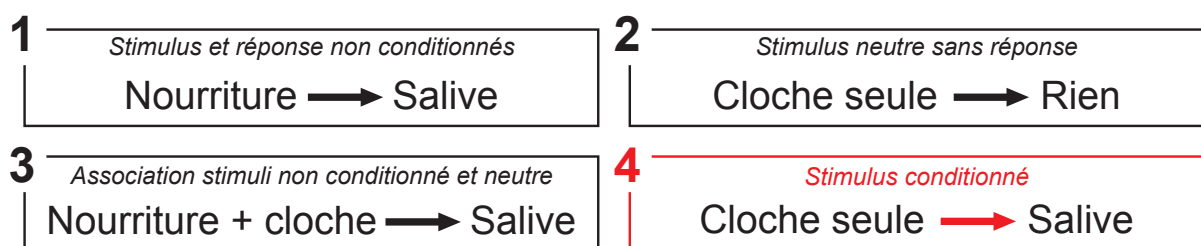


Fig. 11. Conditionnement pavlovien. Ce conditionnement associe une réponse physiologique automatique (salivation) à un stimulus de l'environnement préalablement sans lien avec cette réponse (cloche).

C'est ensuite dans les années 1940 que B. F. Skinner tenta d'apprendre une tâche comportementale à un pigeon en renforçant cette tâche (Peterson, 2004). L'acquisition fut telle que B. F. Skinner développa le conditionnement skinnerien ou conditionnement opérant – le

terme 'opérant' est ici important car il indique que l'animal doit réaliser un comportement spécifique pour se voir mériter une récompense. Le conditionnement skinnerien est quelque peu plus complexe que le conditionnement pavlovien puisqu'un comportement peut être conditionné par un stimulus environnemental mais aussi puisque l'absence de ce stimulus peut conditionner l'arrêt du comportement. Dépendamment de l'apprentissage, la réponse comportementale peut être ajustée. C'est pourquoi quatre types de conditionnement opérant sont décrits : les renforcements positif et négatif (le but est de *favoriser* un comportement via l'ajout ou le retrait d'un stimulus, respectivement) et les punitions positive et négative (le but est de *défavoriser* un comportement via l'ajout ou le retrait d'un stimulus, respectivement).

3.1.2 Préférence de place conditionnée

La préférence de place conditionnée ou CPP (*Conditioned Place Preference*) est un paradigme comportemental très populaire basé sur le conditionnement pavlovien. Les animaux sont placés dans une boîte composée de deux compartiments distincts (e.g. texture différente et/ou couleur différente).

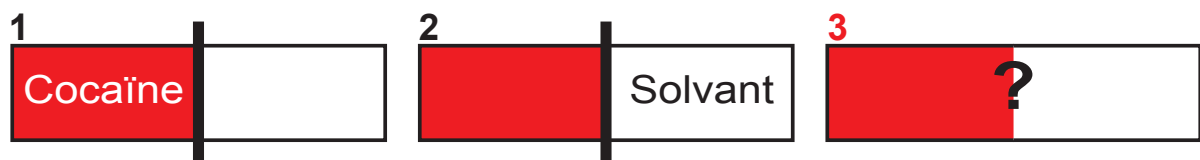


Fig. 12. Préférence de place conditionnée par la cocaïne. Lors des étapes 1 et 2, les deux compartiments ne sont pas connectés et les rats associent le compartiment 1 (rouge) avec les injections de cocaïne et le compartiment 2 (blanc) avec les injections de solvant. Lors de l'étape 3 (test de préférence de place), les deux compartiments sont connectés et le temps passé dans les deux compartiments est mesuré.

Les animaux sont injectés avec une drogue dans le compartiment 1 et injectés avec son solvant dans le compartiment 2. Ces deux étapes sont répétées plusieurs fois en étant alternées (e.g. injections de cocaïne les jours pairs et injections de solvant les jours impairs). Lors du test, les animaux ont un accès libre aux deux compartiments sans être injectés (**Fig. 12**). L'effet renforçant de la drogue est validé si les animaux passent significativement plus de temps dans le compartiment précédemment associé aux injections de drogue (Sanchis-

Segura and Spanagel, 2006). De nombreuses drogues auto-administrées, dont la cocaïne, conditionnent une préférence de place (Nomikos and Spyraiki, 1988; Bardo and Bevins, 2000).

3.1.3 Autostimulation intracrânienne

En 1953, Olds et Milner ont remarqué que des animaux ayant reçu une stimulation intracrânienne (dans l'aire septale du cerveau) retournaient dans l'environnement associé à la stimulation (Milner, 1991; Wise, 1996). Basé sur le concept de préférence de place conditionnée, ceci suggère que la stimulation intracrânienne est en soi récompensante. Olds et Milner ont ensuite confirmé cette hypothèse avec le paradigme d'autostimulation intracrânienne (ICSS, *IntraCranial Self-Stimulation*) – paradigme basé sur le conditionnement opérant et nécessitant une boîte de Skinner – où des rats sont prêts à appuyer sur un levier pour recevoir une stimulation électrique intracrânienne (Olds and Milner, 1954).

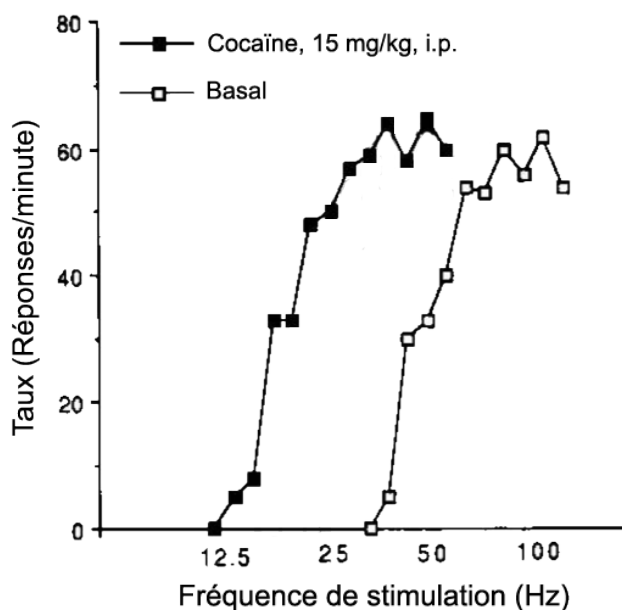


Fig. 13. Facilitation de l'autostimulation intracrânienne par la cocaïne. Dans cet exemple, le seuil de stimulation est abaissé de ~30Hz à 12Hz avec la cocaïne [adapté de Wise et al. (1992)]. i.p. intrapéritonéal.

Il est ainsi possible d'extraire une courbe taux de réponse sur le levier en fonction de la dose de stimulation – les paramètres de stimulation (intensité, durée, fréquence, train de stimulation) devant être adaptés en fonction de la zone cérébrale ciblée. À faible dose de stimulation, le taux de réponse est proche de zéro. Il augmente ensuite à mesure que la dose

de stimulation augmente jusqu'à atteindre une dose seuil où le taux de réponse est maximal (**Fig. 13**). Un déplacement de cette courbe vers la gauche (ce qui est le cas pour la plupart des drogues abusées, dont la cocaïne, **Fig. 13**) ou vers la droite indique une augmentation ou une diminution de la puissance de la stimulation intracrânienne, respectivement (Gallistel and Karras, 1984; Wise et al., 1992; Wise, 1996). Le seuil de stimulation est la dose minimale de stimulation requise pour soutenir un comportement d'appui sur le levier et ce seuil est diminué par l'administration passive de cocaïne [(Kornetsky et al., 1979), voir aussi **Fig. 13**].

3.1.4 Auto-administration intraveineuse de drogue

Le CPP et l'ICSS sont tous deux des paradigmes comportementaux qui permettent une analyse indirecte de l'effet récompensant des drogues (drogue + contexte ou drogue + stimulation électrique). Par ailleurs, ces deux types de comportement sont difficilement extrapolables à ce qui est observé en clinique. Ainsi, la technique d'auto-administration de drogue pallie ces deux limites et est l'outil comportemental que j'ai utilisé tout le long de ma thèse. L'auto-administration de drogue a le même avantage que l'ICSS de pouvoir quantifier un comportement effectué par l'animal et ainsi de le relier à son 'désir' d'obtenir : la drogue dans le cas de l'auto-administration ou la stimulation dans le cas de l'ICSS (**citation 11**). L'avantage de l'auto-administration par rapport à l'ICSS est que l'animal travaille maintenant directement pour la drogue (e.g. appuyer sur un levier). Il faut ici faire attention à l'emploi du terme 'désir' qui est un critère subjectif non quantifiable chez l'animal. Nous verrons dans les prochains paragraphes comment la recherche de drogue chez l'animal peut être analysée.

Citation 11 :

By putting the animal in the 'do-it-yourself' situation we could translate the animal's strength of 'desire' into response frequency, which can be seen and measured (Olds, 1956)

Les animaux sont implantés avec un cathéter dans la veine jugulaire, puis après récupération de la chirurgie ils sont placés dans des cages opérantes ou ils sont libres de leurs mouvements [(Weeks and Davis, 1964; Davis, 1966), mode opératoire de notre laboratoire

extensivement détaillé dans Samaha et al. (2011)]. Dans ces cages, les animaux sont connectés à un système qui comprend : une seringue remplie de drogue, un pousse seringue motorisé dans lequel est placée la seringue et un ordinateur qui va contrôler l'activation du pousse seringue. Les animaux peuvent donc décider d'appuyer sur un levier ce qui dictera l'activation du pousse seringue par l'ordinateur et donc la livraison d'une injection intraveineuse de drogue (**Fig. 14**).



Fig. 14. Auto-administration de cocaïne chez le rat. Dans cette cage opérante, le rat a accès à deux leviers : un levier actif dans le fond de la cage, sur lequel le rat est schématiquement en train d'appuyer et un levier inactif représenté au premier plan de la cage. Quand le rat appuie sur le levier actif alors il reçoit une injection intraveineuse de cocaïne et la lumière au dessus du levier actif s'allume. Il s'agit donc d'une association : Appui sur le levier actif + Injection de cocaïne + Lumière. Il ne se produit aucune conséquence quand le rat appuie sur le levier inactif. La lumière à gauche de la cage opérante est allumée tout le long de la session d'auto-administration (lumière centrale). Cette lumière n'est donc en rien associée avec la consommation de cocaïne. © Julie & Florence Allain.

C'est dans les années 1960 qu'il a été démontré pour la première fois que des rats étaient capables de s'auto-administrer de la morphine (Weeks, 1962) désignant ainsi l'administration de morphine comme renforcement positif des appuis sur le levier. Ceci a ensuite été démontré chez le singe (Thompson and Schuster, 1964), puis finalement validé pour d'autres drogues

comme la cocaïne à la fois chez le singe (Deneau et al., 1964, 1969) et le rat (Pickens, 1968; Pickens and Thompson, 1968). Généralement, les drogues auto-administrées par l'humain le sont également par le rat et le singe (Schuster and Thompson, 1969), ce qui donne de la crédibilité au modèle.

3.2 Des rats 'toxicomanes' ?

3.2.1 Appuyer sur un levier n'est pas synonyme d'addiction !

Dans les expériences d'auto-administration de drogue, les rats sont généralement exposés à des programmes à renforcement positif de la drogue sous ratio fixe (FR, *Fixed Ratio*). Le terme 'ratio' indique l'exigence de la tâche pour obtenir la drogue – cette exigence pouvant être ajustée. Par exemple, un ratio fixe de 1 (FR1) indique que le rat doit appuyer une fois sur le levier pour recevoir une injection de cocaïne intraveineuse alors qu'un ratio fixe de 5 (FR5) indique que le rat doit appuyer cinq fois sur le levier pour obtenir une seule injection de cocaïne. À noter qu'il existe de nombreux programmes à renforcement : le ratio peut ne plus être fixe mais variable d'une injection à l'autre et chaque injection peut être précédée d'un intervalle de temps lui-même fixe ou variable (Spealman and Goldberg, 1978). Ces programmes peuvent influencer le taux de réponse, la fréquence de consommation ainsi que la réponse en fonction de la dose de cocaïne administrée (Spealman and Goldberg, 1978; Sizemore et al., 1997).

Lors de mes cinq années de doctorat j'ai eu l'occasion de manipuler plusieurs cohortes de rats qui se sont auto-administrés de la cocaïne sous FR1 ou FR3. En laboratoire, nous établissons une gamme de critères qui nous permettent de juger si un rat a acquis la tâche d'auto-administration de cocaïne [pour nos protocoles et nos critères voir (Allain et al., 2017; Allain et al., 2018)]. J'ai ainsi pu estimer qu'en moyenne 90-95% des rats apprenaient de manière robuste à s'auto-administrer de la cocaïne. Ces chiffres révèlent deux choses importantes : (1) L'effet renforçant de la cocaïne est très puissant puisque l'acquisition

de la tâche d'auto-administration pour cette drogue est généralement rapide et très élevée chez les rats. De plus, ces pourcentages sont reproductibles entre les différentes cohortes d'animaux. (2) Ces 90-95% de rats qui répondent pour la cocaïne sont très éloignés des 17% d'individus consommateurs de cocaïne recensés comme développant une addiction [(Anthony et al., 1994), voir aussi section **1.3.3**]. Ceci suggère très fortement qu'il peut être dangereux de considérer un rat ayant appris de manière fiable à s'auto-administrer de la cocaïne comme étant un rat 'toxicomane'.

Ainsi, une difficulté en recherche préclinique est de dissocier un comportement de consommation 'simple' de drogue (*drug taking*) d'un comportement de recherche active (*drug seeking*) de drogue. Brièvement, en clinique il peut être facile de séparer ces deux critères. La préparation de la pipe à crack pour fumer la cocaïne, la préparation de la ligne de cocaïne pour la sniffer ou encore la préparation de la seringue de cocaïne pour se l'injecter sont tous des comportements de consommation qui ne prédisent pas forcément un phénotype 'toxicomane'. En parallèle, le fait de ne pas avoir sa dose sous la main et de devoir aller l'acheter et potentiellement s'exposer à des risques comme devoir voler est un comportement de recherche active de la drogue. Avec l'auto-administration intraveineuse de cocaïne chez le rat, sous FR1 ces deux critères sont confondus, les comportements de consommation et de recherche de drogue étant le résultat d'une même action – un appui sur le levier (Roberts et al., 2013).

C'est pourquoi les symptômes d'addiction à la cocaïne retrouvés chez l'humain dans le DSM-5 [(APA, 2013), voir aussi **tableau I**] sont communément un outil en recherche préclinique pour évaluer non plus l'effet renforçant d'une drogue mais bien son potentiel addictif [(Roberts et al., 2007; Ahmed, 2012), voir aussi **tableau IV** pour la correspondance entre l'humain et le rat]. À noter que les symptômes montrant une altération du fonctionnement social dans le DSM-5 (**tableau I**) sont difficilement extrapolables chez le rat.

| Chez l'humain (DSM-5) | Chez le rat | |
|--|--|--------------|
| <ul style="list-style-type: none"> • La drogue est souvent prise en quantité plus importante ou lors d'une période plus grande que celle prévue • Tolérance | Consommation type 'binge' et augmentation de la consommation dans le temps | 3.2.2 |
| <ul style="list-style-type: none"> • Désir persistant pour la drogue • Temps conséquent passé à obtenir et consommer la drogue | Augmentation de la motivation pour la drogue | 3.2.3 |
| <ul style="list-style-type: none"> • Désir persistant pour la drogue • Efforts infructueux pour diminuer ou contrôler la consommation de drogue | Résistance à l'extinction | 3.2.4 |
| <ul style="list-style-type: none"> • Possiblement <i>Craving</i> où envie irrépressible de consommer la drogue | Réinstallation de la recherche de drogue après extinction | 3.2.4 |
| <ul style="list-style-type: none"> • Consommation même dans des situations où cela peut être physiquement dangereux • La personne continue de consommer bien qu'elle ait conscience d'avoir un problème psychologique ou physique, persistant ou récurrent susceptible d'avoir été causé ou exacerbé par la drogue | Résistance à la punition | 3.2.5 |

Tableau IV. Les symptômes de l'addiction à la cocaïne retrouvés chez le rat. *Les symptômes de la toxicomanie décrits dans le DSM-5 aident à dissocier un rat qui garde une consommation contrôlée de drogue versus un rat qui devient 'toxicomane' [adapté de Ahmed (2012)].*

3.2.2 Consommation type 'binge' et augmentation de la consommation dans le temps

Accès à la drogue 24h/24

Nous avons vu plus haut (section 2.5) qu'une consommation de cocaïne type 'binge' se caractérisait par des événements de consommation pouvant durer de nombreuses heures (voire quelques jours) et que ces événements pouvaient défavoriser la présence d'autres comportements plus naturels comme le fait de se nourrir ou de dormir. De manière intéressante, ce genre de consommation est également mesurable chez l'animal. Chez le rat, le singe et même le chien, l'auto-administration continue de psychostimulants 24h/24 sous FR1 génère une consommation de drogue épisodique intercalée de pauses volontaires de la consommation – ces épisodes de consommation n'étant pas reliés au cycle éveil/sommeil des animaux (Deneau et al., 1969; Yokel and Pickens, 1973; Risner and Jones, 1976; Bozarth and Wise, 1985; Fitch and Roberts, 1993). Un tel accès illimité aux psychostimulants, dont la

cocaïne, mène à une perte de poids rapide des animaux, une détérioration générale de l'état de santé, des convulsions puis la mort (Deneau et al., 1969; Yokel and Pickens, 1973; Johanson et al., 1976; Risner and Jones, 1976; Bozarth and Wise, 1985; Fitch and Roberts, 1993). Cette répétition 'binge'/arrêt de consommation est très pertinente à l'étude de l'addiction puisqu'observée chez les consommateurs de cocaïne (Siegel, 1984a, 1985; Gawin and Kleber, 1986; Gawin and Ellinwood, 1989; Gawin, 1991). Cependant, la toxicité sévère engendrée par un accès illimité à la cocaïne oblige les expérimentateurs à imposer, de quelque manière que ce soit, une limite à la consommation de cocaïne chez les animaux.

Limiter la consommation quand la drogue est toujours accessible 24h/24

Il existe plusieurs stratégies pour conserver un accès 24h/24 à la cocaïne chez les animaux tout en évitant la toxicité due à une consommation continue de la drogue. Tout d'abord il est possible de stopper le 'binge' avant que la consommation ne devienne irrégulière/cyclique et mène ainsi à la toxicité ['binge' de 72 h, (Tornatzky and Miczek, 2000)]. Il s'agit donc ici d'étudier une phase précoce d'un accès continu et illimité de cocaïne. Cependant, une diminution du rythme circadien autonome a été mesurée jusqu'à 15 jours après l'arrêt du 'binge' (Tornatzky and Miczek, 2000), ceci pouvant être le signe d'une toxicité précoce engagée par le 'binge' lui-même. Une autre stratégie, sur le long terme cette fois ci, est d'imposer un nombre limité d'essais discrets de consommation de cocaïne par heure (DT, *Discrete Trials*). Dans ce cas, un programme DT1 indique que les rats ont un unique essai par heure pour s'auto-administrer une injection de cocaïne alors qu'un programme DT4 indique que les rats ont quatre essais par heure pour s'auto-administrer une injection de cocaïne par essai. Les programmes DT1 et DT2 sont hautement prédictifs de la consommation de cocaïne chez les rats puisque l'auto-administration de drogue reste cyclique et confinée à la phase active (phase de noirceur) du cycle circadien des animaux [pas de consommation de cocaïne pendant la phase de lumière = phase inactive des animaux ; (Fitch and Roberts, 1993; Roberts and Andrews, 1997; Brebner et al., 1999; Roberts et al., 2002)]. Les programmes DT4 et DT5 sont moins prédictifs que les programmes DT1 et DT2 – bien que la consommation de cocaïne

respecte généralement le cycle circadien des animaux, elle peut toutefois s'étendre à la phase inactive (phase de lumière) du cycle (Fitch and Roberts, 1993; Roberts et al., 2002; Lynch and Roberts, 2004). Ainsi il semble qu'une consommation de cocaïne sous DT ne soit pas optimale pour la formation de 'binges' de consommation qui dérèglent les cycles éveil/sommeil observés chez l'humain.

Limiter l'accès à la drogue quelques heures par jour

Une autre possibilité pour prévenir la toxicité engagée par un accès continu et illimité à la cocaïne est de restreindre l'accès à la drogue à un certain nombre d'heures par jour. Ces modèles ne se basent donc plus sur le dérèglement des cycles éveil/sommeil mais sur un accès quotidien à la cocaïne pendant de courtes sessions (1-3 h). Les niveaux de cocaïne administrés sont généralement stables d'une session sur l'autre (Yokel, 1987). De plus, en manipulant la dose de cocaïne disponible, les rats régulent leurs appuis sur le levier pour conserver une consommation globale stable entre les doses (Pickens and Thompson, 1968; Wilson et al., 1971; Dougherty and Pickens, 1973; Yokel, 1987; Sizemore et al., 1997; Oleson and Roberts, 2009). Le nombre de réponses en fonction de la dose administrée forme donc une courbe en 'U' inversée alors que la quantité globale de cocaïne consommée en fonction de la dose administrée augmente linéairement jusqu'à atteindre un seuil et se stabiliser [voir **Fig. 4** de Allain et al. (2015) – revue en **annexe**]. Ceci montre bien que les animaux ont la capacité incroyable de pouvoir équilibrer leur consommation de drogue pour qu'elle reste uniforme quelle que soit la dose disponible. Cependant, à première vue cette consommation stable, équilibrée et contrôlée semblait assez incompatible avec une consommation pathologique 'exagérée' de cocaïne décrite comme associée avec une augmentation des doses consommées [(Gawin and Kleber, 1988; Gawin, 1991) voir aussi **tableaux I et IV**]. C'est pourquoi Serge H. Ahmed et George F. Koob ont eu l'idée de comparer en 1998 deux groupes d'animaux ayant un accès continu à la cocaïne pendant des sessions de 1 heure (ShA, *Short Access*) ou de 6 heures (LgA, *Long Access*) par jour (Ahmed and Koob, 1998). Leur démonstration a été que les rats LgA consommaient des niveaux de drogue beaucoup plus

élevés que les rats ShA, mais aussi que les rats ShA conservaient cette stabilité dans leur consommation à travers les sessions alors que les rats LgA augmentaient leur consommation dans le temps (Ahmed and Koob, 1998). Les rats LgA peuvent ainsi consommer des niveaux excessifs de drogue comparé aux rats ShA sans qu'il n'y ait de toxicité reliée à la consommation, et ce pendant des mois (Ahmed and Koob, 1999). Ces résultats ont ensuite été reproduits de nombreuses fois (Ben-Shahar et al., 2004; Mantsch et al., 2004; Ferrario et al., 2005; Kenny et al., 2005; Knackstedt and Kalivas, 2007; Aujla et al., 2008; Wee et al., 2008; Orio et al., 2009; Hao et al., 2010; Bouayad-Gervais et al., 2014; Mandt et al., 2015) ce qui a placé le modèle LgA comme l'un des plus populaires ces vingt dernières années. À noter que l'augmentation de la consommation dans le temps n'est pas systématiquement mesurée chez des rats LgA (Mantsch et al., 2004; Kippin et al., 2006; Minogianis et al., 2013; Bouayad-Gervais et al., 2014) et peut dépendre de la pharmacocinétique de la cocaïne comme la dose administrée ou la vitesse d'injection de la cocaïne [(Mantsch et al., 2004; Wakabayashi et al., 2010; Bouayad-Gervais et al., 2014), voir Allain et al. (2015) en **annexe** pour plus de détails].

3.2.3 Augmentation de la motivation pour la drogue

Ratio Progressif

Comme nous venons de le voir, sous ratio fixe les animaux peuvent soit augmenter (e.g. à de faibles doses de cocaïne) soit diminuer (e.g. à de fortes doses de cocaïne) leurs réponses sur le levier afin de stabiliser leurs niveaux de drogue consommés. Ceci peut s'avérer compliqué à interpréter puisque deux comportements opposés peuvent mener à la même conclusion : une efficacité renforcée de la drogue (Arnold and Roberts, 1997). Ainsi, le ratio progressif (PR, *Progressive Ratio*) est utile pour mesurer la 'force' d'une récompense (Hodos, 1961). Comme son nom l'indique, dans un tel programme, le ratio n'est plus fixe mais progressif c'est à dire qu'au sein d'une même session de PR, le ratio requis pour obtenir l'injection 'n+1' augmente exponentiellement selon la formule suivante :

$$5 \times e^{(\text{numéro de l'injection} \times 0.2)} - 5 \text{ (Richardson and Roberts, 1996)}$$

Le **tableau V** montre, selon cette équation, le ratio requis (nombre fixe d'appuis) pour chaque injection – ce ratio devenant de plus en plus exigeant à mesure que les injections avancent.

| Numéro de l'injection | Formule | Ratio requis pour obtenir l'injection | Appuis totaux |
|-----------------------|----------------------------------|---------------------------------------|---------------|
| 1 | $5 \times e^{1 \times 0.2} - 5$ | 1 | 1 |
| 2 | $5 \times e^{2 \times 0.2} - 5$ | 2 | 3 |
| 3 | $5 \times e^{3 \times 0.2} - 5$ | 4 | 7 |
| 4 | $5 \times e^{4 \times 0.2} - 5$ | 6 | 13 |
| 5 | $5 \times e^{5 \times 0.2} - 5$ | 9 | 22 |
| - | - | - | - |
| 10 | $5 \times e^{10 \times 0.2} - 5$ | 32 | 126 |
| - | - | - | - |
| 15 | $5 \times e^{15 \times 0.2} - 5$ | 95 | 450 |
| - | - | - | - |
| 20 | $5 \times e^{20 \times 0.2} - 5$ | 268 | 1378 |
| - | - | - | - |
| 25 | $5 \times e^{25 \times 0.2} - 5$ | 737 | 3940 |

Tableau V. Nombre d'appuis sur le levier nécessaires pour obtenir une injection de cocaïne sous ratio progressif. Le ratio requis pour obtenir une injection augmente exponentiellement. Les appuis totaux sont la somme des appuis sur le levier effectué pour chaque injection.

Par exemple, pour obtenir la première injection de cocaïne, les animaux doivent appuyer une fois sur le levier, alors que pour obtenir l'unique 20^{ème} ils vont devoir appuyer 268 fois sur le levier (**tableau V**). Les animaux ont une heure de temps pour compléter chaque ratio et ainsi obtenir l'injection correspondante (Richardson and Roberts, 1996). Dès lors qu'une injection est consommée (i.e. un ratio est atteint), la limite de temps est remise à zéro et les animaux ont de nouveau 1 heure pour atteindre le prochain ratio. À un moment donné, l'exigence de la tâche devient telle que les animaux abandonnent. Le point de rupture (*breakpoint*) est le dernier ratio atteint par les animaux avant abandon de la tâche, et est un indice de la motivation des animaux pour la drogue (Hodos, 1961; Roberts, 1989; Roberts et al., 1989a; Roberts et al., 1989b; Depoortere et al., 1993; Li et al., 1994; Richardson and Roberts, 1996). Le point de rupture dépend de la dose de cocaïne disponible (Roberts et al.,

1989b; Depoortere et al., 1993; Arnold and Roberts, 1997) et n'est pas nécessairement prédit par les niveaux de consommation de cocaïne sous FR1 (Roberts et al., 1989a; Richardson and Roberts, 1996; Arnold and Roberts, 1997; Liu et al., 2005a).

Économie comportementale

Le ratio progressif offre donc l'opportunité d'évaluer la motivation des animaux pour une drogue – des points de rupture élevés étant le reflet d'une efficacité renforcée de la drogue. Cependant, ce paradigme expérimental ne permet pour ainsi dire l'extraction que d'une seule variable qui est le point de rupture ou le nombre d'injections consommées (Arnold and Roberts, 1997). Dans ce deuxième paradigme – l'économie comportementale – plusieurs variables peuvent être analysées et sont soit reliées à la consommation de drogue en tant que telle soit à la motivation des animaux pour la drogue (Madden, 2000). Ce paradigme s'intéresse à l'influence d'une variable économique (dans notre cas la drogue) sur le comportement – une augmentation de la demande pour la drogue se traduirait ainsi par un changement du point d'équilibre entre la quantité de drogue consommée et le coût attribué à la drogue (Hursh, 1980, 1984). Au sein d'une même session de mesure économique comportementale, la dose de cocaïne disponible diminue progressivement, ce qui de surcroît augmente son coût économique [i.e. effort requis par unité de drogue (Hursh, 1991)]. Il est donc possible d'extraire une courbe de demande économique qui montre la consommation en mg de cocaïne en fonction du coût unitaire de la drogue. Ces courbes de demande se décalent vers le bas à mesure que le coût augmente [(Hursh, 1991; Hursh and Winger, 1995; Madden, 2000), voir aussi courbe noire **Fig. 15**]. Ainsi la mesure du déclin de cette courbe est possible grâce à une équation de demande exponentielle :

$$\log Q = \log Q_0 + k \times [e^{(-\alpha \times Q_0 \times C)} - 1] \text{ (Hursh and Silberberg, 2008)}$$

La valeur de Q_0 représente la consommation initiale de cocaïne à bas coût (i.e. quand la cocaïne est accessible sans effort) alors que la valeur de α représente l'accélération de la courbe de demande en fonction des changements liés au coût de la drogue (Christensen et

al., 2008; Oleson and Roberts, 2009; Oleson et al., 2011; Bentzley et al., 2013). 'k' est une constante basée sur le rang de la fonction exponentielle et 'Q' représente la consommation de cocaïne à un coût 'C'. La valeur de Pmax peut être extraite graphiquement (gPmax) en identifiant le coût unitaire de la drogue où le maximum de réponse (Omax) est enregistré (voir courbe pointillée, **Fig. 15**). La valeur de Pmax peut également être calculée mathématiquement (cPmax) à l'aide de la formule de Hursh and Silberberg (2008). Le cPmax est le coût unitaire de la cocaïne correspondant au premier point de la fonction exponentielle où la pente = -1 (Hursh and Winger, 1995; Oleson et al., 2011). Il a été déterminé que le gPmax représentait de façon fiable la valeur de cPmax (Oleson and Roberts, 2009; Oleson et al., 2011), c'est pourquoi nous ne parlerons par la suite que de valeur de Pmax englobant à la fois le cPmax et le gPmax.

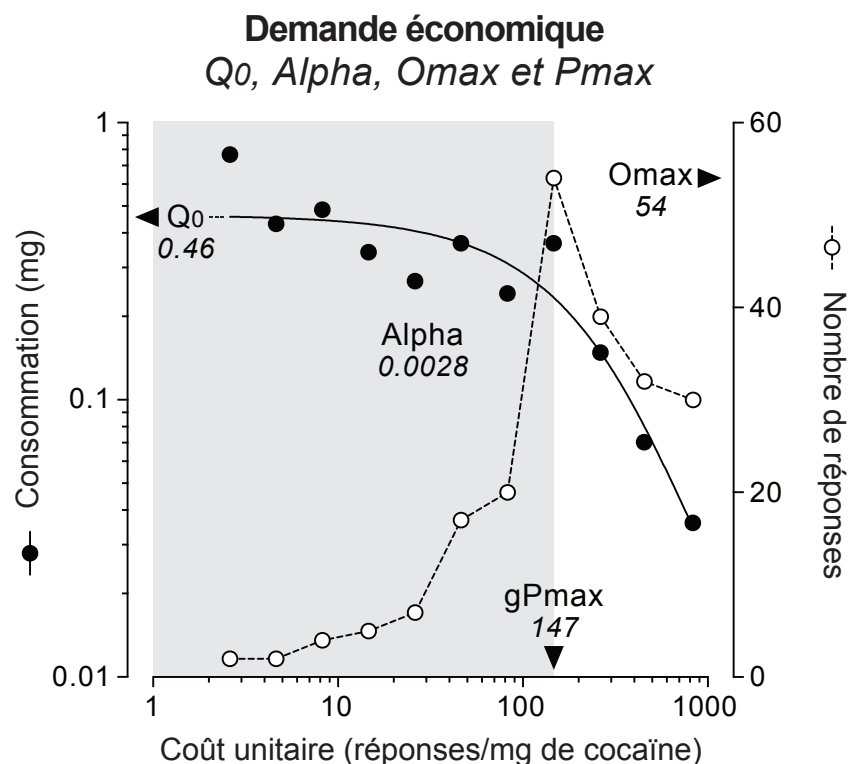


Fig. 15. Détermination des paramètres Q_0 , alpha, O_{max} et P_{max} selon un paradigme d'économie comportementale. Ici je montre l'exemple d'un rat d'une de mes expériences et non la moyenne d'un groupe. Le rat a été exposé à une session de 110 minutes où la dose de cocaïne diminuait successivement lors de chaque tranche de 10 minutes. Il y a donc 11 périodes de 10 minutes où le coût pour la drogue augmente d'une période à l'autre. La courbe noire représente la courbe de demande exponentielle (axe des ordonnées à gauche) et montre la consommation par période de 10 minutes en mg de cocaïne en fonction du coût unitaire de la drogue. La courbe de demande a été extraite à l'aide d'une matrice mise en ligne par le Dr. Steven R. Hursh (Hursh Exponential Model Template). La courbe pointillée (axe des ordonnées à droite) montre le nombre de réponses (nombre d'appuis sur le levier, ratio fixe de 1) par période de 10 minutes en fonction du coût unitaire de la drogue.

Le Pmax fait la transition entre l'inélasticité et l'élasticité de la courbe de demande : avant son point, la courbe de demande est inélastique, c'est à dire que de grandes variations dans le coût de la drogue entraînent une augmentation dans le taux de réponse mais peu de variations dans la consommation (partie grisée, **Fig. 15**). Par contre, après la valeur de Pmax, la courbe de demande est maintenant considérée élastique, c'est à dire que de petites variations dans le coût de la drogue entraînent une grande diminution de la consommation associée avec une diminution de la réponse [partie claire, **Fig. 15**, (Hursh, 1984)].

Alpha est une mesure normalisée de l'élasticité de la courbe de demande et alpha est inversement proportionnel à la motivation pour la cocaïne (Kawa et al., 2016). Alpha intègre à lui seul l'analyse de toute la courbe de demande et est décrit comme une mesure de la 'valeur essentielle' de la drogue (Christensen et al., 2008; Hursh and Silberberg, 2008). Ainsi, une augmentation du Pmax (décalé vers la droite, **Fig. 15**) et/ou une diminution de α indiquent une augmentation de la motivation pour la drogue alors qu'une diminution du Pmax (décalé vers la gauche, **Fig. 15**) et/ou une augmentation de α indiquent une diminution de la motivation pour la cocaïne. Pmax et α sont donc deux indices de la motivation pour la cocaïne complémentaires, Pmax dépend de Q_0 alors que α est normalisé.

3.2.4 Résistance à l'extinction et réinstallation de la recherche de drogue après extinction

Le 'craving' – mesure subjective définie par une envie irrésistible de consommer la drogue – est généralement une cible de choix pour les traitements contre l'addiction (O'Brien, 2005), puisque considéré comme un déclencheur des événements de rechute pour la drogue (Childress et al., 1988; Childress et al., 1999). Typiquement, en clinique, les traitements vont commencer par une période de détoxification où la drogue est soit retirée (le retrait pouvant être progressif) soit remplacée par un produit de substitution (Siegel, 1988; O'Brien et al., 1992). Ensuite, il existe des psychothérapies utiles pour réduire le 'craving' et ainsi la rechute (Carroll et al., 1991a; Carroll et al., 1991b). En préclinique, le comportement d'auto-

administration de drogue peut être éteint (phase dite d'extinction) en plaçant les animaux dans le même environnement que par le passé – environnement associé à la consommation mais cette fois-ci la drogue n'est plus présente. Les phases d'extinction chez l'animal et de détoxification chez l'humain empêchent toutes deux la consommation de drogue. Cependant, il est important de faire la distinction entre les deux procédés : la détoxification chez l'humain est purement médicale, sans composante comportementale comparativement à l'extinction chez l'animal. Après l'auto-administration de cocaïne (**Fig. 16A**, cercles blancs) cette période d'extinction permet d'éteindre progressivement le comportement de recherche de la drogue tout comme la période de détoxification en clinique [(Childress et al., 1988; Shalev et al., 2002) voir aussi **Fig. 16A**, cercles noirs]. Ensuite, la réinstallation du comportement de recherche de drogue peut être évoquée par un stress, une réexposition à la drogue elle-même (une injection passive) ou encore par un indice environnemental ayant par le passé été associé à la consommation de drogue [(Grimm and See, 2000; Shaham et al., 2000; Stewart, 2000; Weiss et al., 2000; De Vries et al., 2001; Shalev et al., 2002; Shaham et al., 2003), voir aussi **Fig. 16A** cercle rouge] – ces différents facteurs étant à risque pour la rechute chez les toxicomanes [(Childress et al., 1988; de Wit, 1996; Sinha, 2008), voir aussi **citation 12**].

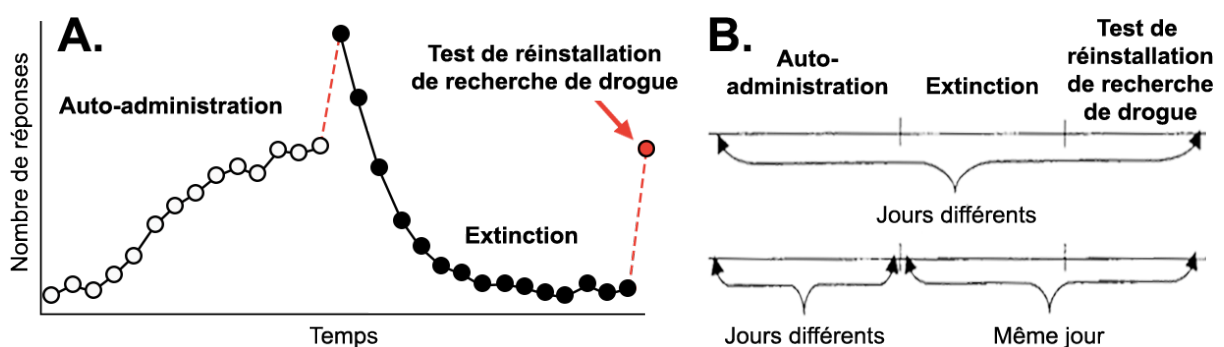


Fig. 16. Protocole de réinstallation d'un comportement de recherche de drogue après extinction. (A) Les cercles blancs montrent l'auto-administration de drogue en fonction du temps. Les cercles noirs montrent l'extinction en fonction du temps. Les appuis diminuent puisqu'ils ne sont plus renforcés par la réception de drogue. Le cercle rouge montre la réinstallation de la recherche de drogue (augmentation du nombre de réponses) induite soit par une injection passive de drogue, soit par un stimulus précédemment associé à la consommation de drogue, soit par un stress. Les lignes pointillées rouges montrent la transition entre deux étapes [adapté de De Vries and Schoffelmeer (2005)]. (B) Il existe plusieurs protocoles de réinstallation de la recherche de drogue chez l'animal. L'extinction du comportement d'appuis sur le levier et le test de réinstallation de la recherche de drogue peuvent par exemple être faits le même jour ou sur des jours différents [adapté de Shalev et al. (2002)].

À noter que le terme 'rechute' est privilégié en clinique car réfère à un comportement de re-consommation directe de la drogue alors que le terme 'réinstallation' est privilégié en préclinique car réfère au rétablissement d'une réponse déjà apprise par le passé mais éteinte – dans notre cas la recherche de drogue imagée par les appuis sur le levier [sans qu'il n'y ait re-consommation au sens strict de la drogue (Shalev et al., 2002)]. Cependant, il est toutefois possible de voir les termes 'rechute' et 'craving' dans des études précliniques où il n'y a pas re-consommation au sens strict de drogue, ceci est la conséquence du parallèle fait avec le monde clinique. Bien qu'il ne faille pas oublier qu'il s'agit d'un abus de langage, il sera également possible de voir des études précliniques discutées en ces termes ici.

Pendant l'extinction, les indices environnementaux associés à la prise de drogue par le passé sont généralement retirés pour éviter leur conditionnement lors du test de réinstallation – comme vu plus haut ces indices peuvent servir au rétablissement même de la recherche de drogue [(De Vries et al., 1998; Deroche-Gamonet et al., 2002; Wakabayashi et al., 2010), voir aussi **citation 12**]. L'extinction et le test de réinstallation de recherche de drogue peuvent se faire aussi bien le même jour que sur des jours différents (**Fig. 16B**). Dans le premier cas, l'extinction se fait sur plusieurs heures et est suivie au sein de la même journée par le test de réinstallation. Dans le deuxième cas, l'extinction est prolongée sur plusieurs jours et le test de réinstallation peut être réalisé le jour suivant.

Citation 12 :

We frequently observe that many abusers, after an initial brief period of abstinence, will expose themselves to a situation in which cocaine is available, as a 'test' of their ability to withstand temptation. [...] Such tests result in exposure to overwhelming cues and craving (Carroll et al., 1991b)

Des indices environnementaux qui conditionnaient par le passé la consommation de drogue peuvent déclencher le 'craving' et ainsi la rechute à différents temps dans le processus d'extinction, que ce soit après une brève période de retrait de la drogue (**citation 12**), après

plusieurs semaines de retrait ou même à beaucoup plus long terme post-consommation (Gawin and Kleber, 1986).

Ainsi, il a été remarqué que le 'craving' pour la cocaïne pouvait s'intensifier avec le temps (Gawin and Kleber, 1986). Ce phénomène d'incubation (*incubation of cocaine craving*) a également été démontré de manière très convaincante chez le rat. Des animaux ont été exposés à un protocole d'extinction suivi d'un test de réinstallation de recherche de drogue à différents temps post-consommation de cocaïne (manipulations se faisant la même journée, **Fig. 16B**). Il a été montré que (1) la résistance à l'extinction ainsi que (2) la vulnérabilité à la 'rechute' étaient très dépendants du temps de retrait de la drogue. De manière progressive, plus le temps post-consommation est grand, plus le nombre de réponses enregistrées lors de l'extinction et lors du test de réinstallation est grand, et ce jusqu'à trois mois après retrait de la drogue (Grimm et al., 2001; Grimm et al., 2003; Lu et al., 2004).

3.2.5 Résistance à la punition

Ce dernier symptôme utilisé pour diagnostiquer l'addiction chez le rat sera discuté très brièvement car non utilisé dans mes travaux de doctorat. Continuer à consommer une drogue en dépit des conséquences négatives est un critère diagnostique de la toxicomanie (**tableaux I et IV**). Ceci peut être modélisé chez le rat en analysant la persévérance de sa consommation (ou la persévérance de sa recherche de consommation) bien qu'elle soit associée à quelque chose de négatif [e.g. un choc électrique léger n'entraînant pas de dommage physique (Pelloux et al., 2007)].

3.2.6 Une majorité de rats consommateurs pour une minorité de rats 'toxicomanes'

Comme nous l'avons vu en section **3.2.1**, une très grande majorité si ce n'est la totalité des rats acquièrent à s'auto-administrer de la cocaïne (90-95%). Ces pourcentages semblent bien loin de la réalité clinique : 17% des individus qui consomment de la cocaïne développent une

addiction pour la drogue (Anthony et al., 1994). Nous venons de voir quelques outils en recherche préclinique pour mesurer des symptômes de la toxicomanie chez le rat. Deroche-Gamonet et al. (2004) ont évalué trois de ces symptômes chez des rats s'étant auto-administrés de la cocaïne pendant plusieurs semaines : la persévérance de recherche de la drogue (mesure du nombre de réponses en absence de cocaïne), l'expression d'une motivation excessive pour la drogue (ratio progressif) et la persévérance de consommation malgré les conséquences négatives (cocaïne + choc électrique). Les auteurs ont donc testé les animaux pour les trois symptômes d'intérêt et un animal était considéré comme développant l'un des symptômes s'il était dans le tiers supérieur de la population pour ce critère (Crit). De manière totalement fascinante, il a été déterminé que 41.4% des rats ne développaient aucun des trois symptômes (rats 0Crit), que 27.6% des rats développaient un symptôme (rats 1Crit), que 13.8% des rats développaient deux symptômes (rats 2Crit) et que **17.2%** des rats développaient les trois symptômes [rats 3crit, (Deroche-Gamonet et al., 2004)]. Les rats 3Crit, avec le maximum de symptômes diagnostiqués, représentent donc très exactement les 17% de consommateurs qui deviennent toxicomane (Anthony et al., 1994). Les rats 3Crit ont ensuite été comparés aux rats 0Crit et il a été montré que les rats 3Crit étaient plus vulnérables à la 'rechute' induite par la cocaïne (Belin et al., 2009). Ceci suggère que les rats 3Crit représentent de manière plus fiable la proportion de la population qui va perdre le contrôle sur sa consommation de cocaïne. Ces données montrent la pertinence clinique du modèle d'auto-administration de cocaïne. Nous verrons par la suite que cette unique technique – l'auto-administration de drogue – offre diverses possibilités de manipuler des variables de vulnérabilité dans le processus d'addiction.

3.3 Neuro-adaptations engagées par l'addiction à la cocaïne

3.3.1 La dopamine : Relais de l'effet récompensant de la cocaïne

Via la même logique que pour la noradrénaline, la cocaïne augmente les niveaux de dopamine (DA) extracellulaires en bloquant sa recapture par le DAT (transporteur

membranaire de la DA, voir **Fig. 7**, remplacer le NET par le DAT et la NE par la DA). La dopamine est un neurotransmetteur dérivé d'un acide aminé, la tyrosine (la tyrosine est transformée en L-DOPA via la tyrosine hydroxylase, la L-DOPA est transformée en DA via la DOPA décarboxylase) et est majoritairement synthétisée dans le mésencéphale. Il est supposé que l'effet récompensant de la cocaïne est relayé par l'augmentation des niveaux extracellulaires de DA dans le cerveau via le DAT (Wise, 1984; Ritz et al., 1987). Ceci notamment parce qu'il a été identifié plusieurs sites spécifiques dans le cerveau [grâce à l'autostimulation intracrânienne (Olds and Milner, 1954)], qui – une fois stimulés – agissent en renforçant un comportement et que ces sites comprennent entre autres des neurones dopaminergiques (Crow, 1972). L'hypothèse est donc que l'efficacité des drogues à faciliter l'autostimulation intracrânienne (Wise et al., 1992) résulte de leur capacité à potentialiser le système dopaminergique dans le cerveau (Wise, 1984). Le circuit dopaminergique mésocorticolimbique a donc été identifié – également nommé circuit de la récompense du fait de son implication dans l'effet récompensant des drogues. Les corps cellulaires des neurones dopaminergiques situés dans l'aire tegmentaire ventrale (VTA, *Ventral Tegmental Area*, au niveau du mésencéphale) projettent dans le striatum ventral (noyau accumbens, Nac, *Nucleus accumbens*) et dans le cortex préfrontal (PFC, *PreFrontal Cortex*). À noter qu'ont été nommées trois structures majeures du circuit mésocorticolimbique mais qu'il existe de nombreuses projections limbiques comme l'amygdale par exemple (Sesack and Grace, 2010).

Le Nac est une région centrale du circuit de la récompense puisqu'il reçoit des afférences dopaminergiques provenant de la VTA, des afférences glutamatergiques provenant du PFC et émet des efférences inhibitrices GABAergiques (GABA, *Gamma-AminoButyric Acid*) redirigées par exemple vers la VTA (Sesack and Grace, 2010). L'ensemble de ce réseau est donc hautement régulé et permet de contrôler un comportement dirigé vers un but. Une dérégulation de ce système serait en cause dans l'addiction (système qui deviendrait hypersensible, voir section **3.3.2**).

La cocaïne augmente les niveaux extracellulaires de DA dans le striatum (Church et al., 1987; Di Chiara and Imperato, 1988) et ceci est mesuré de façon dose-dépendante pendant l'auto-administration de drogue (Pettit and Justice, 1989, 1991). Les effets hyper-locomoteur (Giros et al., 1996) et récompensant (Thomsen et al., 2009) de la cocaïne sont perturbés chez des souris DAT^{-/-} (où le gène encodant pour le DAT a été délété) suggérant que le système dopaminergique est la cible de ces effets. Mais aussi, la lésion des neurones dopaminergiques du Nac (via injections bilatérales de 6-hydroxydopamine) chez le rat diminue l'auto-administration de cocaïne (Roberts et al., 1977; Roberts et al., 1980) ce qui soutient que la neurotransmission dopaminergique est nécessaire au renforcement positif de la cocaïne. À noter qu'il ne semble pas que les neurotransmissions sérotoninergique et noradrénergique soient impliquées dans le renforcement positif de la cocaïne suggérant un rôle spécifique de la neurotransmission dopaminergique (Roberts et al., 1977; Thomsen et al., 2009). Nous allons voir dans le prochain paragraphe que la contribution du système dopaminergique dans l'effet récompensant de la cocaïne est possiblement indépendante de la valeur hédonique (*plaisir*) de la récompense.

3.3.2 Concepts de tolérance versus sensibilisation

L'augmentation de la consommation de drogue associée à l'addiction est souvent assimilée à la mise en place de mécanismes de tolérance (**tableaux I et IV**), ceci étant défini par un besoin plus important de la drogue pour parvenir au même effet. Une théorie de l'addiction concerne l'homéostasie hédonique de la drogue. Cette homéostasie fait le lien entre le plaisir ressenti lié à la drogue (valeur hédonique de la drogue – effet positif) et l'effet négatif qui s'ensuit [dysphorie, anhédonie, dépression, irritabilité, anxiété (Markou and Koob, 1991)].

Lors d'une première exposition à une drogue comme la cocaïne, les effets positifs sont supérieurs aux effets négatifs mais avec la chronicité de l'exposition, un changement s'opérerait dans l'équilibre entre les deux effets [dérégulation de l'homéostasie hédonique (Solomon and Corbit, 1974; Koob and Le Moal, 1997, 2001)]. Théoriquement, augmenter les

doses de drogue permettrait de conserver un rapport effets positifs sur effets négatifs > 1 (Solomon and Corbit, 1974). Cependant l'augmentation des doses de drogue comme explication de la mise en place de l'addiction i) en réponse à des mécanismes de tolérance (pour compenser la perte des effets positifs) ou encore ii) en réponse à une dérégulation de l'homéostasie hédonique (pour rétablir un rapport effets positifs / effets négatifs avantageux) peut être discutée (**citation 13**).

Citation 13 :

Why does the typical addict continue to use morphine even when tolerance has been established to enormous doses of the drug, and when, presumably, the 'euphoric' effects can no longer be experienced?

Almost invariably, the addict states that he continues to use drugs under such circumstances because he fears the suffering experienced during the development of the morphine abstinence syndrome. If so, why do not experienced addicts give up the drug by reducing the dose rapidly or gradually, since they know that such a withdrawal procedure is attended by little suffering? (Wikler, 1952)

En effet, ces deux théories se basent sur les effets subjectifs des drogues, pour autant le plaisir ressenti suite à la prise de drogue peut bel et bien être la cause de l'initiation d'une consommation (bien que ceci dépende de la drogue, e.g. pour la nicotine – la sensation peut être désagréable), mais semble bien moins être responsable de la transition vers une consommation compulsive, pathologique de drogue associée à l'addiction. De même, l'augmentation de la consommation pour prévenir les effets aversifs liés au retrait de la drogue (**citation 13**) est un argument peu convaincant sachant qu'il existe des drogues très addictives (dont la cocaïne) qui ne produisent pas ou peu de symptômes physiques de sevrage. Robinson and Berridge (1993) ont donc émis une nouvelle théorie basée sur la sensibilisation de la valeur incitative de la drogue ou encore sensibilisation de la motivation pour la drogue (*incentive sensitization*). Cette théorie s'intéresse aux neuro-adaptations engagées sur le long terme par l'addiction en postulant que le système de récompense (transmission dopaminergique dans le Nac) deviendrait hypersensible aux drogues et à leurs stimuli menant ainsi à une augmentation du désir pour la drogue (Robinson and Berridge, 1993, 2000). Les auteurs renforcent leur point en montrant que le plaisir ressenti pour une drogue (*drug liking*)

diminue avec le développement de l'addiction mais que le désir pour la drogue (*drug wanting*) quant à lui augmente [(Robinson and Berridge, 1993; Berridge and Robinson, 1995; Robinson and Berridge, 2000), **citation 14**].

Citation 14 :

With the development of sensitization, addicts come to want drugs more and more even if they like them less and less (Berridge and Robinson, 1995)

Ainsi, le rôle de la dopamine en tant que médiateur des effets subjectifs de la cocaïne ou autre psychostimulant (Volkow et al., 1999) a été repensé. En effet, il semblerait que l'augmentation des niveaux de DA extracellulaires corrèle non pas avec le *plaisir* ressenti pour la drogue mais plutôt avec le *désir* de l'obtenir [**citation 15** (Leyton et al., 2002; Evans et al., 2006)]. Des injections systémiques et répétées de cocaïne chez le rat mènent à une sensibilisation de la libération de DA dans le Nac (Kalivas and Duffy, 1990) – cette sensibilisation dopaminergique pouvant donc être la cause de la sensibilisation de la motivation pour la cocaïne (Robinson and Berridge, 1993, 2000).

Citation 15 :

Mesolimbic dopamine might mediate interest in obtaining reward rather than reward, per se (Leyton et al., 2002)

Ces mécanismes de sensibilisation peuvent être quantifiés par une mesure comportementale qui est la sensibilisation psychomotrice – définie par une augmentation de la locomotion en réponse à une administration répétée de drogue [administrations passives et répétées de la même dose (Robinson and Berridge, 1993, 2000), vue également en auto-administration (Hooks et al., 1994; Phillips and Di Ciano, 1996)]. L'hypothèse est que les substrats neuronaux responsables du développement de l'addiction et de la sensibilisation psychomotrice sont les mêmes (Wise and Bozarth, 1987; Robinson and Berridge, 1993, 2000). Ainsi, l'expression de la sensibilisation psychomotrice serait un bon indicateur d'une sensibilisation du désir pour la drogue (De Vries et al., 1998; Mendrek et al., 1998; Lorrain et

al., 2000; Covington and Miczek, 2001). À noter qu'il existe d'autres théories de la toxicomanie impliquant le système dopaminergique puisque la dopamine possède de multiples fonctions dans le cerveau [e.g. attention, mémoire, impulsivité etc. (Nutt et al., 2015)].

3.3.3 Homéostasie glutamatergique

Comme vu en section 3.3.1, le Nac reçoit de nombreuses afférences glutamatergiques provenant notamment du PFC (mais aussi par exemple de l'amygdale, du thalamus ou encore de l'hippocampe). La transmission glutamatergique cortico-striatale (PFC-Nac) est d'un intérêt particulier en recherche sur l'addiction puisqu'elle est critique à l'expression d'un phénotype toxicomane (McFarland et al., 2003; Kalivas et al., 2005; Stefanik et al., 2013). L'homéostasie glutamatergique fait le lien entre le glutamate synaptique (projections cortico-striatales) et le glutamate non synaptique (de source gliale) et contrôle l'accès du glutamate aux récepteurs ionotropiques (iGluRs) et métabotropiques [mGluRs, Fig. 17 (Kalivas, 2009)].

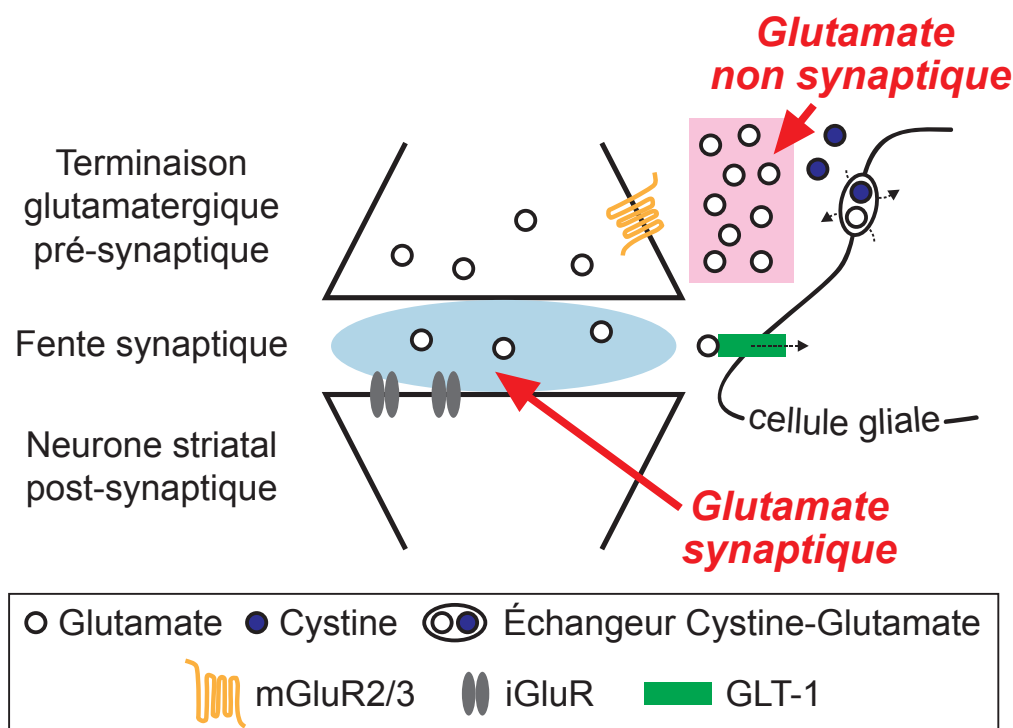


Fig. 17. Compartimentation du glutamate synaptique et du glutamate non synaptique. L'homéostasie glutamatergique fait le lien entre trois types cellulaires différents : 1) cellule glutamatergique corticale, 2) cellule GABAergique striatale (Medium Spiny Neuron) et 3) cellule gliale. L'ensemble de ce réseau permet de séparer deux réserves de glutamate : le glutamate synaptique et le glutamate non synaptique [adapté de Wolf (2010)].

Le glutamate synaptique est majoritairement éliminé par le GLT-1 [transporteur glial (Haugeto et al., 1996)], situé à proximité de la fente synaptique. Cette localisation stratégique du GLT-1 permet d'éviter la diffusion du glutamate synaptique vers le glutamate non synaptique, et inversement (Kalivas, 2009). Le glutamate non synaptique provient majoritairement d'une libération non vésiculaire via l'échangeur cystine-glutamate situé sur la glie [(Baker et al., 2002), l'échangeur libère du glutamate en capturant de la cystine à un ratio 1:1 (Warr et al., 1999)]. Les mGluR2/3s (récepteurs métabotropiques au glutamate de type II) sont situés sur la terminaison neuronale glutamatergique et sont majoritairement extra-synaptiques en regard de l'échangeur (**Fig. 17**), ce qui les expose à un tonus glutamatergique basal constant (Kalivas, 2009). Les mGluR2/3s sont des récepteurs à 7 domaines transmembranaires liés à une protéine $G_{i/o}$. Leur stimulation inhibe l'activité de l'adénylate cyclase ce qui a pour conséquence d'inhiber la formation d'AMPc via l'ATP (Conn and Pin, 1997; Niswender and Conn, 2010). Ainsi, l'activation des mGluR2/3s diminue la libération synaptique de glutamate (Moghaddam and Adams, 1998; Xi et al., 2002). L'ensemble de ce système est donc hautement régulé : des mécanismes de rétrocontrôle négatif – mécanismes activés par du glutamate non synaptique – permettent de contrôler la libération de glutamate synaptique.

Une dérégulation de l'homéostasie glutamatergique serait mise en cause dans l'addiction. Des injections aiguës de fortes doses de cocaïne (30 mg/kg, i.p.) augmentent la libération de glutamate dans le Nac (Smith et al., 1995; Reid et al., 1997). Cependant, une exposition répétée à la drogue génère de nombreuses neuro-adaptations du système glutamatergique. Après un traitement répété à la cocaïne (injections passives), le glutamate extracellulaire basal dans le Nac tend à être diminué (Pierce et al., 1996; Hotsenpiller et al., 2001). Ces niveaux de glutamate augmentent ensuite en réponse à une dose rappel de cocaïne [15 mg/kg, i.p. – dose non efficace pour augmenter le glutamate extracellulaire chez des rats naïfs (Smith et al., 1995; Reid et al., 1997)] et cette augmentation est uniquement visible chez des rats où la sensibilisation psychomotrice a été mesurée (Pierce et al., 1996). Ceci suggère qu'un

traitement chronique à la cocaïne associé à un temps de retrait de la drogue sensibilise le système glutamatergique et que ce système pourrait être crucial dans les phénomènes d'addiction.

Après une exposition répétée à la cocaïne suivie d'une période de retrait de la drogue, l'activité de l'échangeur cystine-glutamate est diminuée ce qui par conséquent diminue la réserve de glutamate non synaptique, diminue le tonus glutamatergique apposé sur les mGluR2/3s et lève l'inhibition exercée sur la libération synaptique de glutamate (Baker et al., 2003; Moran et al., 2005; Madayag et al., 2007; Miguens et al., 2008; Knackstedt et al., 2010). Ainsi, l'auto-administration de cocaïne mène à une diminution des niveaux de base de glutamate dans le Nac sur le long terme (Baker et al., 2003; Madayag et al., 2007; Miguens et al., 2008). Ensuite, la réinstallation du comportement de recherche de la drogue induite par une injection de cocaïne (après extinction, voir section **3.2.4**) est associée à une augmentation du glutamate extracellulaire dans le Nac (McFarland et al., 2003; Madayag et al., 2007; Miguens et al., 2008) et cette augmentation de glutamate est bloquée par la stimulation de l'échangeur cystine-glutamate (Madayag et al., 2007). La stimulation de l'échangeur pendant la période de retrait de la drogue restaure également les niveaux de base de glutamate (Baker et al., 2003; Madayag et al., 2007), ce qui empêche l'élévation subséquente du glutamate en réponse à une injection de cocaïne (Baker et al., 2003). De même, la rechute induite par la cocaïne est diminuée/bloquée par la stimulation de l'échangeur cystine-glutamate (Baker et al., 2003; Moran et al., 2005; Madayag et al., 2007; Kau et al., 2008; Moussawi et al., 2009) qui permet l'augmentation de la réserve de glutamate non synaptique, la stimulation des mGluR2/3s et donc le blocage de la libération de glutamate synaptique évoquée par la cocaïne [effet de la stimulation de l'échangeur prévenu si les mGluR2/3s sont inhibés (Moran et al., 2005)]. Inactiver le PFC bloque à la fois la rechute pour la cocaïne et l'augmentation du glutamate dans le Nac (McFarland et al., 2003), suggérant que les projections cortico-striatales sont nécessaires à ces effets (Stefanik et al., 2013).

Les mGluR2/3s sont une cible pertinente pour diminuer des symptômes de l'addiction car font le lien entre le glutamate non synaptique et le glutamate synaptique (Moussawi and Kalivas, 2010). Ainsi, après un traitement chronique à l'amphétamine, une injection systémique de LY379268 [agoniste hautement sélectif des mGluR2/3s (Schoepp et al., 1999)] combinée avec de l'amphétamine bloque à la fois l'élévation du glutamate extracellulaire dans le Nac et l'expression de la sensibilisation psychomotrice (Kim and Vezina, 2002; Kim et al., 2005). La stimulation des mGluR2/3s diminue également l'auto-administration de cocaïne et de méthamphétamine sous ratio progressif (Hao et al., 2010; Xi et al., 2010; Crawford et al., 2013) ainsi que la réinstallation de la recherche de ces drogues évoquée par une dose rappel, un stress ou encore des indices environnementaux (Baptista et al., 2004, 2005; Adewale et al., 2006; Peters and Kalivas, 2006; Martin-Fardon and Weiss, 2012; Kufahl et al., 2013).

4. Modéliser la toxicomanie en laboratoire en manipulant la pharmacocinétique de la cocaïne

Estimer les niveaux de cocaïne au cerveau grâce aux mathématiques

*Dans ce dernier paragraphe de l'introduction générale nous verrons l'influence des variables pharmacocinétiques de la cocaïne : quantité, vitesse et fréquence d'administration de la drogue, sur la mise en place d'un phénotype toxicomane. Pour mieux comprendre leur impact, un modèle mathématique à deux compartiments (voir section 2.1.2) a été utilisé pour estimer les niveaux de cocaïne au cerveau en fonction du temps. Ce modèle se base sur des paramètres pharmacocinétiques relevés chez des rats ayant été traités chroniquement à la cocaïne par voie intraveineuse (Pan et al., 1991). Le modèle mathématique utilise donc une équation simplifiée sans considérer l'absorption de la drogue vers le sang (qui est totale car l'administration est intraveineuse). L'équation mathématique pour la voie intraveineuse est détaillée dans Pan et al. (1991) – se référer aussi aux **chapitres II, III et IV**.*

Ce modèle est fréquemment utilisé en recherche préclinique sur l'addiction (Pan et al., 1991; Wise et al., 1995; Nicola and Deadwyler, 2000; Samaha et al., 2002; Shou et al., 2006; Zimmer et al., 2011; Zimmer et al., 2012; Calipari et al., 2014c; Martin-Garcia et al., 2014; Allain et al., 2017; Allain et al., 2018), mais à quel point l'estimation des niveaux de drogue au cerveau reflète la réalité ?

La cocaïne augmente les niveaux de dopamine extracellulaires dans le striatum (Church et al., 1987; Di Chiara and Imperato, 1988) et les niveaux de cocaïne au cerveau sont étroitement liés à ceux de dopamine (Hurd et al., 1988; Nicolaysen et al., 1988; Minogianis et al., 2018). Ainsi, ce modèle mathématique convainc de sa fiabilité puisque l'estimation des niveaux de cocaïne au cerveau corrèle parfaitement avec les niveaux réels de dopamine au cerveau ainsi qu'avec l'activité locomotrice des animaux (Wise et al., 1995; Shou et al., 2006).

4.1 La **quantité** de cocaïne consommée : une variable pharmacocinétique critique dans l'établissement d'un phénotype toxicomane

Des rats LgA ont typiquement un accès continu à la cocaïne pendant de longues sessions de 6 h par jour alors que des rats ShA ont ce même accès continu à la cocaïne mais lors de sessions quotidiennes plus courtes de 1-2 h. Les rats LgA consomment beaucoup plus de drogue que les rats ShA et augmentent leur consommation dans le temps alors que les rats ShA maintiennent une consommation stable [**Fig. 18**, voir aussi section 3.2.2, (Ahmed and Koob, 1998, 1999; Mantsch et al., 2004; Hao et al., 2010; Mandt et al., 2015)].

Il a été estimé que les niveaux de cocaïne au cerveau augmentaient très rapidement au début de chaque session ShA et LgA, pour rester élevés jusqu'à la fin de la session [(Zimmer et al., 2012), schématisé dans la **Fig. 18**]. Ceci est la conséquence d'une phase de chargement

très rapide des niveaux de cocaïne au cerveau en début de session (i.e. quand les taux de drogue au cerveau sont nuls).

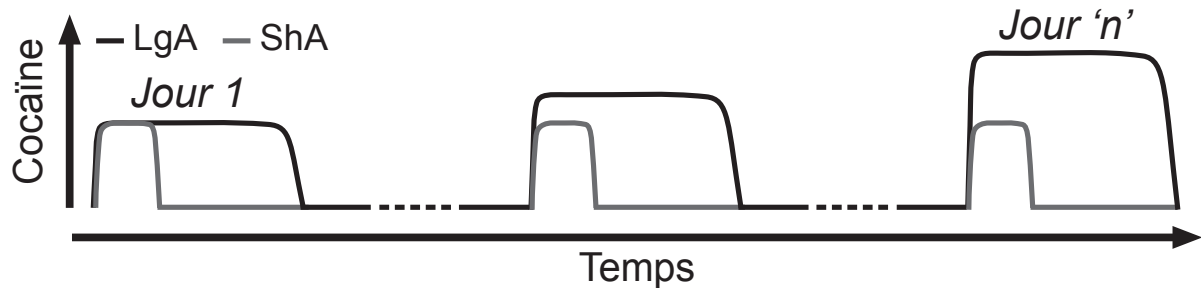


Fig. 18. Schématisation des niveaux de cocaïne au cerveau chez des rats LgA et ShA en fonction du temps. Les rats LgA augmentent leur consommation dans le temps ce qui mène à l'augmentation des niveaux de cocaïne au cerveau à travers les sessions d'auto-administration. Au contraire les rats ShA gardent une consommation stable dans le temps, les niveaux de cocaïne au cerveau sont donc similaires d'une session à l'autre.

Cette phase de chargement, définie comme étant un 'burst' de consommation avec des injections de cocaïne très rapprochées, permettrait d'atteindre les niveaux de cocaïne plasmatiques 'préférés' par les animaux et ce de façon très rapide. Par la suite, les injections sont plus espacées et auto-administrées régulièrement [(Wilson et al., 1971; Ettenberg et al., 1982; Wise et al., 1995; Lynch and Carroll, 2001), **Fig. 19**].

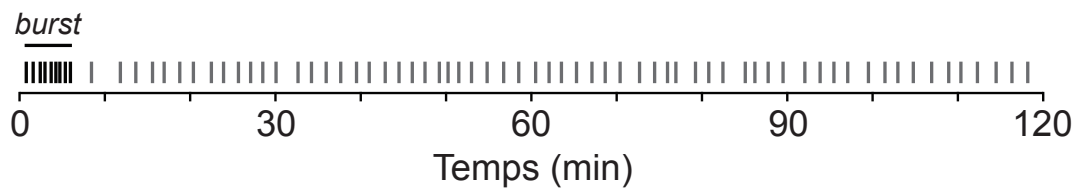


Fig. 19. Représentation d'une phase de chargement rapide des niveaux de cocaïne au cerveau suivie d'une phase de maintien. Chaque trait représente une injection de cocaïne (0.25 mg/kg/injection).

On compte donc une phase de chargement rapide des niveaux de cocaïne au cerveau (phase très courte en début de session) suivie d'une phase de maintien des niveaux de drogue (phase plus ou moins longue dépendamment de la durée de la session). À noter qu'avec l'augmentation de la consommation dans le temps mesurée chez des rats LgA, le chargement rapide des niveaux de drogue au cerveau en début de session augmente également chez ce

groupe comparé aux rats ShA (Ahmed and Koob, 1998). Les auteurs ont conclu au développement d'un état de besoin de la drogue en début de session plus important chez les rats LgA comparés aux rats ShA (Ahmed and Koob, 1998).

Non seulement les rats LgA consomment plus de cocaïne que les rats ShA, mais ils développent aussi des symptômes pertinents à l'addiction. Les rats LgA démontrent une plus grande motivation à obtenir la cocaïne que les rats ShA sous ratio progressif (Paterson and Markou, 2003; Wee et al., 2008; Orio et al., 2009; Wee et al., 2009; Hao et al., 2010). Les valeurs de Pmax sont également plus élevées chez les rats LgA comparés au rats ShA (Zimmer et al., 2012). Des différences dans la résistance à l'extinction ont été difficiles à montrer entre les deux groupes (Mantsch et al., 2004; Knackstedt and Kalivas, 2007; Madayag et al., 2010). Cependant, considérant l'importance du temps de retrait de la cocaïne dans les phénomènes d'incubation du désir pour la drogue, Ferrario et al. (2005) ont montré qu'après des semaines de retrait de la drogue (47 jours), en condition d'extinction (conditions similaires aux sessions d'auto-administration, mais la drogue n'est plus présente), les rats LgA recherchaient de manière plus active la cocaïne que les rats ShA. Les rats LgA sont également plus vulnérables que les rats ShA à la rechute induite par la cocaïne (Mantsch et al., 2004; Ahmed and Cador, 2006; Kippin et al., 2006; Knackstedt and Kalivas, 2007; Madayag et al., 2010).

Finalement, une étude a démontré qu'après auto-administration limitée de cocaïne (test effectué directement après validation des critères d'acquisition), la recherche des rats pour la drogue pouvait être supprimée si un stimulus aversif (choc électrique) leur était présentés. Après une exposition maintenant prolongée à la drogue (sessions d'auto-administration de cocaïne supplémentaires), les rats continuaient à demander la drogue et ce malgré la présentation du stimulus aversif (Vanderschuren and Everitt, 2004). Ceci suggère que des rats exposés de façon prolongée à la cocaïne (qui consomment donc plus de drogue que des rats

exposés de façon limitée) continuent à rechercher la drogue malgré les conséquences négatives – un symptôme de la toxicomanie (section 3.2.5).

Le développement d'un phénotype toxicomane semble être associé à une dérégulation de l'homéostasie glutamatergique [section 3.3.3, (Kalivas, 2009; Moussawi and Kalivas, 2010; Wolf, 2010)] et cette dérégulation est plus prononcée chez des rats LgA versus des rats ShA (Baptista et al., 2005; Aujla et al., 2008; Hao et al., 2010; Kufahl et al., 2013). En effet, la capacité du LY379268 (agoniste des mGluR2/3s) à diminuer la motivation pour la cocaïne sous ratio progressif est plus importante chez des rats LgA versus des rats ShA (Hao et al., 2010). De même, le LY379268 bloque la rechute induite par la cocaïne chez des rats LgA alors qu'il est inefficace chez des rats ShA (Baptista et al., 2005).

Ces données convainquent de l'importance de la quantité de cocaïne consommée dans le développement d'adaptations comportementales et neurobiologiques pertinentes à l'addiction. En effet, des rats LgA consomment beaucoup plus de cocaïne que des rats ShA, augmentent leur consommation dans le temps, développent des symptômes de l'addiction et démontrent une dérégulation de l'homéostasie glutamatergique. Il est également possible de promouvoir une consommation élevée de cocaïne avec des sessions quotidiennes plus courtes en prolongeant le protocole d'auto-administration pendant des semaines et des semaines. Ce type de protocole permet également le développement de symptômes pertinents à la toxicomanie [rats 3Crit, (Deroche-Gamonet et al., 2004; Belin et al., 2009)].

Ainsi, le risque ici est de ne considérer que la quantité de drogue consommée comme variable pharmacocinétique responsable de la transition vers l'addiction. Des chercheurs ont même émis l'hypothèse d'un 'seuil de l'addiction' basé uniquement sur les niveaux de drogue consommés (Benowitz and Henningfield, 1994). Consommer une drogue en dessous de ce 'seuil' préserverait de l'addiction mais au contraire, dépasser ce 'seuil' serait critique pour l'établissement d'une consommation compulsive, pathologique (Ahmed, 2012). Il est en effet

indéniable de dire que la quantité de cocaïne consommée est critique au développement de la toxicomanie, et nous venons d'en voir plusieurs démonstrations. Cependant, un objectif majeur de ma thèse a été de démontrer que cette variable pharmacocinétique 'quantité de drogue consommée' ne pouvait à elle seule expliquer la transition vers la toxicomanie. Par exemple, si on compare des rats 0Crit, qui ne développent pas de symptômes d'addiction, et des rats 3Crit, qui développent des symptômes pertinents à l'addiction, les deux groupes d'animaux ont consommé la même quantité de drogue par le passé (Deroche-Gamonet et al., 2004). Mais aussi, nous avons vu plus haut dans la description du test sous ratio progressif (section 3.2.3), qu'une consommation sous FR1 ne prédisait pas forcément la recherche de drogue sous PR (Richardson and Roberts, 1996; Liu et al., 2005a). Ceci suggère très fortement que la quantité de drogue consommée n'est pas la seule variable pharmacocinétique de la cocaïne impliquée dans le processus de l'addiction. Nous verrons par la suite que d'autres variables pharmacocinétiques de la cocaïne (vitesse et fréquence d'administration) peuvent être tout aussi – si ce n'est plus – importantes que la quantité de drogue consommée dans l'établissement d'un phénotype toxicomane. Ces variables pharmacocinétiques sont cruciales à étudier puisqu'elles varient en fonction du mode de consommation des usagers de cocaïne (voir section 2).

4.2 La vitesse d'administration de la cocaïne : une variable pharmacocinétique critique dans l'établissement d'un phénotype toxicomane

4.2.1 Différentes voies d'administration des drogues chez l'animal

Outre la quantité de drogue consommée, la vitesse à laquelle la drogue arrive au cerveau a été démontrée comme étant une variable pharmacocinétique de la cocaïne critique dans la transition vers l'addiction. Cette variable *vitesse* est notamment contrôlée par la voie d'administration privilégiée par les consommateurs (section 2.4). Chez l'animal, il existe également différentes voies d'administration des drogues qui vont de la même manière que chez l'humain faire varier la vitesse d'arrivée de la drogue au cerveau. L'auto-administration de drogue peut se faire par voie intraveineuse (Weeks, 1962), voie orale (Myers and Carey,

1961), voie intracérébrale (Olds and Olds, 1958), voie intrapéritonéale (Headlee et al., 1955; Davis and Nichols, 1963) ou même par inhalation (Jarvik, 1967). Les deux voies les plus pratiques et donc les plus utilisées sont la voie intraveineuse et la voie orale (Schuster and Thompson, 1969). Cependant, la cocaïne ne semble pas auto-administrée de manière fiable par voie orale chez des rats, ce qui suggère un effet récompensant mineur de la drogue via cette voie (Bell et al., 1993; Bell et al., 1995; Meisch, 2001). La voie orale amène la cocaïne au cerveau lentement et la biodisponibilité de la drogue peut être réduite (section 2.4) ce qui peut expliquer ces résultats. À noter que la cocaïne peut être auto-administrée par voie orale chez d'autres espèces, la souris et le singe par exemple – des différences dans la pharmacocinétique de la cocaïne entre espèces pourraient expliquer ces effets. Ainsi, la pharmacocinétique de la cocaïne semble être un élément clé pour que la drogue puisse être auto-administrée. Les études s'intéressant au rôle de la vitesse d'administration de la cocaïne dans les processus d'addiction se sont donc généralement focalisées sur une seule voie d'administration de la drogue, la voie intraveineuse, en faisant varier les temps d'injection.

4.2.2 Une voie d'administration de la cocaïne, la voie intraveineuse, pour différentes vitesses d'injection

Manipuler la vitesse d'injection de la cocaïne avec une seule voie d'administration de la drogue c'est possible ! L'idée est d'administrer la même dose de cocaïne en un temps plus ou moins long. Ceci peut être fait en changeant le régime du moteur qui va pousser la dose de drogue (qui change également le volume de l'injection). Varier la vitesse d'injection de la cocaïne de l'ordre de quelques dizaines de secondes peut être critique dans l'établissement de symptômes pertinents à l'addiction. En effet, des injections intraveineuses passives de cocaïne administrées en 5 secondes sont plus à risque pour le développement de la sensibilisation psychomotrice que des injections de la même dose de cocaïne mais administrées plus lentement en 100 secondes [(Samaha et al., 2002; Samaha et al., 2004; Samaha and Robinson, 2005), ce même effet a été mesuré pour la nicotine (Samaha et al., 2005)]. Le problème ici est qu'émettre la conclusion que varier la vitesse d'injection de la

cocaïne entre 5 et 100 secondes est critique pour le développement de la sensibilisation psychomotrice ne tient que si le Cmax est identique entre les deux vitesses. En effet, si la concentration de cocaïne qui arrive au cerveau est différente entre les deux vitesses alors l'augmentation de la locomotion vue chez des rats 5 secondes versus des rats 100 secondes pourrait être l'unique conséquence d'une exposition plus importante au psychostimulant. Par exemple, Panlilio et al. (1998) ont montré chez le singe que le pic de cocaïne plasmatique était plus important après une injection administrée en 10 secondes versus une injection administrée en 240 secondes. Ceci pouvant bien évidemment compliquer l'interprétation des résultats, les variables quantité et vitesse étant confondues.

Alors comment choisir les vitesses d'injection de la cocaïne ? La difficulté ici est de sélectionner une fenêtre de vitesses à la fois cliniquement pertinente mais aussi qui puisse mener aux mêmes concentrations de cocaïne au cerveau. Premièrement, des usagers de la voie intraveineuse rapportent qu'ils s'injectent la cocaïne en plus ou moins 5 secondes [3-10 secondes (Zernig et al., 2003)]. Ensuite, chez l'humain, augmenter la vitesse d'injection de la cocaïne de quelques dizaines de secondes (2-60 secondes) modifie la pharmacodynamie de la cocaïne [effets physiologiques et subjectifs (Abreu et al., 2001; Nelson et al., 2006)], ce qui suggère qu'il n'est pas nécessaire d'utiliser des injections très longues susceptibles de diminuer le Cmax pour modéliser des voies d'administration plus lentes de la cocaïne.

Finalement, un argument de poids est qu'on pense que varier la vitesse d'injection de la cocaïne de 5 à 100 secondes chez le rat ne change pas le Cmax mais change le Tmax de la cocaïne. En effet, la cocaïne augmente les niveaux de dopamine extracellulaires dans le striatum (Church et al., 1987; Di Chiara and Imperato, 1988) et Ferrario et al. (2008) ont montré que la valeur du pic de dopamine dans le striatum était similaire après une injection de cocaïne administrée en 5 secondes versus 100 secondes, la valeur de Tmax (temps pour atteindre ce pic) étant quant à elle différente entre les deux vitesses [voir aussi (Zernig, 1997)]. Une étude clinique a également montré que les effets subjectifs de la cocaïne dépendaient de la voie

d'administration de la drogue mais que ceci n'était pas lié au maximum d'occupation du DAT (Volkow et al., 2000). Puisque les niveaux de dopamine au cerveau suivent de très près ceux de cocaïne (Hurd et al., 1988; Nicolaysen et al., 1988; Minogianis et al., 2018), ceci suggère fortement que le pic de cocaïne au cerveau est également semblable entre une injection de 5 secondes et une injection de 100 secondes. La modélisation mathématique des niveaux de cocaïne au cerveau va dans le sens de cette hypothèse (Samaha et al., 2002). Par ailleurs, une récente étude menée au laboratoire a directement mesuré les niveaux de cocaïne et de dopamine dans le striatum par microdialyse en utilisant trois vitesses d'injection (5, 45 et 90 secondes) et a confirmé que le Cmax pour ces deux analytes était similaire quelle que soit la vitesse d'injection mais que le Tmax augmentait pour des injections plus lentes (Minogianis et al., 2018). L'ensemble de ces données conforte l'idée que varier la vitesse d'injection de la cocaïne (5-100 secondes) est critique dans l'établissement de la sensibilisation psychomotrice (Samaha et al., 2002; Samaha et al., 2004) et que cet effet ne résulte pas de concentrations de cocaïne au cerveau plus importantes amenées par les injections les plus rapides.

4.2.3 Varier la vitesse d'administration de la cocaïne pour promouvoir un phénotype toxicomane

Porrino (1993) s'est intéressée à cartographier les circuits neuronaux recrutés en fonction de la voie d'administration de la cocaïne. Des rats ont reçu une injection de cocaïne par voie intraveineuse (1 mg/kg) ou par voie intrapéritonéale (10 mg/kg). Par voie i.p. la cocaïne est absorbée au niveau de la cavité péritonéale puis est transportée du système porte au foie où elle peut être métabolisée avant d'entrer dans la circulation générale. Par voie i.v. la cocaïne est directement acheminée à la circulation générale et la biodisponibilité de la drogue est de 100% (voir section 2.1.3). Ces doses de cocaïne pour les deux voies d'administration ont donc été sélectionnées car elles augmentent l'activité locomotrice des animaux de façon similaire (Porrino, 1993). Par ailleurs, les voies i.v. et i.p. chez le rat mènent à une cinétique de la drogue semblable aux voies d'administration rapides et plus lentes, respectivement [comparaison des **Fig. 1** et **Fig. 2** de Allain et al. (2015) – revue en **annexe**]. De manière intéressante, il a été

déterminé que l'activité métabolique (utilisation de glucose) augmentait au niveau du système mésocorticolimbique après une injection i.v. mais pas après une injection i.p. de cocaïne (Porrino, 1993). Mais aussi, des injections i.v. rapides (4-5 secondes) de cocaïne augmentent de manière plus importante l'activité métabolique (production de chaleur) et l'activité cellulaire (expression ARNm *cfos* et *arc* – gènes immédiats précoces) du Nac que des injections i.v. plus lentes de cocaïne [64-100 secondes, (Samaha et al., 2004; Brown and Kiyatkin, 2005; Ferrario et al., 2008)]. Ces données suggèrent que l'activation des circuits neuronaux pertinents à l'addiction dépend de la voie d'administration de la cocaïne et de la vitesse d'entrée de la drogue au cerveau. Sur la base de ce postulat, l'auto-administration d'injections rapides de cocaïne devrait être plus à risque que l'auto-administration d'injections plus lentes dans l'établissement d'un phénotype toxicomane.

Pour autant, les études s'intéressant au rôle de la vitesse d'administration de la cocaïne dans l'acquisition de la tâche d'auto-administration sont en contradiction les unes avec les autres ce qui ne montre pas de lien net entre des injections rapides et un renforcement de la drogue plus efficace (Pickens et al., 1969; Balster and Schuster, 1973; Kato et al., 1987; Panlilio et al., 1998; Woolverton and Wang, 2004; Liu et al., 2005b; Crombag et al., 2008; Wakabayashi et al., 2010; Schindler et al., 2011; Minogianis et al., 2013; Bouayad-Gervais et al., 2014). Ces résultats ne semblent pas en totale discordance avec les données cliniques puisque les consommateurs initient généralement leur consommation avec une voie plus lente d'administration de la drogue, la voie intranasale (Hatsukami and Fischman, 1996) – les voies plus lentes d'administration de la cocaïne étant également renforçantes. Pour autant, des rats ayant le choix entre des injections rapides et lentes préfèrent s'auto-administrer les injections les plus rapides (Schindler et al., 2009), ce qui suggère que les injections les plus rapides mènent à des effets physiologiques et subjectifs plus importants que les injections plus lentes (section 2.4). Ceci étant dit, on ne pense pas que l'intensité des effets subjectifs soit responsable de la transition vers la toxicomanie (section 3.3.2). C'est pourquoi il est important

d'étudier le rôle de la vitesse d'administration de la cocaïne à un stade plus avancé de la consommation de drogue.

Des études se sont donc intéressées à manipuler la vitesse d'administration de la cocaïne au sein d'un protocole LgA (Wakabayashi et al., 2010; Minogianis et al., 2013; Bouayad-Gervais et al., 2014). Des rats pouvaient s'auto-administrer des injections données en 5 secondes (rats 5s) et d'autres pouvaient s'auto-administrer des injections données en 90 secondes (rats 90s). À noter qu'un temps mort de 85 secondes suivait chaque injection de 5 secondes, l'objectif étant que les deux groupes d'animaux puissent consommer le même nombre d'injections de cocaïne au sein de chaque session de 6 heures. Malgré cela, des rats 5s s'auto-administrent beaucoup plus de cocaïne que des rats 90s (Wakabayashi et al., 2010; Minogianis et al., 2013; Bouayad-Gervais et al., 2014), et les rats 5s augmentent leur consommation dans le temps alors que la consommation des rats 90s reste stable à travers les sessions LgA (Wakabayashi et al., 2010; Bouayad-Gervais et al., 2014). Par la suite, les rats 5s montrent une motivation à obtenir la cocaïne sous ratio progressif beaucoup plus importante que les rats 90s et ce indépendamment de la vitesse d'injection le jour du test de ratio progressif (Minogianis et al., 2013; Bouayad-Gervais et al., 2014). Des injections rapides de cocaïne sont également nécessaires pour promouvoir une sensibilisation des points de rupture dans le temps (Liu et al., 2005b). Les rats 5s, comparés au rats 90s, semblent également plus résistants à l'extinction [bien que l'effet ne soit pas significatif (Wakabayashi et al., 2010)] et sont plus vulnérables à la rechute induite par la cocaïne 45 jours après la dernière session d'auto-administration (Wakabayashi et al., 2010). Ces résultats sont donc marquants et montrent l'importance de la vitesse d'administration de la cocaïne dans l'établissement de symptômes pertinents à l'addiction.

Cependant, le problème ici est que la variable *vitesse* est confondue avec la variable *quantité* de drogue consommée puisque les rats 5s consomment beaucoup plus de drogue que les rats 90s. Ces études prouvent donc bien que des injections rapides de cocaïne sont

très à risque pour le développement d'une consommation excessive de la drogue, mais en ce qui concerne la recherche compulsive de la drogue (motivation excessive et vulnérabilité à la rechute) est-elle la conséquence de l'exposition à des injections rapides, de l'exposition à des niveaux excessifs de drogue, ou les deux ? Wakabayashi et al. (2010) suggèrent que la vitesse d'administration de la cocaïne, indépendamment de la quantité de drogue consommée, serait critique au développement d'un phénotype toxicomane. En effet, ils ont utilisé un groupe de rats qui pouvaient s'auto-administrer des injections de cocaïne administrées à une vitesse intermédiaire de 45 secondes (rats 45s). Les rats 5s et 45s ont consommé la même quantité de cocaïne – quantité plus importante que les rats 90s – mais seuls les rats 5s 'rechutaient' pour la drogue 45 jours plus tard (Wakabayashi et al., 2010). Un des objectifs de ma thèse a donc été d'étudier le rôle de la vitesse d'administration de la cocaïne, indépendamment de la quantité de drogue consommée, sur le développement d'une motivation excessive pour la drogue – un autre symptôme de la toxicomanie. Mon défi a été de faire varier la vitesse d'administration de la cocaïne entre 5 et 90 s tout en contrôlant la quantité de drogue consommée.

4.3 La fréquence de consommation de la cocaïne : une variable pharmacocinétique critique dans l'établissement d'un phénotype toxicomane

L'expression de la sensibilisation comportementale (sensibilisation psychomotrice, sensibilisation des effets physiologiques de la drogue) est généralement mesurée suite à une exposition intermittente et répétée de drogue (Tatum and Seevers, 1929; Downs and Eddy, 1932; Segal and Mandell, 1974; Post et al., 1976; Post and Rose, 1976; Roy et al., 1978; Robinson and Berridge, 1993). Ce type d'exposition augmente l'activité locomotrice des rats, la libération de DA dans le Nac (Kalivas and Duffy, 1990, 1993; Parsons and Justice, 1993) et diminue la recapture de DA (Addy et al., 2010). La dynamique d'action des drogues semble donc critique pour le développement des sensibilisations comportementale et neurobiologique. Ainsi, une exposition *intermittente* à la drogue favoriserait le développement de la sensibilisation alors qu'à l'inverse une exposition *continue* favoriserait le développement de la

tolérance (Post, 1980; Reith et al., 1987; Izenwasser and Cox, 1990, 1992; King et al., 1992; Calipari et al., 2013b). En effet, l'auto-administration continue de cocaïne pendant plusieurs heures par jour (protocole LgA modifié avec un nombre maximal d'injections imposé par session – protocole qui favorise l'augmentation de la consommation dans le temps) est associée à une diminution de l'activité métabolique du Nac (Macey et al., 2004; Calipari et al., 2013a) ainsi qu'à une diminution de la capacité de la cocaïne à inhiber le DAT dans le Nac (Ferris et al., 2011; Calipari et al., 2014b). Cette tolérance des effets de la cocaïne sur le DAT est normalisée deux semaines après arrêt de l'auto-administration de cocaïne (Ferris et al., 2011; Siciliano et al., 2016) mais peut être complètement réinstallée par une simple dose rappel de cocaïne jusqu'à 2 mois après arrêt de la consommation (Siciliano et al., 2016). Ceci suggère que la tolérance dopaminergique engagée par l'auto-administration continue de cocaïne est une neuro-plasticité qui persiste sur le long terme.

De manière surprenante, il a été jusqu'alors difficile de mesurer de façon préférentielle l'expression de la sensibilisation psychomotrice chez des rats LgA versus ShA – rats LgA qui présentent de nombreux symptômes de l'addiction (Ben-Shahar et al., 2004; Ben-Shahar et al., 2005; Ahmed and Cador, 2006; Knackstedt and Kalivas, 2007). Ceci a remis en question ce lien entre sensibilisation psychomotrice et sensibilisation de la valeur motivationnelle de la drogue (Lack et al., 2008; Vanderschuren and Pierce, 2010). Pour autant, un régime d'injections passives d'amphétamine, qui permet l'expression de la sensibilisation psychomotrice, accélère par la suite l'augmentation de la consommation de cocaïne chez des rats LgA (Ferrario and Robinson, 2007). Le temps de retrait de la drogue pouvant être crucial dans les phénomènes d'incubation du désir pour la drogue ('craving', voir section **3.2.4**), Ferrario et al. (2005) ont montré, un mois après la dernière session d'auto-administration LgA de cocaïne, une sensibilisation des mouvements stéréotypés de la tête chez les rats LgA comparés aux rats ShA. Cependant, les mouvements moteurs et stéréotypés générés par la cocaïne recrutent des circuits neuronaux différents. L'expression de la sensibilisation psychomotrice semble faire intervenir la neurotransmission DA dans le Nac (striatum ventral)

alors que la sensibilisation des mouvements stéréotypés semble plutôt faire intervenir la neurotransmission DA dans le striatum dorsal (Kelly et al., 1975; Joyce and Iversen, 1984; Sharp et al., 1987). Connaissant l'importance d'une exposition *intermittente* à la cocaïne pour le développement de la sensibilisation psychomotrice, la difficulté de mesurer son expression chez des rats LgA pourrait venir du fait que les animaux sont exposés en *continu* à la drogue pendant des sessions quotidiennes de 6 heures. En effet, une dose rappel de cocaïne après l'auto-administration continue de cocaïne diminue l'activité locomotrice des animaux, et ce jusqu'à 60 jours après retrait de la drogue (Calipari et al., 2014a; Siciliano et al., 2016). Cette tolérance des effets psychomoteurs de la cocaïne est associée à une tolérance des effets dopaminergiques de la drogue (Calipari et al., 2014a; Siciliano et al., 2016).

Nous avons vu en section **2.5** que des consommateurs expérimentés de cocaïne développaient un comportement de consommation intermittent entre (*between*) les 'binges' (Gawin and Kleber, 1986) mais aussi à l'intérieur (*within*) de ces 'binges' [(Beveridge et al., 2012), voir aussi **Fig. 10**]. Au sein d'une session LgA de consommation de cocaïne, il a été estimé que les niveaux de cocaïne au cerveau augmentaient rapidement en début de session pour rester élevés jusqu'à la fin de la session (Zimmer et al., 2012). Bien qu'un paradigme LgA n'affecte pas les cycles éveil/sommeil des animaux – ce qui est généralement la conséquence d'un 'binge' de consommation chez l'humain (Gawin and Kleber, 1986) – on peut extrapoler ces 6 heures de consommation en continu chez le rat comme étant un 'binge' de consommation qui sera réitéré le lendemain [**Fig. 20A**, ligne noire (Ahmed and Koob, 1998)].

Cependant, le modèle LgA ne modélise pas l'intermittence de consommation vue au sein même d'un 'binge' (Beveridge et al., 2012). Ainsi, Zimmer et al. (2011) ont mis au point un nouveau paradigme d'auto-administration de cocaïne basé sur un accès intermittent à la drogue au sein des sessions de 6 heures (IntA, *Intermittent Access*). À l'intérieur de chaque session de 6 heures, les rats ont accès à la drogue pendant de courtes périodes de 5 minutes (périodes actives, accès aux leviers) intercalées de périodes plus longues de 25 minutes où

l'accès à la drogue est interrompu (périodes inactives, leviers rétractés). Chaque session de 6 heures possède donc 12 périodes de 5 minutes où la cocaïne peut être auto-administrée. Grâce à un modèle mathématique à deux compartiments, il a été estimé que les niveaux de cocaïne au cerveau fluctuaient au sein de chaque session IntA [(Zimmer et al., 2011; Zimmer et al., 2012), **Fig. 20A**, ligne grise]. À noter que la demi-vie de la cocaïne chez le rat est plus courte que chez l'humain [~20-30 minutes (Nayak et al., 1976; Hurd et al., 1988)]. L'avantage de ce paradigme IntA est qu'il modélise à la fois l'intermittence de consommation entre les 'binges' (*between-sessions*, entre les sessions) et l'intermittence de consommation au sein même des 'binges' (*within-sessions*, au sein de chaque session, entre les périodes d'accès à la cocaïne).

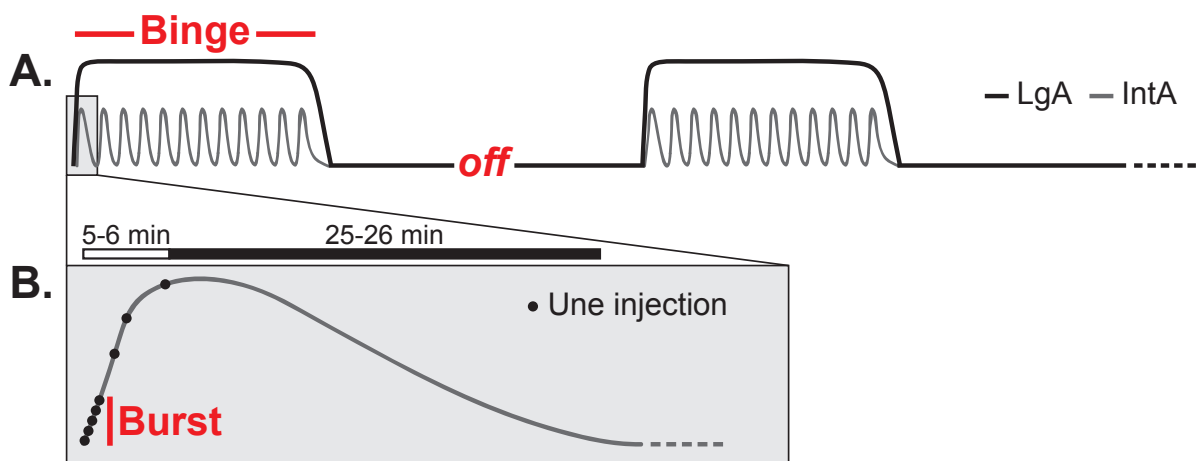


Fig. 20. Comparatif entre une session LgA et une session IntA d'auto-administration de cocaïne. (A) Schématisation des niveaux de cocaïne au cerveau entre une session IntA et une session LgA. Un 'binge' de consommation selon Gawin and Kleber (1986) serait ici identifié comme étant une session de 6 heures, IntA ou LgA. À noter ici qu'il s'agit d'une représentation schématisée et non d'une modélisation des niveaux de drogue au cerveau. La phase descendante de chaque pic de cocaïne (IntA) a été ramenée à un niveau basal pour une meilleure compréhension du propos mais il est possible qu'en condition réelle, l'état basal des niveaux de drogue au cerveau ne soit pas atteint à la fin d'une période de 25-26 minutes de non consommation de cocaïne. (B) Au sein d'une session IntA, chaque pic de consommation comprend une période de 5-6 minutes d'auto-administration de cocaïne (phase ascendante du pic) suivie d'une période de 25-26 minutes de non consommation de cocaïne (phase descendante du pic). Un 'burst' de consommation est identifié comme étant une consommation très rapide de plusieurs injections de cocaïne au début de chaque période active d'accès à la cocaïne [basé sur (Belin et al., 2009; Allain et al., 2018)].

Ce protocole d'accès intermittent à la cocaïne semble pertinent à l'étude de l'addiction puisqu'il favorise également l'augmentation : (1) de la consommation dans le temps, (2) de la motivation pour la cocaïne (diminution de α , augmentation de P_{max}) ainsi que (3) de la

vulnérabilité à la rechute (Zimmer et al., 2012; Calipari et al., 2015; Kawa et al., 2016; Pitchers et al., 2017; Singer et al., 2018).

Par ailleurs, des rats IntA qui consomment beaucoup moins de cocaïne que des rats LgA [(Zimmer et al., 2012), **Fig. 20A**], développent par la suite une motivation plus importante à obtenir la cocaïne [valeurs de Pmax plus élevées chez les rats IntA versus les rats LgA (Zimmer et al., 2012)]. Mais aussi, un régime d'auto-administration LgA diminue la capacité de la cocaïne à inhiber le DAT alors qu'un régime d'auto-administration IntA l'augmente (Calipari et al., 2013b). Il semblerait même qu'une très brève exposition à un protocole d'auto-administration IntA suffise à l'établissement de cette sensibilisation neurocomportementale. En effet, une exposition à seulement trois sessions IntA de cocaïne favorise la sensibilisation de la motivation pour la cocaïne (augmentation de Pmax) et la sensibilisation des effets de la cocaïne sur le DAT [ces effets s'accroissent quand une semaine de retrait de la drogue suit les 3 jours d'auto-administration IntA de cocaïne (Calipari et al., 2015)]. Ceci confirme que la pharmacocinétique de la cocaïne au sein même d'une session de consommation est critique pour le développement de mécanismes de tolérance versus de sensibilisation. Sachant que des valeurs élevées de Pmax peuvent être prédites par une plus grande capacité de la cocaïne à inhiber le DAT (Siciliano and Jones, 2017), ceci laisse supposer que l'état sensibilisé des rats IntA (Calipari et al., 2013b; Calipari et al., 2014c; Calipari et al., 2015) corrèle avec leur motivation excessive à obtenir la cocaïne (Zimmer et al., 2012; Calipari et al., 2015).

Le paradigme d'auto-administration IntA de cocaïne (Zimmer et al., 2011; Zimmer et al., 2012) a été la base de ma thèse car il donne deux informations capitales sur la pharmacocinétique de la cocaïne et son influence sur l'établissement d'un phénotype toxicomane : (1) La fluctuation des niveaux de cocaïne au cerveau au sein d'un 'binge' de consommation semble critique pour le développement d'une motivation excessive pour la drogue. (2) L'expression de la sensibilisation neurocomportementale (sensibilisation de la motivation pour la cocaïne, sensibilisation dopaminergique) semble être bien plus dépendante

de la dynamique temporelle de la cocaïne au cerveau au sein d'une session d'auto-administration que de la quantité de drogue consommée.

'Binge' versus 'Burst' de consommation

Un accès continu à la cocaïne promet une phase de chargement rapide des niveaux de cocaïne au cerveau suivie d'une phase de maintien plus ou moins longue dépendamment de la durée de la session (Fig. 19). Dans les chapitres III et IV de ma thèse, je me suis intéressée à savoir si ces phases de chargement pouvaient être multiples au sein d'une session IntA. L'hypothèse est qu'un 'burst' de consommation serait initié quand les niveaux de drogue au cerveau sont bas – une condition qui arrive plusieurs fois au sein d'une session IntA de 6 heures (théoriquement 12 fois) alors qu'elle n'arrive théoriquement qu'une seule fois au sein d'une session LgA (en début de session). J'ai caractérisé ces phases de chargement pour chaque session IntA et j'ai identifié un 'burst' comme étant la consommation très rapide de plusieurs injections de cocaïne au début des périodes de 5-6 minutes (Fig. 20B).

Dans le chapitre III de ma thèse (Allain et al., 2018) – où j'ai initié cette caractérisation – le terme 'binge' a été utilisé pour définir un 'burst' de consommation. Dans le chapitre IV de ma thèse (Allain and Samaha, 2018), pour éviter la confusion avec un 'binge' de consommation chez l'humain (Gawin and Kleber, 1986), nous avons privilégié l'emploi du terme 'burst' pour désigner une consommation très rapide de plusieurs injections de cocaïne en un laps de temps très court (Fig. 20A versus 20B).

Objectifs principaux

Dans le **chapitre II** de ma thèse (article 1, *Neuropharmacology 2017*), j'ai manipulé la vitesse d'administration de la cocaïne au sein d'un protocole IntA d'auto-administration de cocaïne. Deux groupes de rats, avec les mêmes conditions d'accès à la drogue (IntA), pouvaient s'auto-administrer des injections de cocaïne délivrées soit en 5 secondes (rats 5s) soit en 90 secondes (rats 90s). J'ai adapté le protocole de manière à ce que les rats 5s et 90s s'auto-administrent en moyenne le même nombre d'injections de cocaïne et que leur consommation reste stable dans le temps. J'ai ainsi pu évaluer les adaptations neurocomportementales (phénotype addictif et homéostasie glutamatergique) mises en place par l'auto-administration d'injections rapides ou plus lentes de cocaïne indépendamment de la quantité de drogue consommée.

Dans le **chapitre III** de ma thèse (article 2, *Psychopharmacology 2018*), j'ai caractérisé le schéma de consommation de la cocaïne des rats au sein de sessions IntA. Typiquement, des rats LgA augmentent leur consommation dans le temps et ceci a longtemps été considéré comme une condition critique pour le développement de la toxicomanie. J'ai ici utilisé le modèle IntA pour manipuler cette variable 'augmentation de la consommation dans le temps' et ainsi évaluer si la bloquer empêchait le développement d'un phénotype toxicomane.

Dans le **chapitre IV** de ma thèse (article 3, *Addiction Biology 2018*), j'ai remis en question l'importance d'un accès prolongé à la cocaïne dans l'établissement d'un phénotype toxicomane. En effet, pour des rats ayant un accès continu à la cocaïne, des sessions prolongées de 6 heures/jour (LgA) versus des sessions plus courtes (1-2 h/jour, ShA) favorisent le développement de symptômes pertinents à l'addiction, mais est-ce toujours vrai pour des rats IntA ?

Dans le **chapitre V** de ma thèse (données non publiées), j'ai émis l'hypothèse que des pics de cocaïne quotidiens générés par un paradigme IntA menaient à des pics de monoamines, dont notamment des pics de dopamine. Atténuer ces pics de dopamine, en imposant une libération continue d'amphétamine pendant l'auto-administration intermittente de cocaïne devrait théoriquement diminuer les symptômes de l'addiction à la cocaïne.

CHAPITRE II

Article 1

INTERMITTENT INTAKE OF RAPID COCAINE INJECTIONS PROMOTES ROBUST PSYCHOMOTOR SENSITIZATION, INCREASED INCENTIVE MOTIVATION FOR THE DRUG AND MGLU2/3 RECEPTOR DYSREGULATION

Florence Allain, M.Sc.^a, David C. S. Roberts, PhD^b, Daniel Lévesque, PhD^{c,d} and Anne-Noël Samaha, PhD*^{a,d}

^aDepartment of Pharmacology and Physiology, Faculty of Medicine, Université de Montréal;

^bDepartment of Physiology and Pharmacology, Wake Forest University Health Sciences, Winston-Salem, NC, 27157, USA; ^cFaculty of Pharmacy, Université de Montréal; ^dCNS Research Group, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, QC, H3C 3J7, Canada

*Corresponding Author:

Anne-Noël Samaha
Department of Pharmacology and Physiology
Université de Montréal
C.P. 6128, Succursale Centre-ville
Montreal, Quebec
H3C 3J7
Canada
Tel: 514 343 6111 x. 32788
Fax: 514 343 2291
anna.samaha@umontreal.ca

Ce manuscrit a été publié dans Neuropharmacology 117: 227-237, Mai 2017.

Abstract

The choice between smoking, injecting or swallowing a drug influences the risk of addiction, as this determines both how much drug gets into the brain and how fast. Most animal studies on addiction focus on how much drug it takes to produce pathological drug use. How fast drugs get to the brain is generally ignored. A few studies have examined the influence of the speed of drug onset, but speed varied along with cumulative intake. Here we held average cumulative intake constant and determined whether variation in the speed of cocaine onset alone predicts outcome. Two groups of rats self-administered intravenous cocaine (0.25 mg/kg/injection) during daily sessions. Cocaine was available intermittently during each session. This produces the spikes and troughs in brain levels of cocaine thought to model how addicts take the drug. To vary the speed of cocaine onset, each injection was delivered over 5 seconds to one group, and over 90 seconds to the other. Average cumulative cocaine intake was the same in the two groups. However, rapid injections promoted robust psychomotor sensitization and potentiated incentive motivation for cocaine (0.063-0.25 mg/kg/injection). This addiction-relevant phenotype was accompanied by enhanced functional activity of metabotropic glutamate group II receptors (mGluR2/3s) in the prelimbic cortex and nucleus accumbens. Pharmacological activation of mGluR2/3s with LY379268 also preferentially decreased the motivation to take cocaine in rats previously exposed to rapid drug injections. Thus, varying the speed of drug onset can be used to parse the neurobiology of addiction from that of mere drug taking.

Keywords: Drug addiction; Speed of cocaine onset; Intravenous drug self-administration; Psychomotor sensitization; Progressive ratio; Group II metabotropic glutamate receptors.

Highlights

- Cocaine is more addictive when it enters the brain rapidly
- Rats were given intermittent access to rapid or slower i.v. cocaine injections
- Rapid injections evoked locomotor sensitization and greater motivation for cocaine
- Rapid injections led to mGluR2/3 dysregulation in prelimbic cortex and accumbens
- Activating mGluR2/3s reduced the motivation for cocaine in rapid injection-rats

1. Introduction

Drug exposure, even if it is extensive, does not inevitably lead to addiction (Ahmed, 2010; Roberts et al., 2007). Part of the reason comes down to pharmacokinetic factors. Besides how much drug gets into the brain, both how fast and how often drug levels rise determine the effects drugs will have on the brain and on behavior (Allain et al., 2015; Samaha and Robinson, 2005). This is one reason why addiction is more likely in people who smoke or intravenously (i.v.) inject drugs compared to users of slower onset routes (oral or intranasal) (Gossop et al., 1994; Hatsukami and Fischman, 1996; Henningfield and Keenan, 1993), and why some drugs can lead to addiction when taken by one route (smoking nicotine or an opiate drug), but can treat addiction when taken by another (transdermal nicotine or oral methadone). Albeit slower onset routes can also lead to addiction (Wightman et al., 2012).

Prior work has shown that variation in the speed of cocaine onset influences later responding for the drug under a progressive ratio schedule of reinforcement (Bouayad-Gervais et al., 2014; Liu et al., 2005; Minogianis et al., 2013) and in tests for cocaine-induced reinstatement of extinguished drug-seeking behavior (Wakabayashi et al., 2010). However, cumulative drug-intake varied along with the speed of cocaine onset in these studies (Minogianis et al., 2013; Wakabayashi et al., 2010). This makes it difficult to dissociate effects due to how fast versus how much drug enters the brain. This is particularly an issue when comparing the effects of the same drug given by different routes of administration (Porrino, 1993). In one study (Bouayad-Gervais et al., 2014), lifetime exposure to cocaine was held constant in animals taking rapid or slower cocaine injections, but the rats self-administered drug during short daily sessions [1 hour (h)]. Short self-administration sessions are useful to study drug reinforcement, but might be less useful to study the addiction process compared to more extended daily sessions (Ahmed, 2012; Roberts et al., 2007). Here, we used extended daily sessions to introduce a new animal model whereby the speed of cocaine onset is varied but average drug intake is held constant. Two groups of rats could press a lever for i.v.

injections of the drug. Cocaine was injected over 5 seconds (s) in one group (5s-rats), and over 90 s in the other (90s-rats). These cocaine injection speeds produce different magnitudes of subjective effects in humans (Abreu et al., 2001), approximate the onset of subjective intoxication in intravenous (2-9 s) (Zernig et al., 2003) versus intranasal (Jones, 1984) cocaine users, but would not produce large differences in peak brain levels of cocaine or dopamine in rats (while producing different *rates of rise* of both measures) (Ferrario et al., 2008; Samaha et al., 2002). During each self-administration session, cocaine was available intermittently, using a procedure developed by Zimmer et al. (2011). Self-administration sessions involving continuous drug access (Ahmed and Koob, 1998) produce high and sustained brain levels of drug (Zimmer et al., 2012). In contrast, the intermittent access (IntA) procedure used here produces spikes and troughs in brain drug levels during each session (Zimmer et al., 2011, 2012). This is thought to model the temporal dynamics with which experienced human cocaine users take the drug (Beveridge et al., 2012). Spiking levels of cocaine also drive changes in the brain (Calipari et al., 2013) and in behavior (Zimmer et al., 2012) that are relevant to addiction.

Using this model, we determined the influence of the speed of cocaine onset on the susceptibility to develop an addiction phenotype, as indicated by the development of sensitization to both the incentive motivational and psychomotor activating effects of cocaine. Sensitization of the incentive motivational effects of drugs is an increase in the wanting to take drugs (Robinson and Berridge, 1993), leading to many of the symptoms of pathological drug use that define addiction (APA, 2013). Psychomotor sensitization is a persistent increase in the psychomotor activating effects of drugs with repeated exposure. Psychomotor sensitization has attracted much research attention because it is thought to reflect neurobiological changes linked to pathological drug wanting (De Vries et al., 1998; Lorrain et al., 2000; Robinson and Berridge, 1993). Given this, conditions that promote drug wanting should also promote psychomotor sensitization.

The development of addiction is also thought to be linked to an increase in the density and function of presynaptic metabotropic glutamate group II receptors (mGluR2/3s; (Aujla et al., 2008; Beveridge et al., 2011; Hao et al., 2010)). mGluR2/3s are located predominantly extrasynaptically, on the axon terminals of glutamate neurons. Stimulation of mGluR2/3s activates $G_{i/o}$ proteins, decreases intracellular concentrations of cAMP and curbs synaptic glutamate release (Conn and Pin, 1997; Niswender and Conn, 2010; Xi et al., 2002a). These receptors are primarily activated by extrasynaptic glutamate, which comes from glia (Baker et al., 2002b; Kalivas, 2009; Moran et al., 2005; Xi et al., 2002a). Chronic exposure to psychostimulant drugs attenuates extrasynaptic levels of glutamate (Kalivas, 2009), leading to decreased glutamatergic tone on mGluR2/3s, and a compensatory increase in the density and function of these release-inhibitory receptors. In parallel, the reduced glutamatergic tone on mGluR2/3s contributes to the excess drug-evoked synaptic glutamate release seen in drug-experienced animals (Kalivas, 2009). This increase in synaptic glutamate-mediated neurotransmission promotes drug-seeking behavior (Kalivas, 2009; Kalivas et al., 2005; McFarland et al., 2003; Pendyam et al., 2009). For this reason, pharmacological stimulation of mGluR2/3s might be an attractive strategy to attenuate excessive patterns of psychostimulant drug use (Adewale et al., 2006; Baptista et al., 2004, 2005; Crawford et al., 2013; Hao et al., 2010; Kim et al., 2005; Kufahl et al., 2013). Thus, we quantified mGluR2/3 function *ex vivo* in 5s- and 90s-rats, and we also determined the influence of a selective mGluR2/3 agonist on the incentive motivational effects of cocaine in these two groups.

2. Materials & Methods

2.1 Animals

Male Wistar rats (225-250 g; Charles River Laboratories, St Constant, Qc) were housed individually under a reverse dark-light cycle (lights off at 08:30am) in a vivarium. The animal care committee of the Université de Montréal approved all experimental procedures involving animals. Upon arrival to the vivarium, the rats had free food and water access. Starting 3 days

later, animals were handled daily, and food was restricted to 25 g/day of standard rat chow. This moderate food restriction regimen is commonly used in rodent drug self-administration studies and it achieves 80-85% of free-feeding body weight (Bongiovanni and See, 2008; Ferrario et al., 2005; Figueroa-Guzman et al., 2011; McFarland et al., 2003). All rats gained weight over days. Self-administration sessions occurred during the dark phase of the animals' circadian cycle.

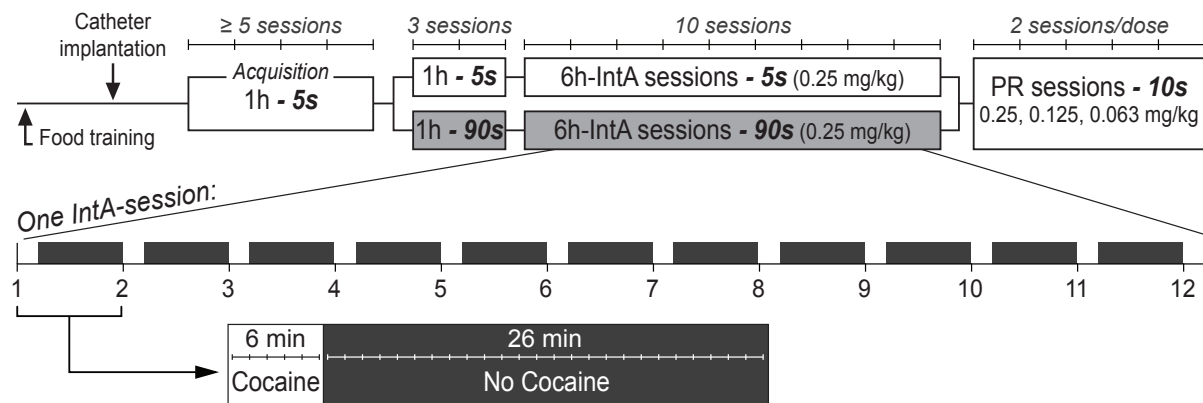


Fig. 1. The sequence of experimental events. After learning to press a test lever for 45-mg, banana-flavored food pellets, rats were implanted with intravenous catheters and trained to lever press for cocaine (0.25 mg/kg/injection, delivered intravenously over 5 s). Next, the rats were divided into two groups and for three 1-h sessions, they were given continuous access to cocaine, with each injection delivered either over 5 s (5s-rats) or 90 s (90s-rats). The sessions were then extended to 6 h, during which cocaine was available intermittently (IntA). Following 10 IntA-sessions, the incentive motivational properties of cocaine were measured using a progressive-ratio schedule of drug reinforcement (PR). During PR-tests, cocaine was delivered over 10 s to all animals.

2.2 Apparatus and drugs

We used standard operant cages (Med Associates, St Albans, VT) equipped with two retractable levers. Pressing the active lever produced reinforcement (a food pellet or cocaine). Pressing the inactive lever had no programmed consequences. To signal the beginning of each session, both levers were inserted into the cage and the house light was illuminated. Upon reward delivery and during the ensuing timeout period where applicable, the light above the active lever was illuminated and both levers were retracted. The light was then extinguished and the levers were again inserted into the cage to indicate reward availability. These cues were present during both the food and cocaine self-administration phases, and this was constant across experimental groups. These cues are unlikely to influence 5s- and

90s-rats differently, as cues paired with either rapid or slower cocaine injections acquire similar conditioned rewarding properties (Samaha et al., 2011). Four infrared photocells aligned horizontally in each cage measured locomotor activity during sessions. Cocaine hydrochloride (0.063-0.25 mg/kg/injection; Medisca Pharmaceutique, St Laurent, Qc) and LY379268 (Schoepp et al., 1999) (0.3-2 mg/kg, delivered subcutaneously, s.c., in a volume of 1 ml/kg; R&D systems, Minneapolis, MN) were dissolved in 0.9% saline. The LY379268 solution was briefly heated and sonicated and the pH was adjusted to ~7 with ~0.5 µl of 10N NaOH per 1 mg of LY379268 (Imre et al., 2006). 3.33-RPM syringe-pump motors delivered cocaine over 5 s or 10 s (30.16 µl/s). 0.1-RPM motors delivered cocaine over 90 s (0.86 µl/s).

2.3 Cocaine self-administration training

Fig. 1 illustrates the sequence of events. To hasten the acquisition of lever-pressing for cocaine, rats first learned to lever-press for 45-mg banana-flavored food pellets (grain-based; VWR, Montreal, QC) under a fixed ratio (FR) 3 schedule of reinforcement. The rats were then anesthetized and implanted with an indwelling intrajugular catheter, as in our prior work (Samaha et al., 2011). Starting on the day of implantation, catheters were flushed each day with a sterile saline solution. Every other day, 0.2 mg/ml of Heparin (Sigma-Aldrich, Oakville, ON) and 2 mg/ml of Baytril (CDMV, St Hyacinthe, Qc) were added to the saline solution.

After 6-9 days of recovery, rats were given daily 1-h cocaine (0.25 mg/kg/injection, injected over 5 s) self-administration sessions, on a FR3, with a 65-s timeout period. Rats had at least 3 daily sessions, until they took cocaine at regular intervals and pressed at least twice more on the active versus inactive lever. Then, for 2 additional 1-h sessions, we increased the timeout period to 85 s for all rats so that the projected 90s-rats get used to waiting longer between the end of one injection and the beginning of the next. Finally, rats were assigned to one of two groups, such that average number of injections during training was comparable across groups. During three, 1-h sessions, each self-administered injection was delivered over 5 s to one group (5s-rats) and over 90 s to the other (90s-rats), with no timeout.

2.4 Intermittent-access (IntA) sessions

Next, the two groups self-administered cocaine (0.25 mg/kg/injection) during ten 6-h, IntA-sessions (Zimmer et al., 2011). Each IntA-session had twelve, 6-min phases where cocaine was available, intercalated with 26-min phases where levers were retracted and cocaine was unavailable (**Fig. 1**). To limit each session to 6 hours, the last 6-min cocaine phase was followed by a 2- rather than a 26-minute no-cocaine phase. The objective here was to determine whether variation in the speed of cocaine onset influences outcome, independent of differences in the amount of drug taken. Consistent with published work showing that rapid injections of cocaine promote an escalation in drug intake over IntA-sessions (Kawa et al., 2016; Pitchers et al., 2017), our pilot studies revealed that 5s-rats escalate their intake over sessions, while 90s-rats take an average of 2 injections/6-min cocaine phase, and keep their intake stable over sessions. Thus, in the present cohort of 5s- and 90s-rats, we held drug intake constant across groups by limiting the 5s-rats to 2 cocaine injections *per* 6-min phase. A 26-min no-cocaine phase was initiated after each 6-min cocaine phase, or as soon as 5s-rats self-administered their 2 injections. The 90s-rats could take up to 4 injections/6-min phase (6 min allow for four 90-s injections).

2.5 Progressive-ratio (PR) sessions

Four days following the last IntA-session, we assessed incentive motivation for cocaine in 5s- and 90s-rats by giving them access to the drug under a PR schedule of reinforcement (0.063-0.25 mg/kg/injection, 2 sessions/cocaine dose, with 0.063 and 0.125 mg/kg/injection presented in counterbalanced order, followed by 0.25 mg/kg/injection). The number of lever presses required for each successive injection increased exponentially according to the formula: $[5 \times e^{(\text{number of injection} \times 0.2)} - 5]$, (Richardson and Roberts, 1996)].

Each PR-session ended when 1 h elapsed since the last injection, or after 5 h. Each cocaine injection was delivered over 10 s, to all animals. Holding the dose and speed of cocaine

injection constant across groups during PR-sessions makes it such that any potential group differences in behavior during these sessions would be due to differences in drug-taking history. We chose a 10-s injection speed because prior work shows that when rats are given continuous access to rapid or slow cocaine injections during 6-h daily sessions, those taking rapid injections later show greater responding for the drug under PR, regardless of whether cocaine is injected over 5, 10 or 90 s during the PR-session (Bouayad-Gervais et al., 2014; Minogianis et al., 2013).

Catheter patency was verified at the end of the IntA phase and at the end of PR testing. At each time point, we gave all rats an i.v. injection of 0.2 ml of a sodium thiopental solution (20 mg/ml in sterile water; CDMV, St Hyacinthe, Qc). Rats that did not become ataxic within 10 s of the injection were excluded from data analysis.

2.6 LY379268-stimulated [³⁵S]GTPγS binding

Twenty-four hours after the last PR-session, rats were anesthetized with an i.v. injection of either thiopental or a mixture of Ketamine hydrochloride (Ketaset 100 mg/ml; CDMV, St Hyacinthe, Qc) and Xylazine (Rompum 20 mg/ml; CDMV). Ketamine/Xylazine was administered to three 5s-rats, three 90s-rats, and four saline (SAL) control rats, because thiopental became temporarily unavailable during these experiments. SAL control rats were included in this analysis. They had been run in parallel to the 5s- and 90s-rats and allowed to self-administer saline during both IntA-sessions (delivered over 5 s) and PR-tests (delivered over 10 s). We have shown previously that varying the speed of i.v. injection between 5 and 90 s has no effect on saline self-administration behavior (Minogianis et al., 2013). Thus, here, all SAL rats were given access to saline injections delivered at the same speed in order to reduce the number of control rats used. The rats were then quickly decapitated and their brains were extracted. The brains were frozen in cold isopentane (-50°C) and stored at -80°C. Three ~1-mm thick coronal slices were cut in a cryostat (-20°C) at approximately +3.7, +1.7 and -2.3

mm from bregma (Paxinos and Watson, 1986). Bilateral tissue punches were taken from the prelimbic cortex (PrL), the nucleus accumbens (Nac) and the amygdala (AMY) using a 15-gauge sample corer.

The LY379268-stimulated [³⁵S]GTPγS binding assay was adapted from Hao et al. (2010). Punches were homogenized in 600 μl of HEPES buffer (in mM; 100 NaCl, 20 HEPES, 10 MgCl₂, 0.25 EGTA, pH adjusted to 7.4) and centrifuged at 4°C for 15 min at 15000 g. The resulting pellet was resuspended in 600 μl of HEPES buffer. This was repeated a second time under the same conditions. Based on total protein density quantified in pilot assays (Micro BCA Protein Assay Kit; Fisher Scientific, Whitby, ON), the final resulting pellet containing the PrL was resuspended in one volume of HEPES buffer (600 μl) while the final resulting pellets containing the Nac or the AMY were resuspended in two volumes of HEPES buffer.

To obtain a final volume of 200 μl in HEPES buffer, 50 μl of homogenized tissue were mixed with 10 μM of guanosine diphosphate (GDP; Sigma-Aldrich, Oakville, ON), 0 or 10 μM of LY379268, 0.5 U of adenosine deaminase (ADA, from calf intestine, Roche), and 0.05 nM of [³⁵S]guanosine 5'-(3-O-thio) triphosphate ([³⁵S]GTPγS; PerkinElmer, Woodbridge, ON; 1250 Ci/mmol). This final mixture was left to incubate for 1 h at 37°C and then centrifuged at 4°C for 15 min, at 15000 g. The pellet was then washed in 200 μl of HEPES buffer and re-centrifuged for 15 min. The assay was performed in triplicate under each condition (3 with 0 μM and 3 with 10 μM of LY379268). One hundred μl of 2 M sodium hydroxide were added to the resulting pellet and transferred to a vial containing 10 ml of scintillation cocktail. Radioactivity was counted by liquid scintillation spectrophotometry.

In preliminary studies, we examined [³⁵S]GTPγS binding induced by 10 μM of LY379268 with or without the mGluR2/3 antagonist, LY341495 (0 or 10 μM; Cedarlane Laboratories, Burlington, ON). We also assessed nonspecific [³⁵S]GTPγS binding by adding 10 μM of unlabeled GTPγS (Sigma-Aldrich, Oakville, ON). Both manipulations showed that LY379268-

induced [³⁵S]GTPγS binding was specific to mGluR2/3 subtypes and that nonspecific GTPγS binding was negligible under our conditions.

2.7 Administration of the mGluR2/3 agonist LY379268 and measurement of locomotor activity during IntA-sessions

To determine whether mGluR2/3-mediated activity differentially regulates the motivation to take cocaine in 5s- versus 90s-rats, we assessed the effects of LY379268 on responding for cocaine under a PR schedule of reinforcement. A new cohort of 5s- and 90s-rats first self-administered cocaine during 10 IntA-sessions, as described above. These animals were also used to determine whether variation in the speed of cocaine onset determines the vulnerability to develop psychomotor sensitization. We computed locomotor activity counts over the no-cocaine phases of each IntA-session. During no-cocaine phases, levers are retracted and movement related to lever-pressing behavior cannot confound locomotor activity counts. Four to 5 days after the last IntA-session, the rats self-administered cocaine (0.125 mg/kg/injection, delivered over 10 s) under PR. We used 0.125 mg/kg/injection based on the results of experiment 1, showing that 5s- and 90s-rats show reliable differences in breakpoint at this dose. Thirty minutes prior to each PR-session, 0, 0.3, 1 and 2 mg/kg LY379268 were injected subcutaneously, in a within-subjects, counterbalanced design. LY379268 is expected to be effective throughout the PR-session, as brain levels of the agonist remain high for > 5 h in rodent brain after a single intraperitoneal (i.p.) injection (Bond et al., 2000). While we injected LY379268 s.c. here – as in Hao et al. (2010), brain pharmacokinetics of the agonist are likely similar following an i.p. versus s.c. injection. Giving the same range of doses of LY379268 either i.p. or s.c. attenuates responding for psychostimulants under a PR schedule of reinforcement (Crawford et al., 2013; Hao et al., 2010).

2.8 Modeling of brain cocaine levels

Brain cocaine levels (*C* in μM) during an IntA-session were calculated using a mathematical model validated by Pan et al. (1991), and recently applied to IntA self-administration studies

(Zimmer et al., 2011; Zimmer et al., 2012). This well-established model has been used extensively to estimate brain cocaine levels following self- and experimenter-administered i.v. injections (Nicola and Deadwyler, 2000; Samaha et al., 2002; Shou et al., 2006; Wise et al., 1995; Zimmer et al., 2011; Zimmer et al., 2012). The model uses the following formula:

$$C = dA \cdot (e^{-\beta t} - e^{-\alpha t}) \text{ with } A = \frac{k}{v \cdot (\alpha - \beta)}$$

where d is the dose of cocaine self-administered ($0.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), A is a constant ($9.63 \mu\text{M} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{kg}$) that integrates *i*) the rate constant for transfer of cocaine from blood to brain (k), *ii*) the apparent volume of brain distribution (v) and *iii*) two constants α (0.6419 min^{-1}) and β (0.0971 min^{-1}), which account for the transfer of cocaine between blood and brain and its elimination from blood. Finally, t is the time in minutes since the last cocaine injection. All constants used are those reported by Pan et al. (1991) for rats receiving repeated i.v. cocaine injections. We used a 5-s time resolution for all estimates. To model brain levels of cocaine following a 90-s injection, the 0.25-mg/kg/injection dose was divided into eighteen 5-s bins. Curves were generated using a Python script.

2.9 Statistical analysis

Mixed-model ANOVA was used to analyze locomotion (Group x IntA-session, the latter as a within-subjects variable; IntA-session x Time (min), both as within-subjects variables) and drug-taking behavior during PR-tests (Group x Cocaine Dose, the latter as a within-subjects variable). LY379268-induced [^{35}S]GTP γ S binding was analyzed using One-way ANOVA. In the behavioral LY379268 study, group differences in baseline motivation for cocaine was assessed using a corrected unpaired t-test (Levene's test revealed heteroscedasticity, Welch's correction was performed). Mixed-model ANOVA was used to analyze lever presses during PR-tests (Lever type x LY379268 treatment, both as within-subjects variables; Group x LY379268 treatment, the latter as a within-subjects variable) and cocaine intake during PR-tests (Group x LY379268 Dose, the latter as a within-subjects variable). Significant interactions or main effects (P 's < 0.05) were followed by Bonferroni's multiple comparisons tests.

3. Results

Fig. 2 shows cocaine intake and modeled brain levels of the drug over a 6-h IntA-session in representative 5s- and 90s-rats.

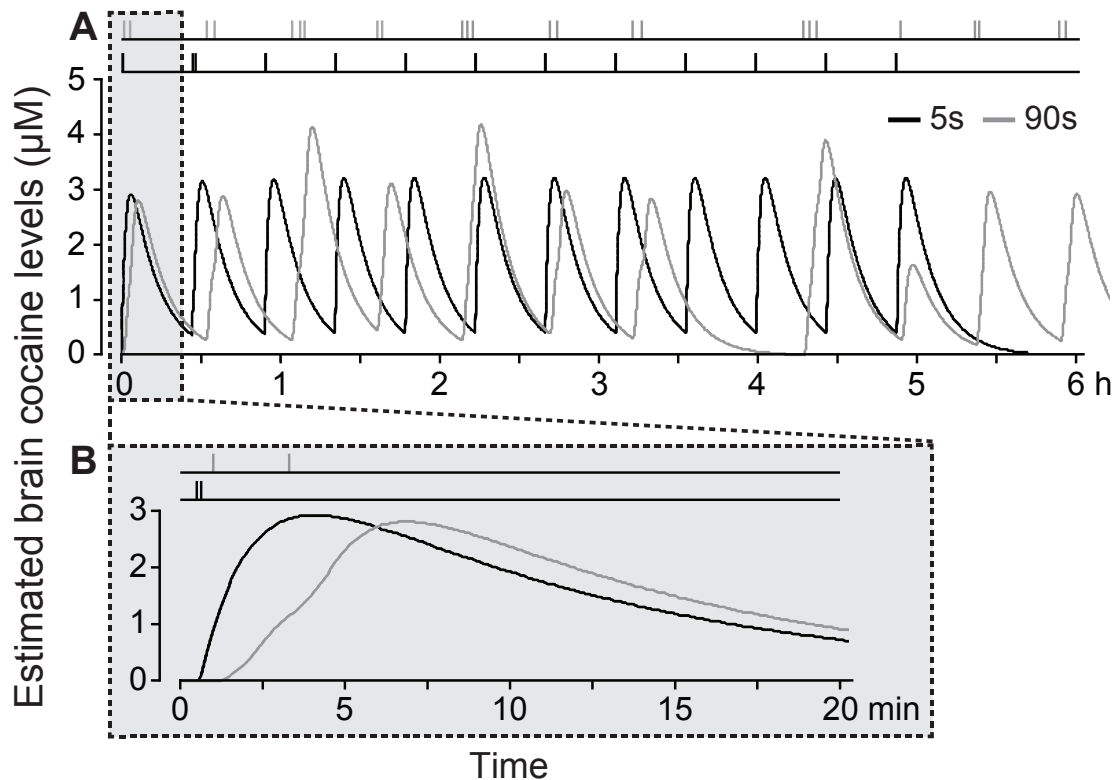


Fig. 2. Intake and estimated brain cocaine levels during an intermittent-access drug self-administration session in representative rats from the 5- and 90-s groups, respectively. (A) Intermittent access to cocaine within the 6-h session (6-min cocaine trial followed by a 26-min timeout) evokes similar spikes and troughs in estimated brain cocaine levels in 5s- and 90s-rats. Panel (B) is an expansion of the first 20 min of the self-administration session, during which each rat took 2 injections. According to the pharmacokinetic model used (see Materials & Methods), delivering cocaine either over 5 s or 90 s would not produce large differences in maximal concentrations of the drug in the brain, but would produce differences in the rate of rise of cocaine levels.

The animals had access to cocaine on a FR3 schedule during 6-min phases intercalated with 26-min no cocaine phases. This intermittent-access procedure produces spikes and troughs in brain cocaine levels during the session, as reported previously (Zimmer et al., 2011, 2012), and delivering cocaine either over 5 or 90 s produces a similar spiking pattern (**Fig. 2A**). The two representative rats self-administered the same number of cocaine injections during the session (24). The 5s-rat systematically took 2 cocaine injections/6-min cocaine phase, leading to twelve brain cocaine spikes of similar amplitude (**Fig. 2A**). However, the 90s-rat took 0 to 4 cocaine injections/6-min cocaine phase, leading to cocaine spikes of somewhat differing

amplitudes (**Fig. 2A**). The session can be shorter in 5s-rats because in this group, a 26-min no cocaine phase is initiated as soon as rats take the 2 cocaine injections/6-min phase. In contrast, 90s-rats can take up to 4 injections/6-min phase. **Fig. 2B** shows the first 20 min of the session on an expanded time scale, during which both rats had taken 2 injections each. The pharmacokinetic model suggests that the same dose of cocaine delivered either over 5 or 90 s would not lead to large differences in peak brain concentrations of the drug, but would produce differences in the rate of rise of drug levels.

3.1 Rapidly rising brain cocaine spikes increase incentive motivation for the drug in the future

During IntA-sessions, 5s-rats were limited to 2 cocaine injections/6-min cocaine phase (indicated by the line in **Fig. 3A**) while 90s-rats could take up to 4 injections. Under these conditions, 5s-rats and 90s-rats earned on average a very similar number of cocaine injections (**Fig. 3A**), such that cumulative drug intake was comparable between groups (Calculated as the total number of cocaine injections over the ten IntA-sessions multiplied by 0.25 mg/kg/injection; **Fig. 3B**). The inter-injection interval (the time between the end of one injection and the beginning of the next) was shorter in 5s-rats (Averaged over the 10 IntA-sessions; $t_{9,92} = 4.02$, $p = 0.003$; data not shown). Following IntA-sessions, the motivation to take cocaine was assessed under a PR schedule of reinforcement. During each PR-session, all rats had access to the same dose of cocaine, delivered at the same speed (10 s). Thus, any group differences in responding for the drug would be due to differences in drug-taking history. Under PR, the dose-response curve was shifted upwards in the 5s-rats versus 90s-rats (Main effect of Group, $F_{1,18} = 6.57$, $p = 0.02$; **Fig. 3C**). The 5s-rats also earned more cocaine than 90s-rats at all time points within the PR-tests, and at all doses tested (**Fig. 3D-F**). Thus, in spite of similar prior exposure to cocaine, rats that had taken rapid injections of the drug in the past later showed greater incentive motivation for the drug relative to rats that had taken slower injections.

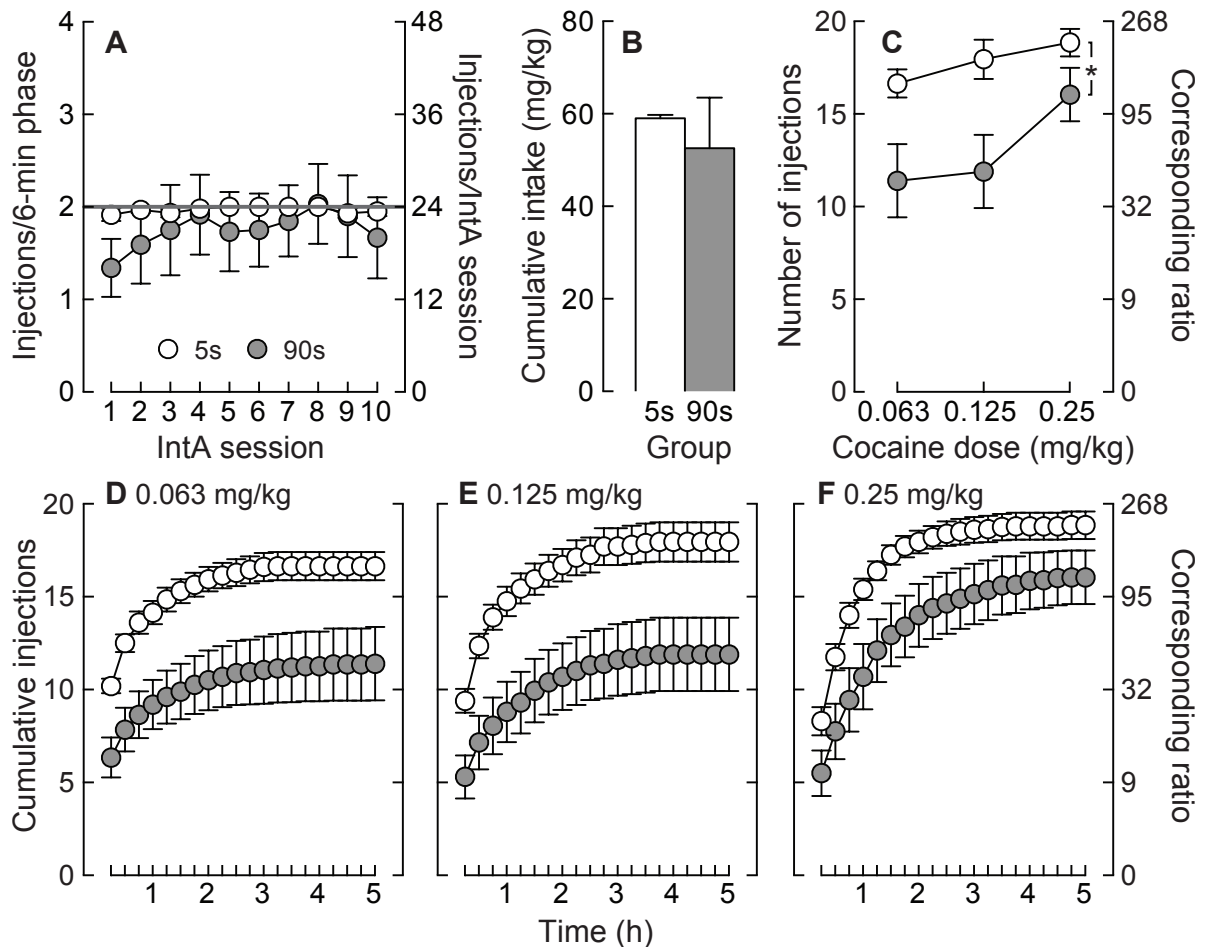


Fig. 3. Rats in the 5-s and 90-s groups took a similar average amount of cocaine during IntA-sessions, but 5s-rats subsequently showed greater incentive motivation for the drug. In (A) the left Y-axis shows the number of injections taken during each 6-min cocaine phase. The right Y-axis shows the total number of injections taken during each 6-h IntA-session. During each session, the 5s-rats could take a maximum of 2 drug injections/6-min cocaine phase (indicated by the line). (B) Cumulative drug intake was similar in 5s- and 90s-rats. (C) The number of cocaine injections (left Y-axis) taken under PR and the corresponding ratio (right Y-axis). * $p = 0.02$. (D-F) Cumulative number of cocaine injections (left Y-axis) and the corresponding ratio (right Y-axis) during each PR-test as a function of time for each dose of cocaine tested. Data are mean \pm s.e.m. $n = 10$ /group.

3.2 Rapidly rising brain cocaine spikes increase mGluR2/3 function

Self-administration of psychostimulant drugs elevates the density and function of presynaptic mGluR2/3s in corticolimbic regions (Aujla et al., 2008; Beveridge et al., 2011; Hao et al., 2010) and also enhances the ability of mGluR2/3 agonists to attenuate the motivation to take drug (Hao et al., 2010; Kim et al., 2005; Kufahl et al., 2013). If an upregulation/sensitization of mGluR2/3s truly reflects addiction-relevant plasticity, rather than simply resulting from chronic drug exposure, then 5s-rats should show increased mGluR2/3 function compared to 90s-rats. To test this hypothesis, we assessed [35 S]GTP γ S binding

induced by the mGluR2/3 agonist LY379268 in the prelimbic cortex (PrL), the nucleus accumbens (Nac) and the amygdala (AMY). This analysis was performed in the brains of the animals shown in **Fig. 3**, as well as in a saline control group run in parallel to the 5s- and 90s-rats and allowed to self-administer saline during IntA-sessions and PR-tests.

In all regions sampled, basal levels of [³⁵S]GTPγS binding were comparable across groups (One way Anova, all *P*'s > 0.05; data not shown). In the PrL and Nac, 5s-rats had greater levels of LY379268-stimulated [³⁵S]GTPγS binding than either 90s- or Sal-rats ($F_{2,27} = 4.11$; **Fig. 4A**; $F_{2,24} = 6.4$; **Fig. 4B**; followed by Bonferroni's tests, all *P*'s < 0.05). In the AMY, neither cocaine nor the speed of delivery altered LY379268-stimulated [³⁵S]GTPγS binding ($F_{2,27} = 0.09$, *p* = 0.91; **Fig. 4C**).

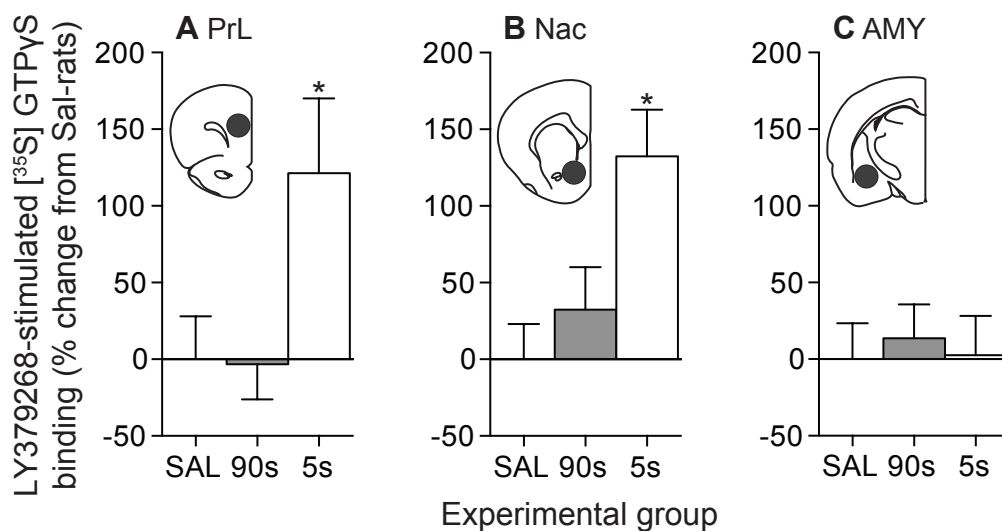


Fig. 4. Only 5s-rats showed increased functional coupling of mGluR2/3s to G_{i/o} proteins in the prelimbic cortex (PrL) and the nucleus accumbens (Nac). (A) In the PrL and (B) Nac, the mGluR2/3 agonist LY379268 evoked greater [³⁵S]GTPγS binding in the 5s-rats than in the other groups. (C) In the amygdala (AMY), there was no effect of cocaine intake or of the speed of cocaine delivery on LY379268-stimulated [³⁵S]GTPγS binding. Data are expressed as the percent change in LY379268-stimulated [³⁵S]GTPγS binding from SAL controls. **p* < 0.05, vs. 90s-rats and vs. Sal-rats. Data are mean ± s.e.m. *n* = 9-10/group.

During PR testing, 90s-rats showed greater inter-individual variability than 5s-rats in the number of self-administered injections (**Fig. 3C**). Thus, we used data from the 90s-rats to determine whether levels of motivation for cocaine could predict LY379268-stimulated

[³⁵S]GTPγS binding. There was no significant correlation between PR scores and LY379268-stimulated [³⁵S]GTPγS binding, at any cocaine dose tested, in either the PrL (0.063 mg/kg; $r^2 = 0.08$; 0.125 mg/kg; $r^2 = 0.02$; 0.25 mg/kg; $r^2 = 0.09$; all P 's > 0.05; data not shown) or the Nac (0.063 mg/kg; $r^2 = 0.006$; 0.125 mg/kg; $r^2 = 0.002$; 0.25 mg/kg; $r^2 = 0.1$; all P 's > 0.05; data not shown). Thus, an increase in agonist affinity at mGluR2/3s in either of these two brain regions alone might not be involved in the expression of increased appetitive responding for cocaine. Alternatively, circuit-level changes in mGluR2/3 function occurring simultaneously in the PrL and the NAc, and potentially other regions, might be involved.

3.3 Rapidly rising brain cocaine spikes promote psychomotor sensitization

In a new experiment, we generated additional 5s- and 90s-rats to determine the influence of the speed of cocaine injection on the development of psychomotor sensitization, and to determine whether the mGluR2/3 agonist LY379268 has different effects on the motivation to take cocaine in 5s- versus 90s-rats.

Rats were allowed to self-administer cocaine during 10 IntA-sessions, under the conditions described for Experiment 1. Rats in the 5-s group were again limited to 2 cocaine injections/6-min cocaine phase. As in experiment 1 (**Fig. 3A**), 5s-rats and 90s-rats consumed a similar average number of cocaine injections during IntA-sessions (**Fig. 5A**), and cumulative drug intake was also comparable between groups (**Fig. 5B**). However, unlike in Experiment 1, here the inter-injection interval was similar in 5s-rats and 90s-rats (Averaged over the 10 IntA-sessions; $t_{27} = 1.62$, $p = 0.12$; data not shown). The results of Experiments 1 and 2 together suggest that variation in the speed of delivery between 5 and 90 s does not reliably influence the interval between self-administered cocaine injections.

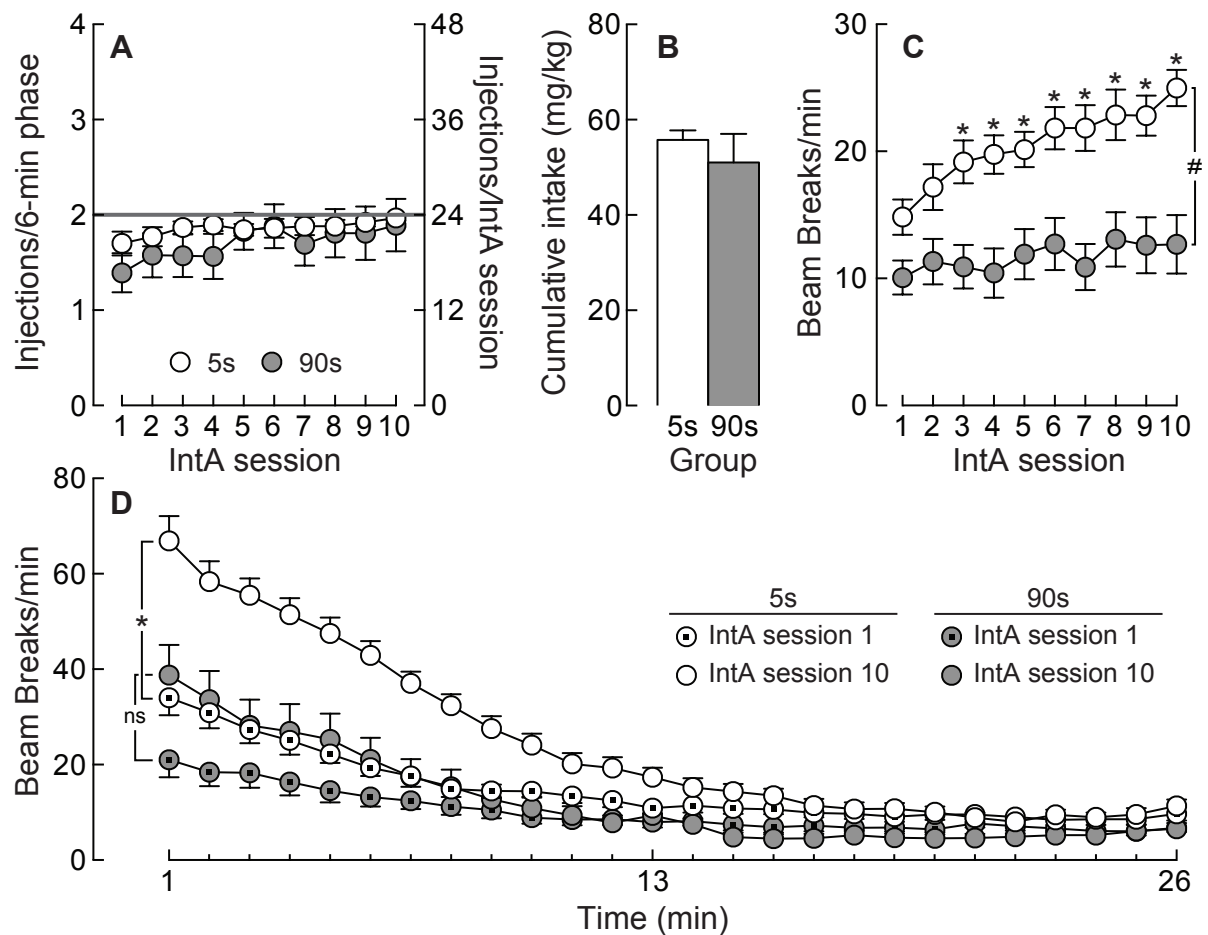


Fig. 5. The 5s- and 90s-rats took a similar average amount of cocaine during IntA-sessions, but only the 5s-rats developed robust psychomotor sensitization. In (A) the left Y-axis shows the number of injections taken during each 6-min cocaine phase. The right Y-axis shows the total number of injections taken during each 6-h IntA-session. During each session, the 5s-rats could take a maximum of 2 drug injections/6-min cocaine phase (indicated by the line). (B) Cumulative drug intake was similar in 5s- and 90s-rats. (C) Locomotor activity measured over the no-cocaines phases (see Materials and Methods) increased over IntA-sessions only in the 5s-rats. # $p < 0.05$, vs. 90s-rats on the same day and vs. 5s-rats on session 1. * $p < 0.05$. (D) Time course of locomotor activity averaged over the twelve 26-min no-cocaine phases on the first and the 10th IntA-sessions. * $p < 0.0001$. Data are mean \pm s.e.m. $n = 14-15$ /group.

Locomotion across sessions was greater in the 5s-rats than in the 90s-rats, and it increased significantly over time only in the 5s-rats (Main effect of Group, $F_{1,27} = 17.49$, $p = 0.0003$; Group x Time interaction effect, $F_{9,243} = 2.46$, $p = 0.01$; **Fig. 5C**). While the groups did not differ significantly on the 1st IntA-session, from the 3rd session on, the 5s-rats showed greater locomotion compared to both the 90s-rats and to themselves on session 1 (All P 's < 0.05 ; **Fig. 5C**). Comparing the time course of locomotor activity during the 1st versus 10th IntA-session also confirms that only the 5s-rats significantly increased their locomotion over sessions (Main effect of IntA-session; 5s-rats, $p < 0.0001$; 90s-rats, $p = 0.28$; **Fig. 5D**). Finally, in both groups,

locomotion declined significantly at the end of each 26-min no-cocaine phase (**Fig. 5D**). This suggests that brain cocaine levels are significantly reduced at this time point, further confirming that the IntA-protocol effectively produces intermittent brain cocaine spikes (Zimmer et al., 2011, 2012).

3.4 The extent of psychomotor sensitization to cocaine predicts incentive motivation for the drug

As in Experiment 1 (**Fig. 3C**), the 5s-rats self-administered more cocaine injections under PR than 90s-rats ($t_{15.56} = 2.45$, $p = 0.03$; **Fig. 6A**) and 90s-rats showed greater inter-individual variability during PR testing than 5s-rats (**Fig. 6A**). We exploited the heterogeneity in the 90s-rats to determine whether the extent of psychomotor sensitization could predict incentive motivation for cocaine.

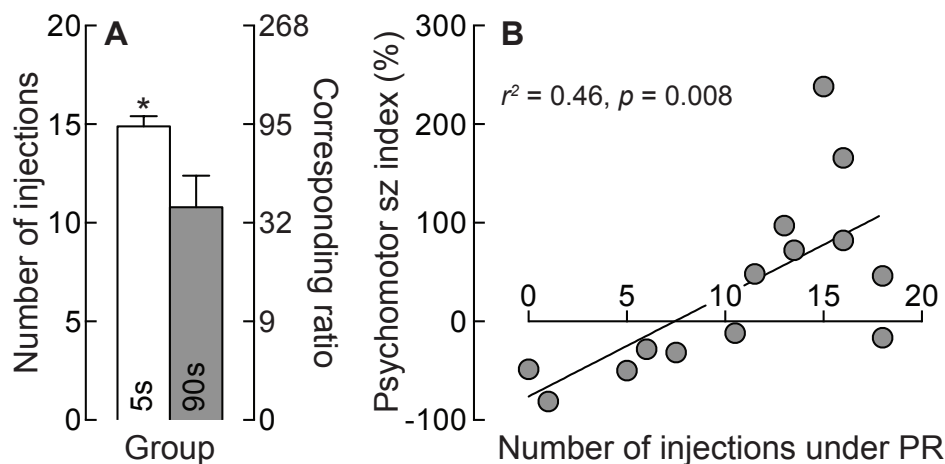


Fig. 6. More robust psychomotor sensitization predicts increased incentive motivation for cocaine. (A) 5s-rats earned more cocaine under a PR schedule of drug reinforcement than 90s-rats, indicating greater incentive motivation for the drug. * $p = 0.03$. Data are mean + s.e.m. (B) In 90s-rats, there was a significant positive correlation between the extent of psychomotor sensitization and the number of cocaine injections subsequently self-administered under PR (linear regression). The psychomotor sensitization (sz) index was calculated as the percent increase in locomotor activity/min over the no-cocaine phases from the 1st IntA-session to the 10th IntA-session. $n = 14-15$ /group.

We found that the more rats were sensitized to the psychomotor activating effects of cocaine (indicated by the percent increase in locomotion from the 1st to the 10th IntA-session), the greater their incentive motivation for the drug ($r^2 = 0.46$, $p = 0.008$; **Fig. 6B**). This supports

the idea that the brain changes that underlie sensitization to the incentive motivational effects of drugs also underlie psychomotor sensitization (De Vries et al., 1998; Lorrain et al., 2000; Robinson and Berridge, 1993).

3.5 LY379268 preferentially decreases incentive motivation for cocaine after a history of rapidly rising brain cocaine spikes

To determine the effects of LY379268 on the motivation to take cocaine in 5s- versus 90s-rats, the animals shown in **Fig. 5** and **6** were injected with LY379268 (0, 0.3, 1 and 2 mg/kg/injection) and given access to cocaine (0.125 mg/kg/injection) under a PR schedule of reinforcement 30 min later. The 0.125 mg/kg/injection dose of cocaine was chosen based on the results of Experiment 1 showing robust group differences in responding for this dose under PR (**Fig. 3C**). In both groups, LY379268 preferentially reduced active- versus inactive-lever pressing (Lever type x LY379268 dose interaction; 5s-rats, $F_{3,42} = 15.52$, $p < 0.0001$; 90s-rats, $F_{3,39} = 7$, $p = 0.0007$; **Fig. 7A**), indicating a degree of behavioral specificity in the effects of the mGluR2/3 agonist. However, at the highest dose (2 mg/kg), LY379268 impaired motor behavior (see also (Kufahl et al., 2011)). This was indicated both by a decrease in inactive-lever pressing (Bonferroni's tests; 0 vs. 2 mg/kg; 5s-rats, $p = 0.001$; 90s-rats, $p = 0.02$; no other comparisons were significant; **Fig. 7A**) and by observation that the animals' gait and motility were compromised after receiving 2 mg/kg LY379268. Thus, we excluded the 2 mg/kg LY379268 dose from further analyses. At doses devoid of significant motor effects (< 2 mg/kg), LY379268 was more effective in suppressing active-lever pressing in 5s-rats than in 90s-rats (Group x LY379268 dose interaction effect, $F_{2,54} = 3.8$, $p = 0.03$; **Fig. 7A**).

As mentioned above, the 90s-rats were heterogeneous in their baseline levels of incentive motivation for cocaine (**Fig. 6**). We took advantage of this heterogeneity to determine whether mGluR2/3 activation was more effective in decreasing high versus low levels of motivation for cocaine. To assess this, we divided the 90s-rats into high (90s-HR) and low responders (90s-LR), based on whether the number of cocaine injections taken during PR testing (at 0 mg/kg

LY379268) was above or below the group average (10.79 ± 1.6 SEM). Just like the 5s-rats, the 90s-HR earned a high number of cocaine injections (0 mg/kg LY379268; **Fig. 7B**), and the two groups were also similar in their response to LY379268 (**Fig. 7B**).

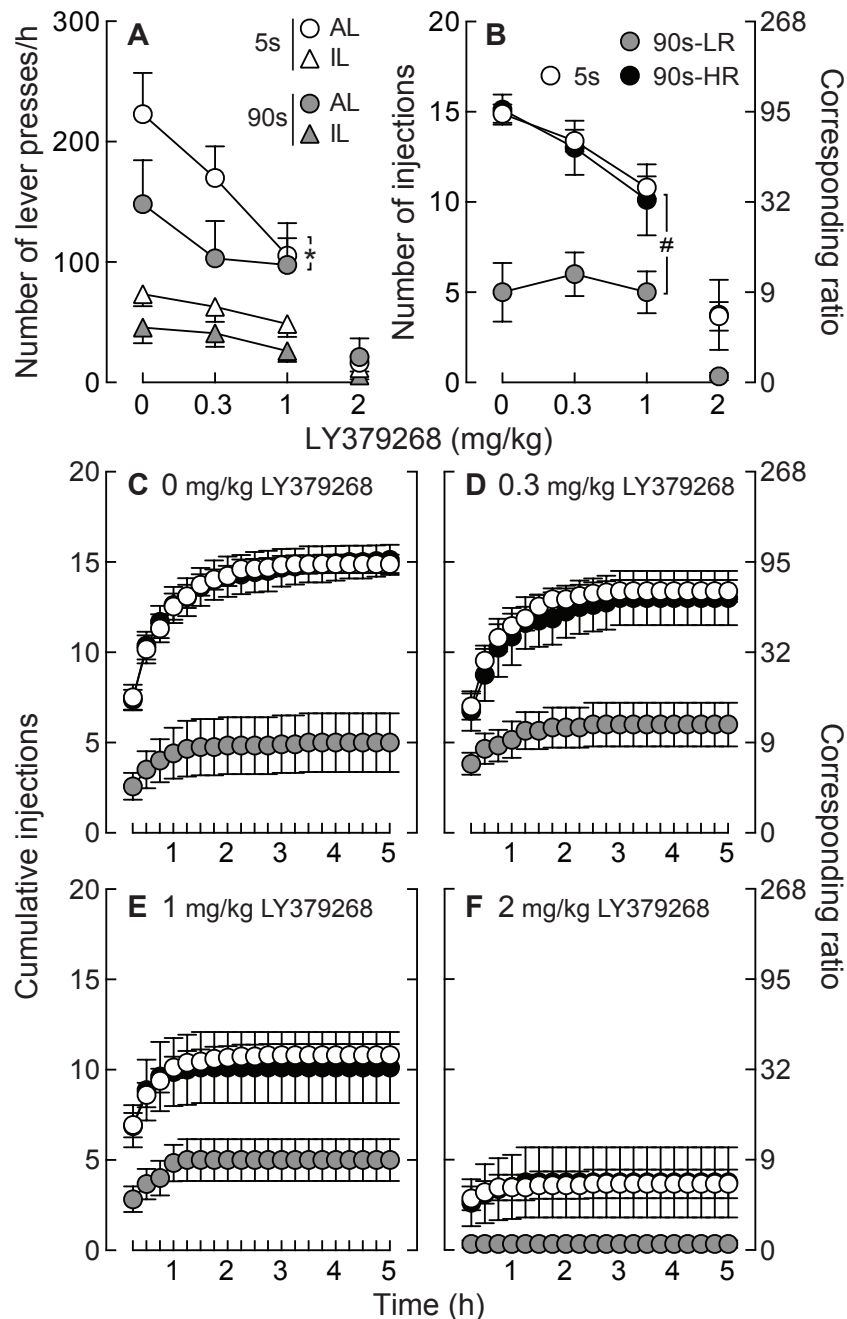


Fig. 7. LY379268 preferentially attenuated incentive motivation for cocaine when this motivation was high. (A) In both 5s- and 90s-rats, LY379268 preferentially decreased pressing on the active lever (AL, circle symbols) as compared to the inactive lever (IL, triangle symbols) during PR testing. LY379268 was more effective in suppressing active-lever pressing in 5s-rats than in 90s-rats; * $p = 0.03$. (B-F) The 90s-rats were divided into high (90s-HR, $n = 8$) and low (90s-LR, $n = 6$) responders based on whether their baseline motivation for cocaine was above or below the group average, respectively. (B) Administering LY379268 prior to PR testing decreased the number of self-administered cocaine injections to a similar extent in 5s- and 90s-HR rats, but it was ineffective in 90s-LR rats. # $p < 0.05$, 5s-rats and 90s-HR rats versus 90s-LR rats. (C-F) Cumulative number of cocaine injections (left Y-axis) and corresponding ratio (right Y-axis) during each PR-test as a function of time, for each dose of LY379268 tested. Data are mean \pm s.e.m. $n = 14-15$ for 5s- and 90s- groups. $n = 6-8$ for 90s-LR and HR groups.

LY379268 dose-dependently decreased the number of self-administered cocaine injections under PR only in 5s-rats and in 90s-HR rats, and did so to a similar degree (Overall Group x LY379268 dose interaction, $F_{4, 52} = 3.23$; 5s-rats versus 90s-LR rats, $F_{2, 38} = 5.97$; 90s-HR rats versus 90s-LR rats, $F_{2, 24} = 3.95$; All P 's < 0.05; **Fig. 7B**). Inspection of the influence of LY379268 on the cumulative number of cocaine injections during the PR-tests further confirms this effect (**Fig. 7C-F**). Thus, activation of mGluR2/3s preferentially decreases the motivation to take cocaine when this motivation is high.

4. Discussion

We show that independent of any effect on the amount of cocaine taken, variation in the speed of cocaine injection in the past determines incentive motivation for the drug in the future. Animals self-administering either rapid (5 s) or slower (90 s) i.v. injections of cocaine during IntA-sessions took on average a very similar number of injections (**Fig. 3A** and **5A**), leading to equivalent cumulative drug intake (**Fig. 3B** and **5B**). Estimating brain cocaine levels using a mathematical model (Pan et al., 1991) suggested that intermittent access to cocaine injections delivered over 5 or 90 s would produce repeated 'spikes' in brain concentrations of the drug [**Fig. 2A**; see also (Zimmer et al., 2011, 2012)]. In addition, as would be predicted, injecting cocaine i.v. over 5 s versus 90 s would allow brain levels of the drug to rise faster (**Fig. 2B**). Our behavioral findings show that a history of rapidly-rising cocaine spikes (achieved with 5-s injections) leads to greater operant pursuit of the drug in the future (**Fig. 3C** and **6A**). These results contribute to an emerging literature on the importance of intermittent spikes in brain cocaine levels in producing addiction-like behavior in animal models. For instance, when compared to continuously high brain levels of cocaine, intermittently spiking levels promote an increased motivation to take cocaine in the future [(Zimmer et al., 2012) see also (Kawa et al., 2016)]. The present findings complement this work by showing that when intermittent cocaine spikes are achieved, rapidly-rising drug levels are most effective in producing increased cocaine wanting.

We modeled brain cocaine concentrations and this suggested that injecting cocaine i.v. over 5 or 90 s would not produce large effects on maximal brain levels of the drug, but would vary the rate of cocaine entry into the brain. This is consistent with previous estimates of brain cocaine levels following a single i.v. injection of the drug delivered between 5 and 100 s (Samaha et al., 2002). Both sets of findings were obtained using the same mathematical model (Pan et al., 1991). Estimates of brain cocaine levels using this model also correlate remarkably with cocaine-evoked dopamine levels in the striatum (Shou et al., 2006; Wise et al., 1995) and locomotor activity (Shou et al., 2006). We modeled but did not directly measure the effects of the speed of cocaine injection on the temporal kinetics of cocaine in the brain. However, there are additional reasons to believe that varying the speed of i.v. cocaine delivery over this range would not evoke large differences in peak brain levels of the drug. First, brain cocaine and dopamine levels are tightly coupled (Hurd et al., 1988; Nicolaysen et al., 1988), and injecting cocaine i.v. over 5 or 100 seconds does not change peak or total drug-induced dopamine overflow in the striatum, but it does influence the rate of rise of extracellular dopamine levels (Ferrario et al., 2008). Second, there is no difference in cocaine self-administration behavior between 5s- and 90s-rats given continuous drug access during short daily sessions, suggesting that similar amounts of drug are reaching the brain [(Crombag et al., 2008; Minogianis et al., 2013; Wakabayashi et al., 2010); although group differences in self-administration behavior can develop with more extensive drug-taking experience (Bouayad-Gervais et al., 2014)]. This suggests that the effects of varying the speed of i.v. cocaine delivery that we report here are likely not just secondary to achieved dose. However, varying the speed of i.v. drug delivery would influence the rate of rise of cocaine levels in the brain (**Fig. 2B**). This could change the temporal kinetics with which *i*) the drug occupies monoamine receptors, *ii*) monoamines accumulate in the synapse, and *iii*) monoamine receptors are stimulated (Samaha et al., 2002). The implication is that the temporal dynamics of drug delivery are critical in triggering the forms of neuroplasticity that lead to increased drug wanting.

All rats exposed to rapid cocaine spikes developed a high motivation for the drug, but there was much variability between rats exposed to slower drug spikes (**Fig. 3C** and **6A**). This suggests that while rapid cocaine onset very efficiently sets the stage for pathological drug use, slow cocaine onset enables neurobiological changes that function to restrain cocaine use, at least in some subjects. We do not know why slow cocaine delivery promotes inter-individual variability in appetitive responding for the drug. This is the first published report using rats that self-administer slow i.v. injections of cocaine using an intermittent-access procedure – a very recently developed procedure in itself (Zimmer et al., 2011, 2012). However, when drug access is continuous during self-administration sessions, 5s- and 90s-rats show similar inter-individual variability in their subsequent motivation to take cocaine, with 90s-rats responding less for the drug overall (Bouayad-Gervais et al., 2014; Minogianis et al., 2013). This suggests that slow onset cocaine interacts with intermittent drug use to produce increased motivation for the drug in some subjects but not in others. Further studies can determine the neurobiology underlying this interaction.

Relative to slow-rising cocaine spikes, fast-rising cocaine spikes promoted robust psychomotor sensitization. This extends previous work showing that when rats passively receive i.v. injections of cocaine or nicotine, rapid injections more readily evoke psychomotor sensitization (Samaha et al., 2002, 2004, 2005; Samaha and Robinson, 2005). It is thought that sensitization-related changes in the brain are fundamental to the development and persistence of addiction (Ferrario et al., 2005; Robinson and Berridge, 1993). For instance, animals given sensitizing regimens of cocaine or amphetamine later show enhanced incentive motivation for these drugs (Covington and Miczek, 2001; Lorrain et al., 2000; Mendrek et al., 1998). However, much of the sensitization literature involves experimenter-administered drug. It has been difficult to demonstrate psychomotor sensitization in animals that voluntarily self-administer drug [(Ahmed and Cador, 2006; Ben-Shahar et al., 2004; Knackstedt and Kalivas, 2007) but see (Ferrario et al., 2005)]. This has led to questions about the role of sensitization-related neuroplasticity in addiction (Vanderschuren and Pierce, 2010). Importantly, intermittent

drug exposure is key to produce psychomotor sensitization, but this is not generally modeled in self-administration paradigms (Ahmed, 2012). By using an intermittent-access self-administration procedure (Zimmer et al., 2011), our data bridge the gap between the sensitization and self-administration literatures and show that voluntarily taking rapid cocaine injections produces marked psychomotor sensitization, even when total drug intake is much lower than that achieved by more common continuous-access self-administration procedures (Ahmed and Koob, 1998). The present results represent one of the clearest links that can be established between psychomotor and incentive sensitization.

Here, animals given intermittent access to rapidly delivered cocaine showed marked sensitization to the psychomotor and incentive motivational effects of cocaine. Is this phenotype driven by a rapid drug onset or intermittent drug intake? Our findings and the literature suggest that it is likely an interaction between the two variables. First, animals in cocaine self-administration studies are generally given continuous access to rapid injections of the drug (1-10 s). However, as mentioned above, many studies have not found that this leads to psychomotor sensitization (Ahmed and Cador, 2006; Ben-Shahar et al., 2004; Knackstedt and Kalivas, 2007). This suggests that taking cocaine continuously during self-administration sessions does not favor sensitization-related plasticity – even if animals are taking rapidly delivered drug injections. Accordingly, Calipari et al. (2013) show that when rats are given continuous access to rapid cocaine injections, this produces tolerance rather than sensitization to the drug's effects at the dopamine transporter. Second, if two groups of rats self-administer rapid cocaine injections, rats given intermittent drug access develop sensitization to the incentive motivational effects of the drug compared to rats given continuous access (Zimmer et al., 2012). Thus, the combination of a rapid drug onset and intermittent drug intake might be needed to invoke sensitization-related neuroadaptations. Our findings add additional support to this idea. Both the 5s- and 90s-rats took cocaine intermittently, but only the 5s-rats developed sensitization to the psychomotor and incentive motivational properties of the drug. This further agrees with the findings of Calipari et al. (2013), showing that

intermittent intake of rapidly delivered cocaine promotes sensitization to the drug's effects at the dopamine transporter. It appears, therefore, that the speed and intermittency of cocaine intake interact to determine whether sensitization will occur.

The speed of delivery determined both cocaine's effects on mGluR2/3s and the behavioral response to a mGluR2/3 agonist. Cocaine addiction is thought to involve disturbed glutamate homeostasis (Kalivas, 2009) and presynaptic mGluR2/3s contribute to this homeostasis by providing negative feedback to glutamate neurons (Niswender and Conn, 2010). We found that repeated cocaine intake increased mGluR2/3-mediated $G_{i/o}$ protein activity in the prelimbic cortex and nucleus accumbens *only* if the drug was delivered rapidly. In agreement with this, the self-administration of rapid i.v. cocaine injections increases mGluR2/3 function in corticolimbic regions (Aujla et al., 2008; Beveridge et al., 2011; Hao et al., 2010; and present findings), but intraperitoneal injections of cocaine decrease mGluR2/3 function in the same regions (Xi et al., 2002b). This could be because of the use of voluntary versus passive drug intake, but also because an i.v. injection delivers drug to the brain much more rapidly than an intraperitoneal injection. We saw no cocaine-induced change in mGluR2/3-mediated $G_{i/o}$ protein activity in the amygdala, and an increase in the nucleus accumbens with rapid injections. In contrast, Hao et al. (2010) report that continuous access to rapid cocaine injections during daily 6-h sessions increases mGluR2/3-mediated $G_{i/o}$ protein activity in the central amygdala, with no change in the nucleus accumbens. Assessing the amygdala as a whole could have prevented us from detecting changes restricted to specific nuclei. It is also possible that continuous versus IntA-sessions recruit different brain circuitry. Nonetheless, our data show that taking high and escalating amounts of cocaine is not necessary to alter mGluR2/3 function.

The mGluR2/3 agonist LY379268 preferentially decreased the motivation to take cocaine in rats that showed increased cocaine wanting (5s- and 90s-HR rats). This could involve the ability of mGluR2/3 activation to attenuate glutamate release from corticostriatal terminals

(Lovinger and McCool, 1995; Moghaddam and Adams, 1998; Xi et al., 2002a). Indeed, inhibition of prelimbic inputs to the nucleus accumbens reduces both cocaine-induced glutamate release in the accumbens (McFarland et al., 2003) and cocaine seeking behavior (Chen et al., 2013; Stefanik et al., 2013).

Activating mGluR2/3s attenuates drug taking by reducing synaptic glutamate release. Given this, it might be surprising that an increase in mGluR2/3 function co-exists with increased incentive motivation for cocaine in the 5s-rats. However, the literature suggests that while drug-exposed animals have upregulated mGluR2/3s, there is diminished glutamatergic tone on these receptors. Normally, mGluR2/3s are activated by non-synaptic glutamate released from the glial cystine-glutamate exchanger (Barbour, 2001; Haydon, 2001; Warr et al., 1999; Xi et al., 2002a). Activation of mGluR2/3s in turn inhibits synaptically-released glutamate (Warr et al., 1999). Repeated cocaine intake can downregulate the cystine-glutamate exchanger in brain areas such as the striatum, thus reducing glutamatergic tone on inhibitory mGluR2/3s (Baker et al., 2002a, 2003; Madayag et al., 2007). The intake of rapid cocaine injections could promote these changes and thereby favour upregulation of mGluR2/3s. Consequently, administering LY379268 to the 5s-rats would be especially effective in increasing signalling mediated by mGluR2/3s, thus restoring negative feedback on vesicular glutamate release, and suppressing the pursuit of cocaine. Future work can determine whether the ability of rapid cocaine spikes to increase mGluR2/3 function involves downregulation of the glial cystine-glutamate antiporter and/or glutamate transporter 1 (Kalivas, 2009), either of which would decrease glutamatergic tone on mGluR2/3s and promote receptor upregulation/sensitization.

5. Conclusions

In summary, we found that in spite of similar drug intake, the self-administration of rapid cocaine injections produced more robust psychomotor sensitization and enhanced incentive motivation for cocaine compared to the self-administration of slower injections. This provided a unique window of opportunity to hone in on a fundamental question in addiction research;

what is the difference between a drug-taking brain and a drug-addicted brain? Within this context, we found that the augmented pursuit of cocaine was linked to enhanced function of mGluR2/3s in the prelimbic cortex and in the nucleus accumbens, the activation of which with a potent agonist attenuated excessive appetitive responding for cocaine. The present findings contribute to growing evidence that the temporal kinetics of drug exposure determine drug-induced neuroplasticity that is relevant to addiction (Allain et al., 2015; Samaha and Robinson, 2005; Zimmer et al., 2012). We would then predict that brain changes seen preferentially in rats achieving intermittent and fast-rising cocaine spikes reflect plasticity specific to addiction. Thus, varying the speed of i.v. drug delivery during intermittent drug intake emerges as a powerful tool to parse the neurobiology of cocaine addiction from that of non-disordered cocaine taking.

Acknowledgments

We are thankful to Dr. Bruce T. Hope for advice on dissection of brain tissue. The authors declare no competing financial interests.

Funding

ANS is supported by a salary grant from the Fonds de Recherche du Québec – Santé (Grant No. 28988). FA is supported by a PhD fellowship from the Groupe de Recherche sur le Système Nerveux Central. This research was supported by grants to ANS from the Canadian Foundation for Innovation (Grant No. 24326) and the Canadian Institutes of Health Research (Grant No. 157572).

RÉFÉRENCES CHAPITRE II

- Abreu M. E., Bigelow G. E., Fleisher L., Walsh S. L. (2001) Effect of intravenous injection speed on responses to cocaine and hydromorphone in humans. *Psychopharmacology* 154: 76-84.
- Adewale A. S., Platt D. M., Spealman R. D. (2006) Pharmacological stimulation of group ii metabotropic glutamate receptors reduces cocaine self-administration and cocaine-induced reinstatement of drug seeking in squirrel monkeys. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 318: 922-931.
- Ahmed S. H. (2010) Validation crisis in animal models of drug addiction: beyond non-disordered drug use toward drug addiction. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 35: 172-184.
- Ahmed S. H. (2012) The science of making drug-addicted animals. *Neuroscience* 211: 107-125.
- Ahmed S. H., Cador M. (2006) Dissociation of psychomotor sensitization from compulsive cocaine consumption. *Neuropsychopharmacology* 31: 563-571.
- Ahmed S. H., Koob G. F. (1998) Transition from moderate to excessive drug intake: change in hedonic set point. *Science* 282: 298-300.
- Allain F., Minogianis E. A., Roberts D. C., Samaha A. N. (2015) How fast and how often: The pharmacokinetics of drug use are decisive in addiction. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 56: 166-179.
- APA (2013) *DSM V Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* American Psychiatric Association.
- Aujla H., Martin-Fardon R., Weiss F. (2008) Rats with extended access to cocaine exhibit increased stress reactivity and sensitivity to the anxiolytic-like effects of the mGluR 2/3 agonist LY379268 during abstinence. *Neuropsychopharmacology* 33: 1818-1826.
- Baker D. A., McFarland K., Lake R. W., Shen H., Tang X. C., Toda S., Kalivas P. W. (2003) Neuroadaptations in cystine-glutamate exchange underlie cocaine relapse. *Nature Neuroscience* 6: 743-749.
- Baker D. A., Shen H., Kalivas P. W. (2002a) Cystine/glutamate exchange serves as the source for extracellular glutamate: modifications by repeated cocaine administration. *Amino Acids* 23: 161-162.

- Baker D. A., Xi Z. X., Shen H., Swanson C. J., Kalivas P. W. (2002b) The origin and neuronal function of in vivo nonsynaptic glutamate. *Journal of Neuroscience* 22: 9134-9141.
- Baptista M. A., Martin-Fardon R., Weiss F. (2004) Preferential effects of the metabotropic glutamate 2/3 receptor agonist LY379268 on conditioned reinstatement versus primary reinforcement: comparison between cocaine and a potent conventional reinforcer. *Journal of Neuroscience* 24: 4723-4727.
- Baptista M. A., Martin-Fardon R., Weiss F. (2005) Effects of LY379268, an mGlu2/3 agonist, on cocaine self-administration and cocaine prime-induced cocaine seeking behavior in cocaine-escalated versus nonescalated rats (on-line). Society for Neuroscience Abstract, Program 5613, Society for Neuroscience, Washington, DC.
- Barbour B. (2001) An evaluation of synapse independence. *Journal of Neuroscience* 21: 7969-7984.
- Ben-Shahar O., Ahmed S. H., Koob G. F., Ettenberg A. (2004) The transition from controlled to compulsive drug use is associated with a loss of sensitization. *Brain Research* 995: 46-54.
- Beveridge T. J., Smith H. R., Nader M. A., Porrino L. J. (2011) Group II metabotropic glutamate receptors in the striatum of non-human primates: dysregulation following chronic cocaine self-administration. *Neuroscience Letters* 496: 15-19.
- Beveridge T. J. R., Wray P., Brewer A., Shapiro B., Mahoney J. J., Newton T. F. (2012) Analyzing human cocaine use patterns to inform animal addiction model development. Published abstract for the College on Problems of Drug Dependence Annual Meeting, Palm Springs, CA.
- Bond A., Jones N. M., Hicks C. A., Whiffin G. M., Ward M. A., O'Neill M. F., Kingston A. E., Monn J. A., Ornstein P. L., Schoepp D. D., Lodge D., O'Neill M. J. (2000) Neuroprotective effects of LY379268, a selective mGlu2/3 receptor agonist: investigations into possible mechanism of action in vivo. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 294: 800-809.
- Bongiovanni M., See R. E. (2008) A comparison of the effects of different operant training experiences and dietary restriction on the reinstatement of cocaine-seeking in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 89: 227-233.
- Bouayad-Gervais K., Minogianis E. A., Levesque D., Samaha A. N. (2014) The self-administration of rapidly delivered cocaine promotes increased motivation to take the drug: contributions of prior levels of operant responding and cocaine intake. *Psychopharmacology* 231: 4241-4252.

- Calipari E. S., Ferris M. J., Zimmer B. A., Roberts D. C., Jones S. R. (2013) Temporal pattern of cocaine intake determines tolerance vs sensitization of cocaine effects at the dopamine transporter. *Neuropsychopharmacology* 38: 2385-2392.
- Chen B. T., Yau H. J., Hatch C., Kusumoto-Yoshida I., Cho S. L., Hopf F. W., Bonci A. (2013) Rescuing cocaine-induced prefrontal cortex hypoactivity prevents compulsive cocaine seeking. *Nature* 496: 359-362.
- Conn P. J., Pin J. P. (1997) Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 37: 205-237.
- Covington H. E., 3rd, Miczek K. A. (2001) Repeated social-defeat stress, cocaine or morphine. Effects on behavioral sensitization and intravenous cocaine self-administration "binges". *Psychopharmacology* 158: 388-398.
- Crawford J. T., Roberts D. C., Beveridge T. J. (2013) The group II metabotropic glutamate receptor agonist, LY379268, decreases methamphetamine self-administration in rats. *Drug and Alcohol Dependence* 132: 414-419.
- Crombag H. S., Ferrario C. R., Robinson T. E. (2008) The rate of intravenous cocaine or amphetamine delivery does not influence drug-taking and drug-seeking behavior in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 90: 797-804.
- De Vries T. J., Schoffelmeer A. N., Binnekade R., Mulder A. H., Vanderschuren L. J. (1998) Drug-induced reinstatement of heroin- and cocaine-seeking behaviour following long-term extinction is associated with expression of behavioural sensitization. *European Journal of Neuroscience* 10: 3565-3571.
- Ferrario C. R., Gorny G., Crombag H. S., Li Y., Kolb B., Robinson T. E. (2005) Neural and behavioral plasticity associated with the transition from controlled to escalated cocaine use. *Biological Psychiatry* 58: 751-759.
- Ferrario C. R., Shou M., Samaha A. N., Watson C. J., Kennedy R. T., Robinson T. E. (2008) The rate of intravenous cocaine administration alters c-fos mRNA expression and the temporal dynamics of dopamine, but not glutamate, overflow in the striatum. *Brain Research* 1209: 151-156.
- Figueroa-Guzman Y., Mueller C., Vranjkovic O., Wisniewski S., Yang Z., Li S. J., Bohr C., Graf E. N., Baker D. A., Mantsch J. R. (2011) Oral administration of levotetrahydropalmatine attenuates reinstatement of extinguished cocaine seeking by cocaine, stress or drug-associated cues in rats. *Drug and Alcohol Dependence* 116: 72-79.
- Gossop M., Griffiths P., Powis B., Strang J. (1994) Cocaine: patterns of use, route of administration, and severity of dependence. *British Journal of Psychiatry* 164: 660-664.

- Hao Y., Martin-Fardon R., Weiss F. (2010) Behavioral and functional evidence of metabotropic glutamate receptor 2/3 and metabotropic glutamate receptor 5 dysregulation in cocaine-escalated rats: factor in the transition to dependence. *Biological Psychiatry* 68: 240-248.
- Hatsukami D. K., Fischman M. W. (1996) Crack cocaine and cocaine hydrochloride. Are the differences myth or reality? *JAMA* 276: 1580-1588.
- Haydon P. G. (2001) GLIA: listening and talking to the synapse. *Nature Reviews: Neuroscience* 2: 185-193.
- Henningfield J. E., Keenan R. M. (1993) Nicotine delivery kinetics and abuse liability. *Journal of Consulting and Clinical Psychology* 61: 743-750.
- Hurd Y. L., Kehr J., Ungerstedt U. (1988) In vivo microdialysis as a technique to monitor drug transport: correlation of extracellular cocaine levels and dopamine overflow in the rat brain. *Journal of Neurochemistry* 51: 1314-1316.
- Imre G., Salomons A., Jongsma M., Fokkema D. S., Den Boer J. A., Ter Horst G. J. (2006) Effects of the mGluR2/3 agonist LY379268 on ketamine-evoked behaviours and neurochemical changes in the dentate gyrus of the rat. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 84: 392-399.
- Jones R. T. (1984) The pharmacology of cocaine. *NIDA Research Monograph* 50: 34-53.
- Kalivas P. W. (2009) The glutamate homeostasis hypothesis of addiction. *Nature Reviews: Neuroscience* 10: 561-572.
- Kalivas P. W., Volkow N., Seamans J. (2005) Unmanageable motivation in addiction: a pathology in prefrontal-accumbens glutamate transmission. *Neuron* 45: 647-650.
- Kawa A. B., Bentzley B. S., Robinson T. E. (2016) Less is more: prolonged intermittent access cocaine self-administration produces incentive-sensitization and addiction-like behavior. *Psychopharmacology* 233: 3587-3602.
- Kim J. H., Austin J. D., Tanabe L., Creekmore E., Vezina P. (2005) Activation of group II mGlu receptors blocks the enhanced drug taking induced by previous exposure to amphetamine. *European Journal of Neuroscience* 21: 295-300.
- Knackstedt L. A., Kalivas P. W. (2007) Extended access to cocaine self-administration enhances drug-primed reinstatement but not behavioral sensitization. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 322: 1103-1109.

- Kufahl P. R., Martin-Fardon R., Weiss F. (2011) Enhanced sensitivity to attenuation of conditioned reinstatement by the mGluR 2/3 agonist LY379268 and increased functional activity of mGluR 2/3 in rats with a history of ethanol dependence. *Neuropsychopharmacology* 36: 2762-2773.
- Kufahl P. R., Watterson L. R., Nemirovsky N. E., Hood L. E., Villa A., Halstengard C., Zautra N., Olive M. F. (2013) Attenuation of methamphetamine seeking by the mGluR2/3 agonist LY379268 in rats with histories of restricted and escalated self-administration. *Neuropharmacology* 66: 290-301.
- Liu Y., Roberts D. C., Morgan D. (2005) Sensitization of the reinforcing effects of self-administered cocaine in rats: effects of dose and intravenous injection speed. *European Journal of Neuroscience* 22: 195-200.
- Lorrain D. S., Arnold G. M., Vezina P. (2000) Previous exposure to amphetamine increases incentive to obtain the drug: long-lasting effects revealed by the progressive ratio schedule. *Behavioural Brain Research* 107: 9-19.
- Lovinger D. M., McCool B. A. (1995) Metabotropic glutamate receptor-mediated presynaptic depression at corticostriatal synapses involves mGluR2 or 3. *Journal of Neurophysiology* 73: 1076-1083.
- Madayag A., Lobner D., Kau K. S., Mantsch J. R., Abdulhameed O., Hearing M., Grier M. D., Baker D. A. (2007) Repeated N-acetylcysteine administration alters plasticity-dependent effects of cocaine. *Journal of Neuroscience* 27: 13968-13976.
- 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. *Journal of Neuroscience* 23: 3531-3537.
- Mendrek A., Blaha C. D., Phillips A. G. (1998) Pre-exposure of rats to amphetamine sensitizes self-administration of this drug under a progressive ratio schedule. *Psychopharmacology* 135: 416-422.
- Minogianis E. A., Levesque D., Samaha A. N. (2013) The speed of cocaine delivery determines the subsequent motivation to self-administer the drug. *Neuropsychopharmacology* 38: 2644-2656.
- Moghaddam B., Adams B. W. (1998) Reversal of phencyclidine effects by a group II metabotropic glutamate receptor agonist in rats. *Science* 281: 1349-1352.
- Moran M. M., McFarland K., Melendez R. I., Kalivas P. W., Seamans J. K. (2005) Cystine/glutamate exchange regulates metabotropic glutamate receptor presynaptic inhibition of excitatory transmission and vulnerability to cocaine seeking. *Journal of Neuroscience* 25: 6389-6393.

- Nicola S. M., Deadwyler S. A. (2000) Firing rate of nucleus accumbens neurons is dopamine-dependent and reflects the timing of cocaine-seeking behavior in rats on a progressive ratio schedule of reinforcement. *Journal of Neuroscience* 20: 5526-5537.
- Nicolaysen L. C., Pan H. T., Justice J. B., Jr. (1988) Extracellular cocaine and dopamine concentrations are linearly related in rat striatum. *Brain Research* 456: 317-323.
- Niswender C. M., Conn P. J. (2010) Metabotropic glutamate receptors: physiology, pharmacology, and disease. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 50: 295-322.
- Pan H. T., Menacherry S., Justice J. B., Jr. (1991) Differences in the pharmacokinetics of cocaine in naive and cocaine-experienced rats. *Journal of Neurochemistry* 56: 1299-1306.
- Paxinos G., Watson C. (1986) *The rat brain in stereotaxic coordinates*, 2nd edn. Academic: New York, NY, USA.
- Pendyam S., Mohan A., Kalivas P. W., Nair S. S. (2009) Computational model of extracellular glutamate in the nucleus accumbens incorporates neuroadaptations by chronic cocaine. *Neuroscience* 158: 1266-1276.
- Pitchers K. K., Wood T. R., Skrzynski C. J., Robinson T. E., Sarter M. (2017) The ability for cocaine and cocaine-associated cues to compete for attention. *Behavioural Brain Research* 320: 302-315.
- Porrino L. J. (1993) Functional consequences of acute cocaine treatment depend on route of administration. *Psychopharmacology* 112: 343-351.
- Richardson N. R., Roberts D. C. (1996) Progressive ratio schedules in drug self-administration studies in rats: a method to evaluate reinforcing efficacy. *Journal of Neuroscience Methods* 66: 1-11.
- Roberts D. C., Morgan D., Liu Y. (2007) How to make a rat addicted to cocaine. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 31: 1614-1624.
- Robinson T. E., Berridge K. C. (1993) The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Research: Brain Research Reviews* 18: 247-291.
- Samaha A. N., Li Y., Robinson T. E. (2002) The rate of intravenous cocaine administration determines susceptibility to sensitization. *Journal of Neuroscience* 22: 3244-3250.

- Samaha A. N., Mallet N., Ferguson S. M., Gonon F., Robinson T. E. (2004) The rate of cocaine administration alters gene regulation and behavioral plasticity: implications for addiction. *Journal of Neuroscience* 24: 6362-6370.
- Samaha A. N., Minogianis E. A., Nachar W. (2011) Cues paired with either rapid or slower self-administered cocaine injections acquire similar conditioned rewarding properties. *PLoS One* 6: e26481.
- Samaha A. N., Robinson T. E. (2005) Why does the rapid delivery of drugs to the brain promote addiction? *Trends in Pharmacological Sciences* 26: 82-87.
- Samaha A. N., Yau W. Y., Yang P., Robinson T. E. (2005) Rapid delivery of nicotine promotes behavioral sensitization and alters its neurobiological impact. *Biological Psychiatry* 57: 351-360.
- Schoepp D. D., Jane D. E., Monn J. A. (1999) Pharmacological agents acting at subtypes of metabotropic glutamate receptors. *Neuropharmacology* 38: 1431-1476.
- Shou M., Ferrario C. R., Schultz K. N., Robinson T. E., Kennedy R. T. (2006) Monitoring dopamine in vivo by microdialysis sampling and on-line CE-laser-induced fluorescence. *Analytical Chemistry* 78: 6717-6725.
- Stefanik M. T., Moussawi K., Kupchik Y. M., Smith K. C., Miller R. L., Huff M. L., Deisseroth K., Kalivas P. W., LaLumiere R. T. (2013) Optogenetic inhibition of cocaine seeking in rats. *Addiction Biology* 18: 50-53.
- Vanderschuren L. J., Pierce R. C. (2010) Sensitization processes in drug addiction. *Current Topics in Behavioral Neurosciences* 3: 179-195.
- Wakabayashi K. T., Weiss M. J., Pickup K. N., Robinson T. E. (2010) Rats markedly escalate their intake and show a persistent susceptibility to reinstatement only when cocaine is injected rapidly. *Journal of Neuroscience* 30: 11346-11355.
- Warr O., Takahashi M., Attwell D. (1999) Modulation of extracellular glutamate concentration in rat brain slices by cystine-glutamate exchange. *Journal of Physiology* 514 (Pt 3): 783-793.
- Wightman R., Perrone J., Portelli I., Nelson L. (2012) Likeability and abuse liability of commonly prescribed opioids. *Journal of Medical Toxicology* 8: 335-340.
- Wise R. A., Newton P., Leeb K., Burnette B., Pocock D., Justice J. B., Jr. (1995) Fluctuations in nucleus accumbens dopamine concentration during intravenous cocaine self-administration in rats. *Psychopharmacology* 120: 10-20.

- Xi Z. X., Baker D. A., Shen H., Carson D. S., Kalivas P. W. (2002a) Group II metabotropic glutamate receptors modulate extracellular glutamate in the nucleus accumbens. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 300: 162-171.
- Xi Z. X., Ramamoorthy S., Baker D. A., Shen H., Samuvel D. J., Kalivas P. W. (2002b) Modulation of group II metabotropic glutamate receptor signaling by chronic cocaine. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 303: 608-615.
- Zernig G., Giacomuzzi S., Riemer Y., Wakonigg G., Sturm K., Saria A. (2003) Intravenous drug injection habits: drug users' self-reports versus researchers' perception. *Pharmacology* 68: 49-56.
- Zimmer B. A., Dobrin C. V., Roberts D. C. (2011) Brain-cocaine concentrations determine the dose self-administered by rats on a novel behaviorally dependent dosing schedule. *Neuropsychopharmacology* 36: 2741-2749.
- Zimmer B. A., Oleson E. B., Roberts D. C. (2012) The motivation to self-administer is increased after a history of spiking brain levels of cocaine. *Neuropsychopharmacology* 37: 1901-1910.

CHAPITRE III

Article 2

**HIGH AND ESCALATING LEVELS OF COCAINE INTAKE ARE DISSOCIABLE FROM
SUBSEQUENT INCENTIVE MOTIVATION FOR THE DRUG IN RATS**

Florence Allain, M.Sc.^a, Karim Bouayad-Gervais, Ph.D.^a and Anne-Noël Samaha, Ph.D.*^{a, b}

^aDepartment of Pharmacology and Physiology, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, QC, H3C 3J7, Canada; ^bCNS Research Group, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, QC, H3C 3J7, Canada

*Corresponding Author:
Anne-Noël Samaha
Department of Pharmacology and Physiology
Université de Montréal
C.P. 6128, Succursale Centre-ville
Montreal, Quebec
H3C 3J7
Canada
Tel: 514 343 6111 x. 32788
Fax: 514 343 2291
anna.samaha@umontreal.ca

Ce manuscrit a été publié dans Psychopharmacology 235: 317-328, Janvier 2018.

Abstract

Rationale Taking high and increasing amounts of cocaine is thought to be necessary for the development of addiction. Consequently, a widely used animal model of drug self-administration involves giving animals continuous drug access during long sessions (LgA), as this produces high and escalating levels of intake. However, human cocaine addicts likely use the drug with an intermittent rather than continuous pattern, producing spiking brain cocaine levels.

Objectives Using an intermittent-access (IntA) cocaine self-administration procedure in rats, we studied the relationship between escalation of cocaine intake and later incentive motivation for the drug, as measured by responding under a progressive ratio schedule of cocaine reinforcement.

Results First, under IntA, rats escalated their cocaine use both within and between sessions. However, escalation did not predict later incentive motivation for the drug. Second, incentive motivation for cocaine was similar in IntA-rats limited to low- and non-escalating levels of drug intake (IntA-Lim) and in IntA-rats that took high and escalating levels of drug. Finally, IntA-Lim rats took much less cocaine than rats given continuous drug access during each self-administration session (LgA-rats). However, IntA-Lim rats later responded more for cocaine under a progressive ratio schedule of reinforcement.

Conclusions Taking large and escalating quantities of cocaine does not appear necessary to increase incentive motivation for the drug. Taking cocaine in an intermittent pattern – even in small amounts – is more effective in producing this addiction-relevant change. Thus, beyond the amount of drug taken, the temporal kinetics of drug use predict change in drug use over time.

Keywords: Addiction; Intravenous drug self-administration; Intermittent access; Long access; Escalation of cocaine intake; Binge-like cocaine intake; Progressive ratio.

1. Introduction

High and escalating levels of drug intake are thought to be critical in inducing symptoms of addiction, in particular to cocaine (Ahmed 2012; Edwards and Koob 2013). As such, escalation of drug intake is a major focus in cocaine self-administration research. To model high and escalating levels of drug intake, animals are given continuous drug access during long sessions, typically lasting 6 h [long-access, LgA; (Ahmed and Koob 1998)]. This promotes cognitive changes and addiction-like symptoms compared to shorter self-administration sessions [1-2 h; (Ahmed and Koob 1998; 1999; Bouayad-Gervais et al. 2014; Briand et al. 2008; George et al. 2008; Hao et al. 2010; Knackstedt and Kalivas 2007; Paterson and Markou 2003; Vanderschuren and Everitt 2004)]. LgA drug self-administration is considered the current gold standard for studying the neurobiology of addiction (Edwards and Koob 2013). The underlying assumption is that “*excessive drug exposure likely remains an indispensable element driving the development of addiction*” (Edwards and Koob 2013) and that “[...] *below this critical level of exposure, there would be no drug-induced neuropathological changes, and drug use would remain under control, at least in the majority of drug-exposed animals*” (Ahmed 2012).

An important question is how well the LgA-procedure models how human addicts take cocaine. By necessity but also by choice, cocaine users adopt intermittent patterns of use both within and between periods of consumption [reviewed in Allain et al. (2015)]. Experienced cocaine users typically engage in recurring binges, rather than continuous daily use (Gawin and Kleber 1986) and bouts of intoxication are interspersed with periods of abstinence, often used to gather money for the next dose (Simon et al. 2002; Ward et al. 1997). Cocaine intake might also be intermittent *within* a bout of intoxication. Experienced (25-32 years of use) and less experienced (4-9 years of use) cocaine users take their cocaine in the same amount of time. But experienced users take their purchased drug in fewer intervals. This would presumably produce more pronounced “spikes” and “troughs” in cocaine concentrations in the blood/brain (Beveridge et al. 2012).

To model this intermittent pattern of cocaine use, Zimmer et al. (2011) developed an intermittent-access (IntA) self-administration procedure in rats; cocaine is available during 5-min periods intercalated with 25-min periods during which drug is not available (Zimmer et al. 2011). In contrast to LgA-procedures which achieve high and sustained brain levels of drug, IntA models the intermittent spikes in brain cocaine levels (Zimmer et al. 2011; Zimmer et al. 2012) that are thought to be clinically relevant (Beveridge et al. 2012). The IntA-procedure also produces addiction symptoms more effectively. LgA-rats consume much more drug but IntA-rats develop greater incentive motivation for cocaine (Zimmer et al. 2012). IntA-rats also show sensitization to cocaine's effects at the dopamine transporter, while LgA-rats show tolerance (Calipari et al. 2013). This sensitization effect can be seen after as little as three IntA self-administration sessions and it is linked to an increase in the motivation to take cocaine (Calipari et al. 2015; Siciliano and Jones 2017). Finally, IntA-rats show robust psychomotor sensitization (Allain et al. 2017) – an addiction-relevant change difficult to measure with LgA [(Ahmed and Cador 2006; Ben-Shahar et al. 2004; Knackstedt and Kalivas 2007) but see (Ferrario et al. 2005)].

Similar to LgA, IntA can also promote escalation of drug use over sessions (Kawa et al. 2016; Pitchers et al. 2017). But is escalation necessary to produce the brain changes that push the addiction process forward, even under IntA-conditions? Here, we determined how escalation of cocaine intake during IntA-experience influences later incentive motivation for the drug. First, we determined whether escalation of cocaine use during IntA-sessions promotes increased incentive motivation for the drug. Second, we compared incentive motivation for cocaine following LgA-experience with escalation versus following IntA-experience without escalation.

2. Materials and methods

2.1 Subjects and apparatus

Male Wistar rats (225-250 g; Charles River Laboratories, St Constant, QC) were housed individually in a climate-controlled room under a reverse 12-h light/dark cycle (Lights off at 08:30 a.m.). Only male rats were studied in this series of experiments because the IntA model of cocaine self-administration is new (Zimmer et al. 2011), and it has not yet been characterized in female animals. However, there are sex differences in the response to drugs of abuse (Becker 2016). This requires that both males and females be represented in animal models. To this end, we are currently examining potential sex differences in cocaine self-administration behavior under IntA conditions.

Water was available *ad libitum* and food was restricted to 25 g/day. Rats were tested in standard operant conditioning cages (Med Associates, St Albans, VT). These were equipped with a house light, a food pellet dispenser and receptacle, a drug infusion line for intravenous (i.v.) injections, two retractable levers, and a discrete light above each lever. Pressing the active lever was reinforced with either a food pellet or intravenous (i.v.) cocaine, as detailed below. Pressing the inactive lever had no programmed consequences. To signal the beginning of each test session, the two levers were inserted into the cage and the house light was illuminated. Upon reward delivery (and during the timeout period where applicable), the light above the active lever was illuminated and both levers were retracted. The light was then extinguished and the levers were again inserted into the cage to indicate reward availability. The Université de Montréal's animal care committee approved all experimental procedures, and these followed the guidelines of the Canadian Council on Animal Care.

2.2 Operant responding for food and surgery

Figure 1 shows the sequence of experimental events. To facilitate the acquisition of lever-pressing behavior and thus reduce the time needed to subsequently learn to self-administer

cocaine, rats were first trained to press a lever for 45-mg, banana-flavored, grain-based food pellets (VWR, Town of Mount-Royal, QC), under a fixed ratio 1 schedule of reinforcement (FR1). Food training sessions lasted 30 min or until 100 pellets were self-administered. On the day following acquisition of this behavior (as indicated by the self-administration of ~ 25 pellets/session, on two consecutive sessions), rats were implanted with a catheter into the jugular vein (Samaha et al. 2011; Weeks 1962). To avoid blood clots in the catheters, catheters were flushed with saline or with saline containing 0.2 mg/ml of heparin (Sigma-Aldrich, Oakville, ON) and 2 mg/ml of enrofloxacin (CDMV, St Hyacinthe, QC) on alternate days. Rats were given at least 5 days of recovery prior to additional behavioral testing.

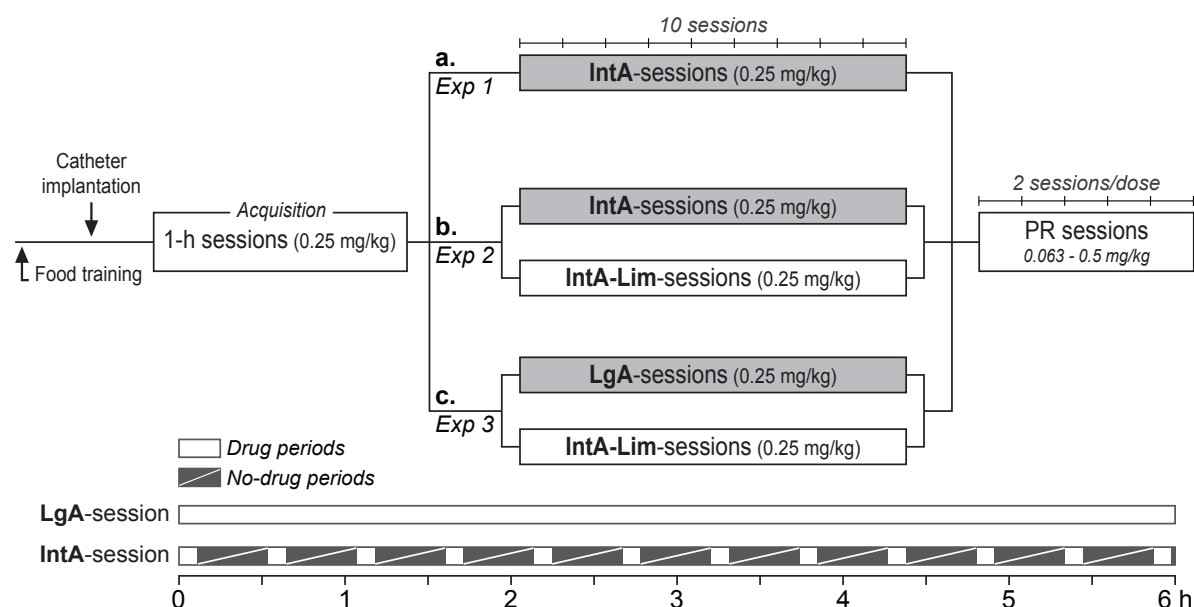


Fig. 1. The sequence of experimental events. In Experiment 1 **a.**, rats self-administered cocaine intermittently (IntA) for 10 sessions. In Experiment 2 **b.**, two groups of rats self-administered cocaine intermittently. One group was given IntA-sessions, during which drug access was unlimited during each 6-min cocaine period (referred to as the “IntA-unLim” group in the text). This permits escalation of drug intake. The other group was given IntA-Lim sessions, where drug access was limited to four injections/6-min cocaine period. This precludes escalation of drug intake. In Experiment 3 **c.**, one group was given long-access sessions during which access to cocaine was continuous (LgA-rats). A second group was given IntA-sessions during which cocaine access was limited to two injections/6-min drug period (IntA-Lim rats). At the end of each experiment, breakpoints maintained by cocaine were assessed under a progressive ratio schedule of reinforcement (PR). Independent cohorts of rats were used in each experiment.

2.3 Acquisition of cocaine self-administration behavior

During 1-h sessions, each active-lever press produced an injection of cocaine hydrochloride (0.25 mg/kg/injection, over 5 s; Medisca Pharmaceutique, St Laurent, QC) and a 20-s timeout

period. Once rats had a regular pattern of intake on two consecutive sessions and took at least six injections/session, the timeout period was removed for three final 1-h sessions. Rats were then given ten 6-h self-administration sessions, under IntA or LgA conditions. At the end of each experiment, catheter patency was verified by i.v. injection of 0.2 ml of the short-acting barbiturate, sodium thiopental (20 mg/ml in sterile water; CDMV, St Hyacinthe, QC). All rats in all experiments became ataxic within 10 s of this injection. Only one rat was excluded in Experiment 3 (IntA-Lim rat), for aggressive behavior.

2.4 IntA-sessions

Rats received one IntA-session/day, for 10 days. Each IntA-session had twelve 6-min drug periods during which cocaine (0.25 mg/kg/injection) was available without timeout under FR1, intercalated with 26-min no-drug periods during which levers were retracted and cocaine was unavailable (see bottom of **Fig. 1**). The last 6-min drug period was followed by a 2-min no-drug period such that the session lasted 6 h. In some experimental groups (IntA-unLim rats), access to cocaine was unlimited during each 6-min drug period, and IntA-sessions always lasted 6 h. In other experimental groups (IntA-Lim rats), we wished to preclude escalation of cocaine intake over sessions. To this end, IntA-Lim rats were limited to either four (Experiment 2; **Fig. 1b**) or two (Experiment 3; **Fig. 1c**) cocaine injections per 6-min drug period. The 26-min no-drug periods were initiated as soon as the allotted injections were self-administered. Thus, IntA-sessions could last less than 6 h in IntA-Lim rats. In Experiment 3, IntA-Lim rats were limited to two instead of four injections/drug period [as used previously (Allain et al. 2017)]. This maximizes differences in intake between IntA-Lim rats and the other experimental group studied in Experiment 3 (LgA-rats).

2.5 LgA-sessions

Rats received one LgA-session/day, for 10 days. During each 6-h session, cocaine was available continuously save for an 85-s timeout period following each self-administered

injection. The timeout period was imposed to protect animals from taking potentially health-threatening amounts of cocaine (Bozarth and Wise 1985; Fitch and Roberts 1993). Note that in Experiment 3 (**Fig. 1c**), in both LgA-rats and IntA-Lim rats, drug was available under a fixed ratio 3 schedule of reinforcement to increase discrimination between the active and inactive levers.

2.6 Cocaine self-administration under a progressive ratio schedule of reinforcement

One to 4 days following the last IntA- or LgA-session, incentive motivation for cocaine was assessed by determining breakpoint for the drug under progressive ratio (PR; 0.063-0.5 mg/kg/injection, in counterbalanced order with 2-3 sessions/dose; all rats received all doses). During PR-sessions, the number of lever presses needed to obtain each successive injection increased exponentially according to the following formula:

$$5 \times e^{(\text{number of injection} \times 0.2)} - 5 \text{ (Richardson and Roberts 1996)}$$

Each PR-session ended when 1 h elapsed since the last injection, or after 5 h. The last ratio reached prior to this point is termed the breakpoint, and it is an index of incentive motivation for drug (Richardson and Roberts 1996). We also analyzed session duration in some experiments. Session duration is the total time animals spend in the PR task. This includes the hour elapsed since the last injection.

2.7 Modeling of brain cocaine concentrations

We estimated brain cocaine concentrations (μM) using self-administration data from representative animals from each experimental condition. Estimates were calculated using the following equation derived by Pan et al. (1991):

$$C = dA \cdot (e^{-\beta t} - e^{-\alpha t}) \text{ with } A = \frac{k}{v \cdot (\alpha - \beta)}$$

The equation integrates the dose of cocaine (d , 0.25 mg/kg/injection) and the time elapsed after each self-administered injection (t in minutes). All other constants are those reported in

Pan et al. (1991) for cocaine-experienced rats and are described in our previous work (Allain et al. 2017). This mathematical model is well established and has been used to estimate brain concentrations of cocaine following self- and experimenter-administered i.v. drug injections (Allain et al. 2017; Calipari et al. 2014b; Martin-Garcia et al. 2014; Nicola and Deadwyler 2000; Samaha et al. 2002; Shou et al. 2006; Wise et al. 1995; Zimmer et al. 2011; Zimmer et al. 2012). Here, we first calculated brain cocaine concentration separately for each self-administered drug injection of the session and then summed across injections to calculate the final concentration as a function of time. We used a 5-s time resolution for all estimates. Dr. David C. S. Roberts generously provided the Python script used to model brain cocaine concentrations.

2.8 Statistical analysis

In Experiment 1, one-way repeated measure ANOVA was used to analyze changes in self-administration behavior within and between IntA-sessions as well as breakpoints as a function of cocaine dose. Pearson's correlation coefficient r was computed to assess the relationships between breakpoint for cocaine and either level of escalation or prior cumulative cocaine intake. In Experiments 2 and 3, mixed-model ANOVA was used to analyze group differences in cocaine intake (session as a within-subject variable), in breakpoint for cocaine, and in PR session duration (cocaine dose as a within-subject variable). Cumulative cocaine intake was compared between groups using unpaired t tests. Significant interactions or main effects (p values < 0.05) were followed by Bonferroni's multiple comparisons tests.

3. Results

3.1 Experiment 1

Compared to LgA-rats, IntA-rats take much less cocaine but will also escalate their intake between sessions and show high motivation to obtain the drug (Kawa et al. 2016; Pitchers et al. 2017). We had two objectives here: (i) characterize escalation of cocaine intake between

and within IntA-sessions and (ii) determine whether the extent of escalation during IntA-experience predicts the later motivation to take cocaine. **Figure 1a** shows the sequence of events.

3.1.1 IntA promotes escalation of cocaine intake within and between self-administration sessions

Figure 2a shows a representative pattern of cocaine intake during an IntA-session and the corresponding estimated brain cocaine concentrations [also see Zimmer et al. (2011)].

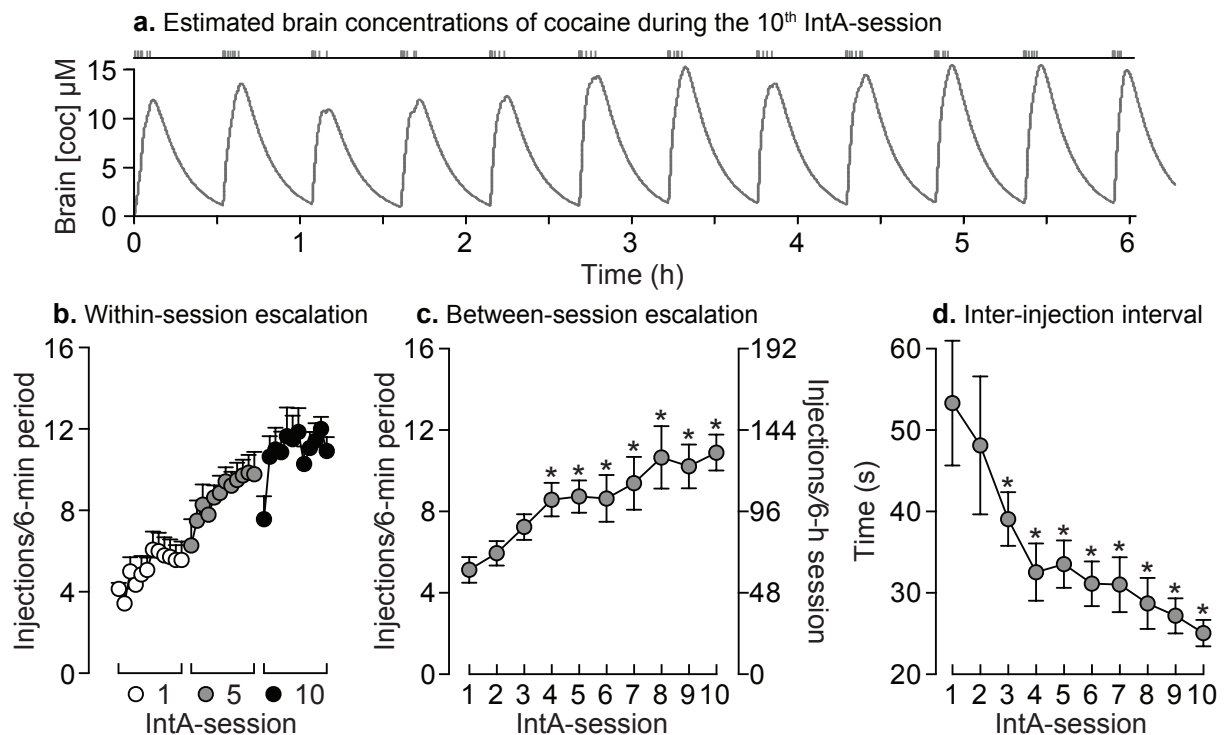


Fig. 2. Rats self-administering cocaine during intermittent-access sessions (IntA) escalate their drug intake within and between sessions. **a** Pattern of cocaine intake and estimated brain cocaine concentrations as a function of time during the 10th session, in a representative animal. **b** The number of cocaine injections taken during each of the 12 6-min cocaine periods within the 1st, 5th, and 10th IntA-sessions. In **c**, the left Y-axis shows the number of injections/6-min cocaine period and the right Y-axis shows the total number of injections/session. **d** The inter-injection interval [in seconds (s)] decreased significantly over sessions. * $p < 0.05$, vs. 1st IntA-session. Data are mean \pm s.e.m. $n = 14$.

Figure 2b shows the number of self-administered cocaine injections during each 6-min cocaine period for the 1st (white circles), 5th (gray circles), and 10th (black circles) IntA-sessions. Cocaine intake escalated within each IntA-session. This effect was observed on the 1st IntA-

session ($F_{11, 143} = 2.88$, $p = 0.002$; **Fig. 2b**) and it persisted in subsequent sessions (IntA-session 5, $F_{11, 143} = 6.92$; IntA-session 10, $F_{11, 143} = 5.78$; all p values < 0.0001 ; **Fig. 2b**). As shown in **Fig. 2c**, rats also escalated their intake between sessions (main effect of session, $F_{9, 117} = 9.78$, $p < 0.0001$). From the 4th session on, rats took more cocaine than on the 1st session (all p values < 0.01). Finally, the rats increased their rate of cocaine intake between sessions as well, as indicated by a decrease in the inter-injection interval (main effect of session, $F_{9, 117} = 7.27$, $p < 0.0001$; **Fig. 2d**). From the 3rd session on, rats self-administered cocaine injections at shorter intervals than on the 1st session (all p values < 0.05).

3.1.2 IntA promotes a binge-like pattern of cocaine use

Figure 3a-c shows the pattern of cocaine intake in a representative animal during each of the twelve 6-min cocaine periods (divided in 90-s bins) of the 1st (**Fig. 3a**), 5th (**Fig. 3b**), and 10th IntA-sessions (**Fig. 3c**). Visual inspection of these data shows that cocaine intake was greatest at the beginning of each 6-min cocaine period (i.e., in the first 90 s) and that this drug-loading effect became more pronounced over sessions. Indeed, over the 10 IntA-sessions, rats increased the number of injections they took in the first 90 s of each 6-min cocaine period ($F_{9, 117} = 14.11$, $p < 0.0001$; **Fig. 3d**). From the 3rd session on, the number of these injections was greater than on the 1st session (all p values < 0.01). The number of cocaine injections taken in the subsequent 90-s bins also escalated over IntA-sessions ($F_{9, 117} = 2.74$; **Fig. 3e**; $F_{9, 117} = 2.05$; **Fig. 3f**; $F_{9, 117} = 2.72$; **Fig. 3g**; all p values < 0.05) but to a lesser extent than in the first 90-s bin (IntA-session x 90-s bin interaction effect, $F_{27, 351} = 9.3$, $p < 0.0001$; **Fig. 3d-g**). To explore this drug-loading effect further, we analyzed binge-like episodes during IntA-sessions [≥ 5 injections per 90-s bin, as adapted from Belin et al. (2009)]. Across IntA-sessions, a binge-like pattern of cocaine intake was seen in the first 90-s interval of each 6-min cocaine period (main effect of 90-s bin, $F_{3, 39} = 80.86$, $p < 0.0001$; **Fig. 3h-k**). The number of binge-like events during this interval also increased significantly between IntA-sessions ($F_{9, 117} = 13.44$, $p < 0.0001$; **Fig. 3h**). From the 3rd session on, there were more binge-like episodes than on the 1st session (all p values < 0.01 ; no other comparisons were statistically significant). Thus, rats

“load up” on cocaine at the beginning of each 6-min cocaine period – taking many cocaine injections and at a rapid rate – and this effect increases across IntA-sessions.

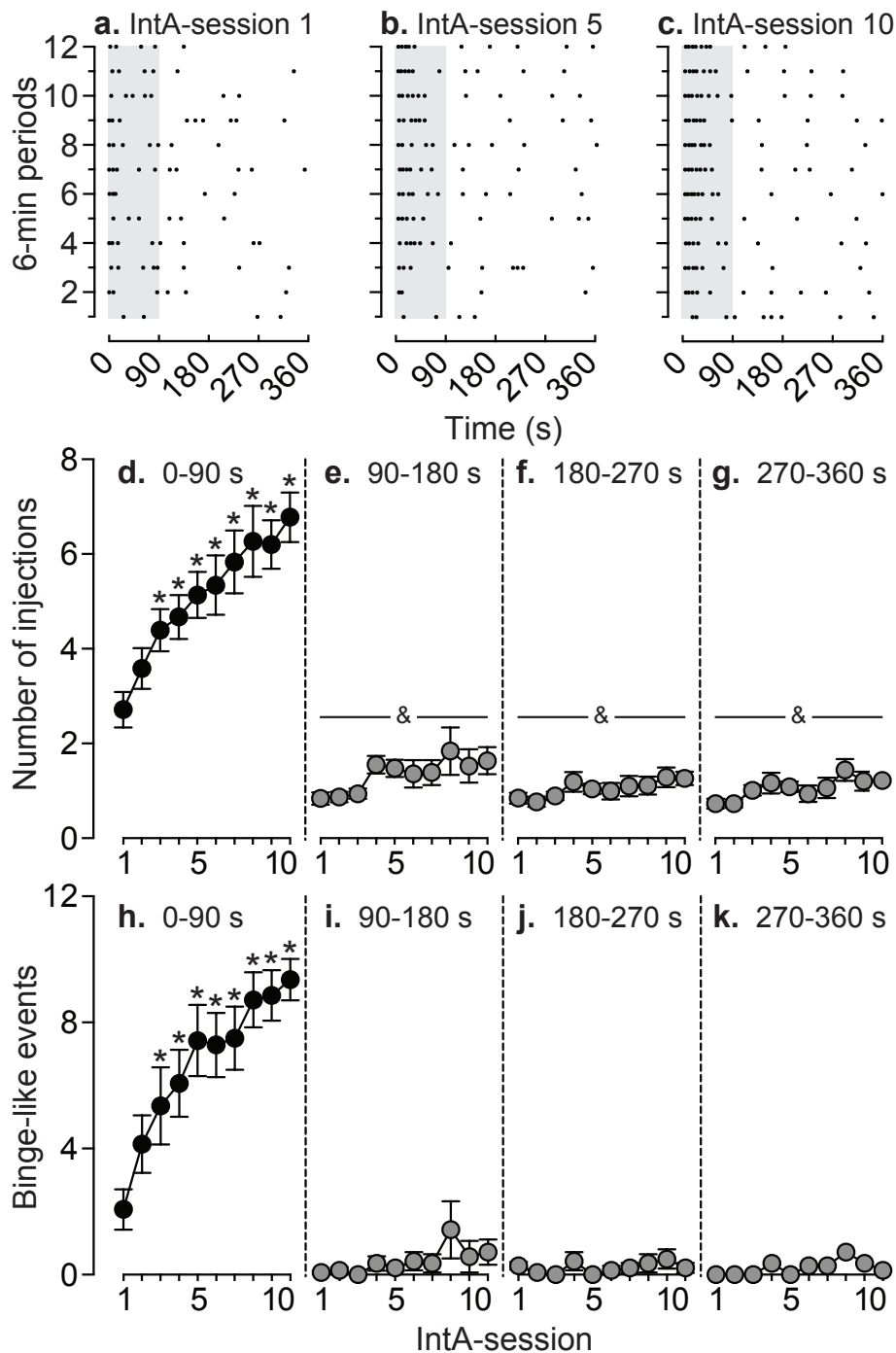


Fig. 3. Rats self-administering cocaine during intermittent-access sessions (IntA) develop a binge-like pattern of drug intake. The pattern of cocaine intake is shown for a representative rat during the 1st (a), 5th (b) and 10th (c) IntA-session. Each point represents one self-administered injection. The Y-axis shows self-administered infusions during each 6-min cocaine period. The X-axis shows time in 90-s blocks. On sessions 5 and 10, the rat took most of its injections at the beginning of each 6-min drug period (the first 90 s; shaded in gray). **d-g** The number of cocaine injections taken during each 6-min drug period, broken down into 90-s bins. **d** The rats took most of their cocaine injections in the first 90-s bin of each 6-min drug period and this “loading” effect sensitized over sessions. **h-k** Binge-like events (≥ 5 injections/90 s) during each 6-min drug period, broken down into 90-s bins. **h** Binge-like events were observed only in the first 90 s of the 6-min cocaine periods, and binge-like behavior sensitized over IntA-sessions. * $p < 0.05$, vs. 1st IntA-session. & $p < 0.05$, main effect of session. Data are mean \pm s.e.m. $n = 14$.

3.1.3 Under IntA conditions, neither the extent of escalation nor cumulative cocaine intake predicts subsequent incentive motivation for the drug

Following the 10th IntA-session, all rats were given access to cocaine under a PR schedule of reinforcement and breakpoints maintained by the drug were measured. Rats reached higher breakpoints for greater doses of cocaine (main effect of dose, $F_{2, 26} = 17.16$, $p < 0.0001$; **Fig. 4a**).

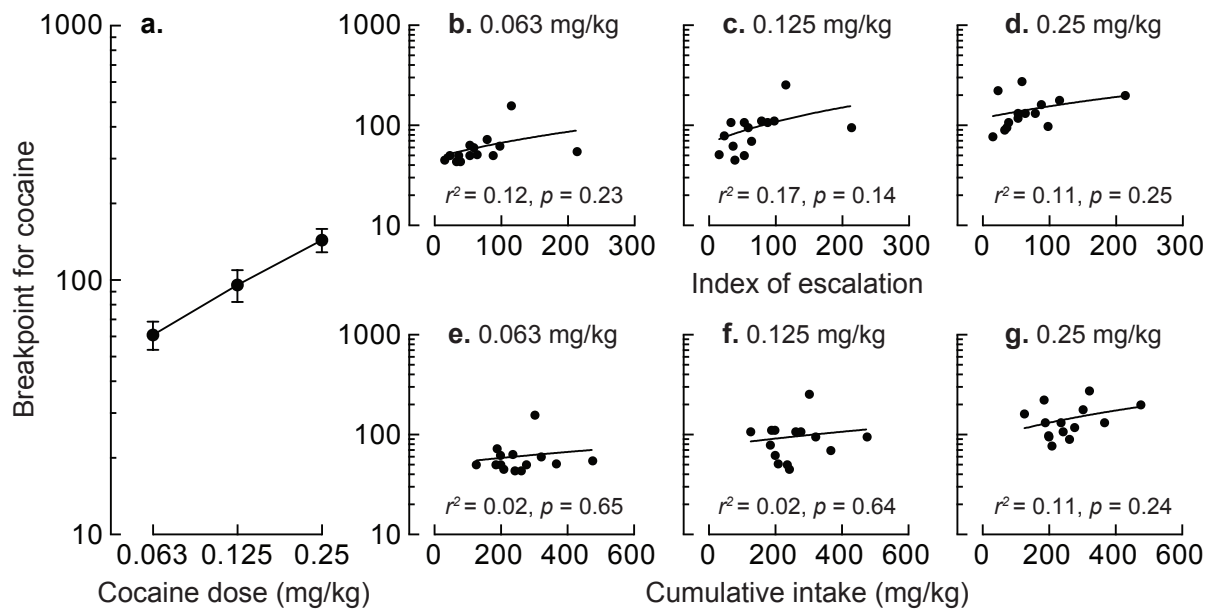


Fig. 4. Breakpoint for cocaine under a progressive ratio schedule of reinforcement increases with dose (a) and does not significantly correlate with the degree of prior escalation of drug intake (b-d) or with prior cumulative cocaine intake (e-g). a shows breakpoints maintained by cocaine on a log scale, as a function of cocaine dose. b-d show correlations between breakpoints for different doses of cocaine and the extent of prior escalation of cocaine intake. e-g show correlations between breakpoints for different doses of cocaine and previous cumulative cocaine intake. Data are mean \pm s.e.m. $n = 14$.

We performed a correlation analysis to determine how the level of escalation (difference between the number of cocaine injections taken on the 10th and 1st IntA-sessions) or cumulative cocaine intake (the total number of cocaine injections over the 10 IntA-sessions multiplied by 0.25 mg/kg/injection) might predict breakpoint for cocaine. Neither the level of escalation ($r^2 = 0.12$; **Fig. 4b**; $r^2 = 0.17$; **Fig. 4c**; $r^2 = 0.11$; **Fig. 4d**; all p values > 0.05) nor cumulative cocaine intake ($r^2 = 0.02$; **Fig. 4e**; $r^2 = 0.02$; **Fig. 4f**; $r^2 = 0.11$; **Fig. 4g**; all p values > 0.05) significantly predicted breakpoint for cocaine.

3.2 Experiment 2

Experiment 1 showed that high and escalating levels of cocaine intake under IntA conditions do not significantly predict later incentive motivation for the drug. At this point, the data remain correlational. Thus, in Experiment 2, we determined whether taking high and escalating amounts of cocaine under IntA conditions is sufficient to produce increased incentive motivation for the drug. If this is true, then IntA-rats that escalate their intake should achieve higher breakpoints for cocaine than IntA-rats precluded from escalating their intake. We tested this prediction by comparing two groups of IntA-rats. During each IntA-session, one group had unlimited access to cocaine to permit escalation (IntA-unLim) while the second group was limited to four injections/6-min drug period (IntA-Lim) to preclude escalation (**Fig. 1b**). This cocaine injection limit was based on Experiment 1, which showed that rats take 4-5 injections/6-min cocaine period on the 1st IntA-session. **Figure 5a** shows intake patterns and estimated brain concentrations of cocaine in representative animals. IntA-Lim rats take less cocaine than IntA-unLim rats. Thus, spikes in estimated brain cocaine levels are of smaller amplitude in IntA-Lim rats (**Fig. 5a**; black line). Note that self-administration sessions can be shorter in IntA-Lim rats because each cocaine period within the session ends as soon as 4 injections are taken, or after 6 min.

3.2.1 Limiting the number of cocaine injections available during each IntA-session precludes escalation of cocaine intake

IntA-Lim rats consumed significantly less cocaine over sessions than IntA-unLim rats (main effect of group, $F_{1, 18} = 13.75$, $p = 0.002$; **Fig. 5b**), and only IntA-unLim rats escalated their intake over time (main effect of session, $F_{9, 162} = 8.05$, $p < 0.0001$; group x session interaction effect, $F_{9, 162} = 4.64$, $p < 0.0001$; **Fig. 5b**). From the 4th session on, IntA-unLim rats took more cocaine than on their 1st session (all p values < 0.01 ; **Fig. 5b**). Accordingly, cumulative cocaine intake was greatest in IntA-unLim rats ($t_{18} = 3.71$, $p = 0.002$; **Fig. 5c**).

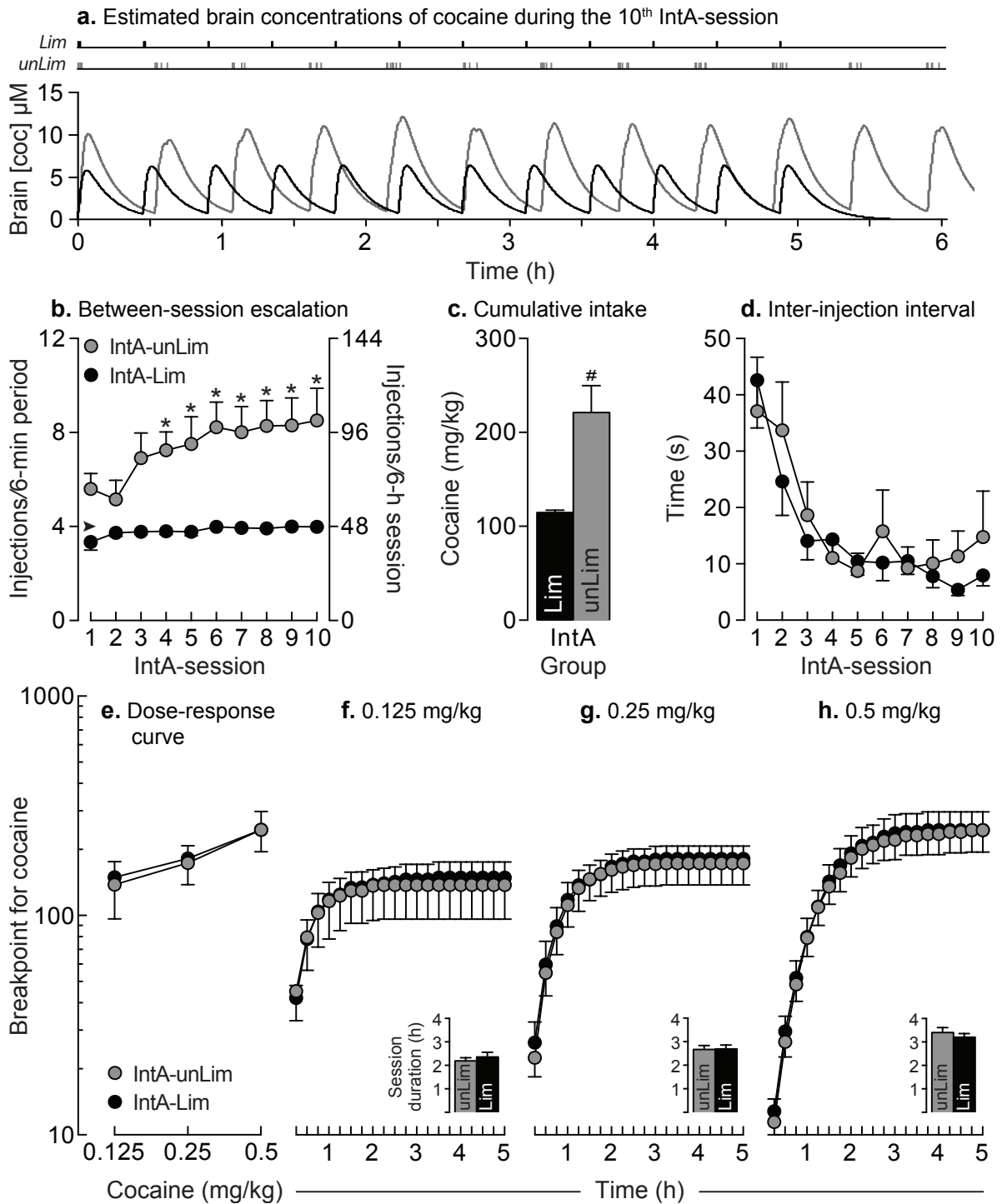


Fig. 5. Under intermittent-access conditions (IntA), high and escalating levels of cocaine intake do not promote increased motivation to obtain the drug compared to low and stable levels of intake. **a** Patterns of cocaine intake (top two lines) and estimated brain cocaine concentrations as a function of time during the 10th self-administration session in representative animals from each group. In **b**, the left Y-axis shows the number of injections taken/6-min cocaine period and the right Y-axis shows the total number of injections taken/session. The arrow indicates that IntA-Lim rats were limited to four injections/6-min drug period. IntA-unLim rats had unlimited access to cocaine during each 6-min drug period. **c** Cumulative cocaine intake was greatest in unLim rats. **d** The inter-injection interval [in seconds (s)] was similar between groups and it decreased over sessions. * $p < 0.05$, vs. 1st IntA-session in IntA-unLim rats. # $p < 0.05$, vs. IntA-Lim group. **e** IntA-Lim and IntA-unLim rats showed similar breakpoints for cocaine under a progressive ratio schedule of reinforcement. The panel shows breakpoint values on a log scale, as a function of cocaine dose. **f-h** Cumulative breakpoint for cocaine during progressive ratio tests as a function of time. The insets in **f-h** show the duration of progressive ratio sessions in each group. Data are mean \pm s.e.m. $n = 10$ /group.

The two groups showed a similar increase in the rate of cocaine intake over sessions, as indicated by a decrease in the inter-injection interval (main effect of session, $F_{9, 162} = 19.29$, $p < 0.0001$; no other comparisons were statistically significant; **Fig. 5d**). Note that in the IntA-unLim rats, the inter-injection interval was calculated only for the first four injections taken in each 6-min drug period of the IntA-session. This permits direct comparison with the IntA-Lim rats, which were limited to four injections/6-min drug period.

3.2.2 Under IntA conditions, high and escalating levels of cocaine intake do not increase incentive motivation for the drug in the future

Following the 10th IntA-session, breakpoints maintained by cocaine were measured under a PR schedule of reinforcement. Across groups, both breakpoint (main effect of dose, $F_{2, 36} = 11.59$, $p = 0.0001$; **Fig. 5e**) and session duration (main effect of dose, $F_{2, 36} = 21.15$, $p < 0.0001$; **Fig. 5f-h** insets) increased as a function of cocaine dose. There were no group differences in either measure. Cumulative breakpoints during the PR-sessions were also similar between the IntA-unLim and IntA-Lim rats (**Fig. 5f-h**). In summary, the IntA-unLim rats escalated their intake and took twice the amount of cocaine than IntA-Lim rats, but this was not sufficient to produce differences in the later incentive motivation for the drug.

3.3 Experiment 3

If high and escalating amounts of cocaine intake are necessary to produce increased incentive motivation for the drug, then LgA-rats that escalate their intake should achieve higher breakpoints for cocaine than IntA-rats precluded from escalating their intake. Thus, one group was given LgA-sessions during which cocaine access was not limited (LgA-rats). A second group was given IntA-sessions and was limited to two injections/6-min drug period (IntA-Lim rats) so as to preclude escalation (**Fig. 1c**). In contrast to Experiment 2, here, IntA-Lim rats were limited to two instead of four injections/drug period [as used previously in Allain et al. (2017)]. This maximizes differences in intake between IntA-Lim rats and LgA-rats. **Figure 6a** shows patterns of cocaine intake and estimated brain concentrations of drug in representative

rats. IntA-rats (black line) show spikes and troughs in estimated brain cocaine concentrations, while LgA-rats show high and sustained estimated brain concentrations [also see (Zimmer et al. 2012)].

3.3.1 IntA-Lim produces low and stable levels of cocaine intake while LgA promotes high and escalating levels of cocaine intake over sessions

Figure 6b shows cocaine intake over sessions. IntA-Lim rats showed stable intake over time (**Fig. 6b**). However, LgA-rats escalated their intake over time (main effect of session, $F_{9, 117} = 5.11$, $p < 0.0001$; group x session interaction, $F_{9, 117} = 4.6$, $p < 0.0001$; **Fig. 6b**). From the 3rd session on, they took more cocaine than on the 1st session (all p values < 0.01). LgA-rats also took 6-9 times more cocaine/session than IntA-Lim rats (main effect of group, $F_{1, 13} = 280$, $p < 0.0001$; **Fig. 6b**). Average cumulative cocaine intake over the 10 self-administration sessions was 8-fold higher in LgA compared to IntA-Lim rats ($t_{13} = 16.73$, $p < 0.0001$; **Fig. 6c**). Both groups pressed more on the active than on the inactive lever (main effect of lever type; LgA-rats, $F_{1, 7} = 360.6$; IntA-Lim rats, $F_{1, 6} = 125.7$; all p values < 0.0001 ; **Fig. 6d**), and active lever presses increased over sessions in the LgA-rats (main effect of session, $F_{9, 63} = 5.63$; lever type x session interaction, $F_{9, 63} = 5.36$; all p values < 0.0001 ; **Fig. 6d**).

3.3.2 IntA without escalation of cocaine intake produces greater incentive motivation for cocaine than LgA with escalation

Following the 10th self-administration session, breakpoints maintained by cocaine were measured under a PR schedule of reinforcement. Across groups, breakpoints for cocaine increased as a function of dose (main effect of dose, $F_{2, 26} = 15.04$, $p < 0.0001$; **Fig. 6e**). However, the dose-response curve was shifted upwards in the IntA-Lim rats (group x cocaine dose interaction effect, $F_{2, 26} = 3.44$, $p < 0.05$; main effect of group, $F_{1, 13} = 3.4$, $p = 0.09$; Bonferroni's test at the 0.25-mg/kg dose, $p = 0.02$; no other comparisons were statistically significant; **Fig. 6e**).

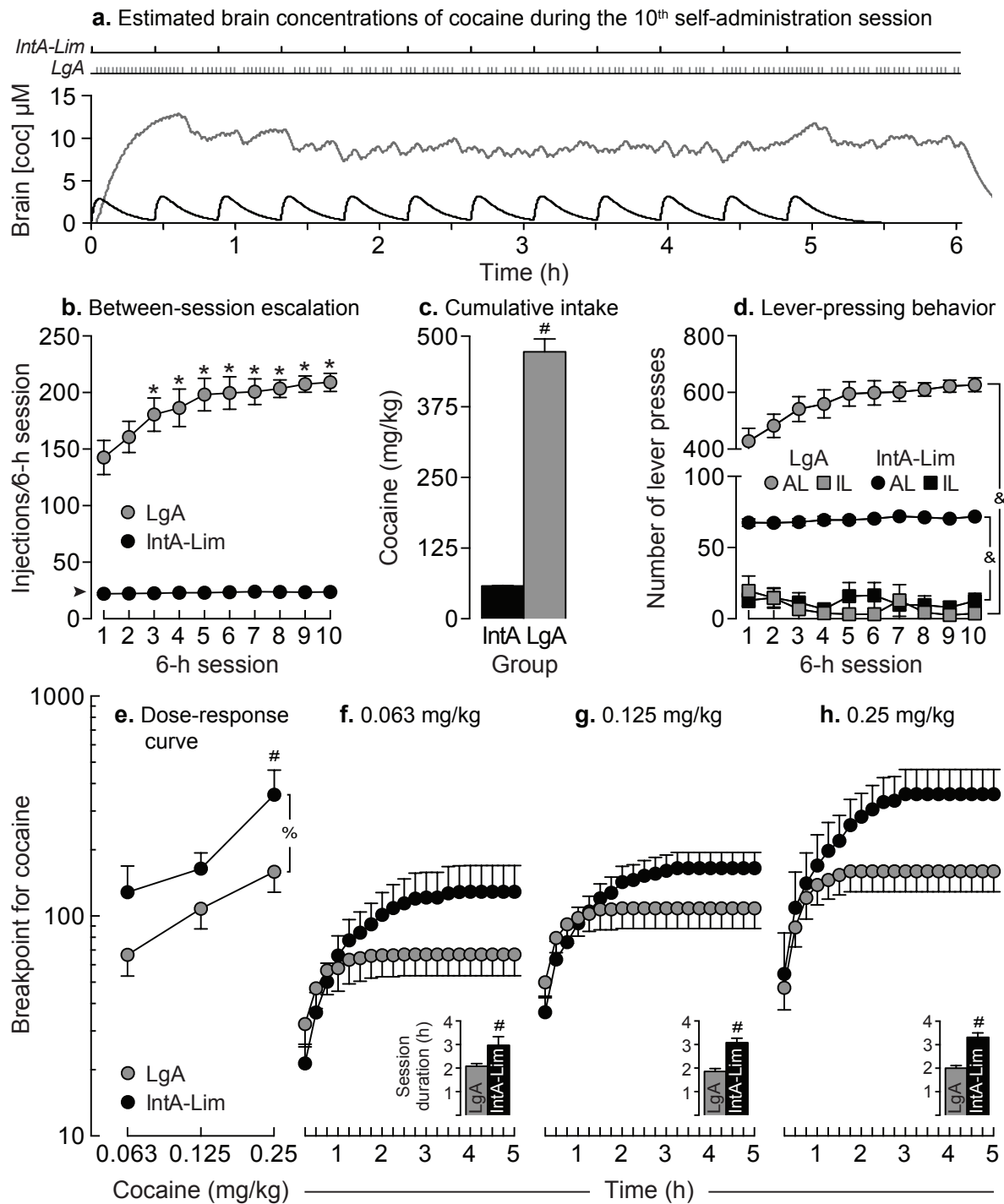


Fig. 6. Compared to LgA-rats, IntA-Lim self-administer significantly less cocaine but develop greater incentive motivation to take the drug. a Patterns of intake (top two lines) and estimated brain cocaine concentrations as a function of time during the 10th session in representative animals of each group. **b** LgA-rats took significantly more cocaine injections during each session than IntA-Lim rats and also escalated their intake. The arrow indicates that IntA-Lim rats were limited to two injections/6-min drug period. LgA-rats had unlimited drug access save for an 85-s timeout period following each injection. **c** Cumulative cocaine intake was greatest in LgA-rats. **d** Both groups pressed significantly more on the active lever (AL, circle symbols) versus the inactive lever (IL, square symbols) during each 6-h session. **e** Compared to LgA-rats, IntA-Lim rats reached higher breakpoints for cocaine under a progressive ratio schedule of drug reinforcement. The panel shows breakpoint values on a log scale as a function of cocaine dose. **f-h** Cumulative breakpoint for cocaine during progressive ratio tests as a function of time. The insets in **f-h** show that progressive ratio sessions were longest in IntA-Lim rats, at all doses tested. This indicates that they persevered longer in the progressive ratio task compared to LgA-rats. * $p < 0.05$, vs. 1st 6-h session in LgA-rats. # $p < 0.05$, IntA-Lim rats vs. LgA-rats. & $p < 0.0001$, main effect of lever type. % $p < 0.05$, group x dose interaction effect. Data are mean \pm s.e.m. $n = 7-8$ /group.

During PR-sessions, group differences in breakpoint for cocaine appeared early and were persistent (**Fig. 6f-h**). PR-sessions also lasted longest in IntA-Lim rats (main effect of group, $F_{1,13} = 31.31, p < 0.0001$; **Fig. 6f-h** insets). This indicates that when obtaining cocaine required increasing amounts of physical effort, IntA-Lim rats persevered longer in the self-administration task compared to LgA-rats. In summary, LgA-rats escalated their intake over time and took significantly more cocaine than IntA-Lim rats, but IntA-Lim rats developed greater incentive motivation for the drug.

4. Discussion

We show that high and escalating levels of cocaine intake are neither sufficient nor necessary to produce an increase in incentive motivation for the drug [see also Zimmer et al. (2012)]. First, we found that rats that self-administer cocaine under IntA significantly escalate their drug intake both within and between sessions. However, neither the extent of escalation nor the cumulative amount of cocaine taken significantly predicted incentive motivation for the drug (**Fig. 4**). We then compared two groups of IntA animals. In one group, we limited the number of cocaine injections available such that intake was low and escalation was precluded (IntA-Lim). In the second group, the number of injections was not limited and these rats took high and escalating amounts of cocaine (IntA-unLim). However, both groups later showed similar levels of incentive motivation for cocaine (**Fig. 5**). Next, we compared IntA-Lim rats to LgA-rats. LgA-rats had virtually continuous cocaine access during each session, and only LgA-rats escalated their intake, taking ~eightfold more cocaine than IntA-Lim rats. However, the IntA-Lim rats developed greater incentive motivation for cocaine (**Fig. 6**). These findings challenge the assumption that high and escalating levels of cocaine intake are sufficient and necessary to increase the motivation to take the drug (Ahmed and Koob 1998; Hao et al. 2010; Paterson and Markou 2003), at least under IntA-conditions. In agreement with Zimmer et al. (2012), the results also show that compared to continuously high and escalating brain levels of cocaine, intermittently spiking levels more effectively increase incentive motivation to take drug. We compared incentive motivation for cocaine in IntA- and LgA-rats at a single time

point, 1-4 days after the last self-administration session. Incentive motivation for cocaine can change over the withdrawal period (Calipari et al. 2015) and we do not know how IntA- and LgA-rats would compare after different withdrawal times. Nonetheless, our findings suggest that beyond how much drug is taken, the temporal pattern of drug use is decisive in producing change in drug use over time (Allain et al. 2015). In further support of this idea, Deroche et al. (1999) have shown that allowing rats to self-administer cocaine during sessions that include drug-free periods between drug available periods – similar to the procedure used here – produces robust sensitization to the incentive motivational effects of the drug.

IntA and LgA both produced escalation of cocaine intake, but the escalation effect was qualitatively different. IntA-rats escalated their intake *between*, and also *within*, sessions, taking more drug during each consecutive cocaine period (**Fig. 2b**). This was particularly marked at the beginning of each 6-min drug period, when brain cocaine concentrations are low (**Fig. 3**). IntA-rats also showed multiple binge-like episodes of cocaine use (≥ 5 injections/90 s) within each self-administration session, and this effect sensitized over time (**Fig. 3**). Thus, the distinct spiking pattern in brain cocaine concentrations produced by the IntA procedure promotes intermittent episodes of high-frequency drug intake. Such episodes are thought to facilitate the emergence of addiction-like symptoms (Belin et al. 2009; Martin-Garcia et al. 2014).

LgA versus IntA experience could produce escalation via different psychological and neurobiological mechanisms. Kawa et al. (2016) hypothesized that escalation under LgA involves tolerance to the subjective pleasurable effects of the drug [also see (Ahmed 2012; Calipari et al. 2014a; Edwards and Koob 2013)], while escalation under IntA involves sensitization to the incentive motivational effects of drug. Compared to LgA, IntA more effectively produces sensitization of incentive motivation for cocaine [(Zimmer et al. 2012) and present data]. IntA to cocaine also evokes robust psychomotor sensitization, and the degree of psychomotor sensitization predicts subsequent incentive motivation for cocaine in rats with

IntA-experience (Allain et al. 2017). In contrast, psychomotor sensitization is not generally observed following LgA-experience (Ahmed and Cador 2006; Ben-Shahar et al. 2004; Knackstedt and Kalivas 2007). This could depend on when animals are tested, because when LgA-rats are tested after extended abstinence, they can indeed show psychomotor sensitization (Ferrario et al. 2005). LgA- versus IntA-experience also produces opposite effects on dopamine. IntA-rats develop sensitization to cocaine-, methylphenidate-, and methamphetamine-induced inhibition of the dopamine transporter in the nucleus accumbens, while LgA-rats develop tolerance to cocaine's effects at the transporter, at least when tested on the day following the last cocaine self-administration session (Calipari et al. 2014b; Calipari et al. 2013). This agrees with evidence that injecting rats intermittently with cocaine evokes sensitization of the drug's effects on dopamine reuptake, while exposing rats to cocaine continuously promotes tolerance (Izenwasser and Cox 1990; 1992; Post 1980).

Our findings concord with others showing that addiction-relevant symptoms can develop without escalation of intake. For instance, cocaine self-administration under either IntA or LgA conditions without escalation can still increase incentive motivation for the drug (Bouayad-Gervais et al. 2014; Kippin et al. 2006; Minogianis et al. 2013; Zimmer et al. 2012). Similarly, short-access sessions (ShA; continuous drug access for 1-3 h/session) often produce stable levels of drug intake, but they can evoke both psychomotor sensitization and sensitized drug-induced dopamine release, particularly after an abstinence period (Hooks et al. 1994). Even in animals given prolonged access to cocaine (>month), the amount of drug taken does not predict the later susceptibility to addiction-relevant behaviors (Belin et al. 2009; Deroche-Gamonet et al. 2004). In fact, taking too much cocaine can prevent sensitization to the incentive motivational effects of the drug (Li et al. 1994; Morgan et al. 2006; Morgan et al. 2005; Roberts et al. 2002), perhaps by evoking tolerance-related neuroadaptations (Calipari et al. 2013). As such, while taking high and escalating levels of drug is a diagnostic criterion for drug addiction (APA 2013), escalation might be a consequence, rather than a cause in the transition to addiction. If this is true, it has strong implications for modeling in animals the

changes in brain and psychological function that promote the transition from casual drug use to addiction.

5. Conclusions

In summary, using an IntA drug self-administration procedure, the present results show that high and escalating levels of cocaine intake are neither sufficient nor necessary to produce increased incentive motivation for the drug. This questions the idea that “*The continued use of intake escalation models will (...) reveal the most suitable strategies for therapeutic intervention*” (Edwards and Koob 2013). IntA cocaine self-administration experience most effectively produces addiction-relevant behaviors. This includes binge-like, high-frequency drug use, robust psychomotor sensitization, increased incentive motivation for drug [(Allain et al. 2017; Kawa et al. 2016; Zimmer et al. 2011; Zimmer et al. 2012) and present data], a progressive decrease in the elasticity of the cocaine demand curve, a progressive increase in the willingness to work for cocaine despite an adverse consequence, and greater cue-induced reinstatement of cocaine-seeking behavior than usually seen in LgA-rats (Kawa et al. 2016). The IntA procedure might also more closely model how human addicts take cocaine (Beveridge et al. 2012). Yet, IntA leads to much less drug intake than LgA. In addition, IntA versus LgA-experience can produce different – even opposite – effects on dopamine neurotransmission (Calipari et al. 2013). Together, this literature and the present findings challenge long-held beliefs about what constitutes a good animal model of drug addiction. Given this, there must be further investigations to determine which model is more useful in producing the neuroadaptations that underlie the transition to addiction (Kawa et al. 2016).

Acknowledgments

We are thankful to Dr. David C. S. Roberts for the scientific inspiration leading to this work and to Dr. Terry E. Robinson for wise comments on this manuscript.

Author contributions

F.A performed research and analyzed the data. F.A and A.N.S designed the research and wrote the paper. F.A and K.B.G wrote and tested the computer code needed to apply the IntA drug self-administration procedure to the operant conditioning cages in the laboratory.

Funding

This work was supported by grants to A.N.S from the Canadian Foundation for Innovation (grant number 24326) and the Canadian Institutes of Health Research (grant number 157572). A.N.S is supported by a salary grant from the Fonds de Recherche du Québec – Santé (grant number 28988). F.A is supported by a PhD fellowship from the Groupe de Recherche sur le Système Nerveux Central. A.N.S is a consultant for Nektar Therapeutics.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest

The authors declare that they have no conflicts of interest.

RÉFÉRENCES CHAPITRE III

- Ahmed S. H. (2012) The science of making drug-addicted animals. *Neuroscience* 211: 107-125.
- Ahmed S. H., Cador M. (2006) Dissociation of psychomotor sensitization from compulsive cocaine consumption. *Neuropsychopharmacology* 31: 563-571.
- Ahmed S. H., Koob G. F. (1998) Transition from moderate to excessive drug intake: change in hedonic set point. *Science* 282: 298-300.
- Ahmed S. H., Koob G. F. (1999) Long-lasting increase in the set point for cocaine self-administration after escalation in rats. *Psychopharmacology* 146: 303-312.
- Allain F., Minogianis E. A., Roberts D. C., Samaha A. N. (2015) How fast and how often: The pharmacokinetics of drug use are decisive in addiction. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 56: 166-179.
- Allain F., Roberts D. C., Levesque D., Samaha A. N. (2017) Intermittent intake of rapid cocaine injections promotes robust psychomotor sensitization, increased incentive motivation for the drug and mGlu2/3 receptor dysregulation. *Neuropharmacology* 117: 227-237.
- APA (2013) *DSM V Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders* American Psychiatric Association.
- Becker J. B. (2016) Sex differences in addiction. *Dialogues in Clinical Neuroscience* 18: 395-402.
- Belin D., Balado E., Piazza P. V., Deroche-Gamonet V. (2009) Pattern of intake and drug craving predict the development of cocaine addiction-like behavior in rats. *Biological Psychiatry* 65: 863-868.
- Ben-Shahar O., Ahmed S. H., Koob G. F., Ettenberg A. (2004) The transition from controlled to compulsive drug use is associated with a loss of sensitization. *Brain Research* 995: 46-54.
- Beveridge T. J. R., Wray P., Brewer A., Shapiro B., Mahoney J. J., Newton T. F. (2012) Analyzing human cocaine use patterns to inform animal addiction model development. Published abstract for the College on Problems of Drug Dependence Annual Meeting, Palm Springs, CA.
- Bouayad-Gervais K., Minogianis E. A., Levesque D., Samaha A. N. (2014) The self-administration of rapidly delivered cocaine promotes increased motivation to take

the drug: contributions of prior levels of operant responding and cocaine intake. *Psychopharmacology* 231: 4241-4252.

Bozarth M. A., Wise R. A. (1985) Toxicity associated with long-term intravenous heroin and cocaine self-administration in the rat. *JAMA* 254: 81-83.

Briand L. A., Flagel S. B., Garcia-Fuster M. J., Watson S. J., Akil H., Sarter M., Robinson T. E. (2008) Persistent alterations in cognitive function and prefrontal dopamine D2 receptors following extended, but not limited, access to self-administered cocaine. *Neuropsychopharmacology* 33: 2969-2980.

Calipari E. S., Ferris M. J., Jones S. R. (2014a) Extended access of cocaine self-administration results in tolerance to the dopamine-elevating and locomotor-stimulating effects of cocaine. *Journal of Neurochemistry* 128: 224-232.

Calipari E. S., Ferris M. J., Siciliano C. A., Zimmer B. A., Jones S. R. (2014b) Intermittent cocaine self-administration produces sensitization of stimulant effects at the dopamine transporter. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 349: 192-198.

Calipari E. S., Ferris M. J., Zimmer B. A., Roberts D. C., Jones S. R. (2013) Temporal pattern of cocaine intake determines tolerance vs sensitization of cocaine effects at the dopamine transporter. *Neuropsychopharmacology* 38: 2385-2392.

Calipari E. S., Siciliano C. A., Zimmer B. A., Jones S. R. (2015) Brief intermittent cocaine self-administration and abstinence sensitizes cocaine effects on the dopamine transporter and increases drug seeking. *Neuropsychopharmacology* 40: 728-735.

Deroche V., Le Moal M., Piazza P. V. (1999) Cocaine self-administration increases the incentive motivational properties of the drug in rats. *European Journal of Neuroscience* 11: 2731-2736.

Deroche-Gamonet V., Belin D., Piazza P. V. (2004) Evidence for addiction-like behavior in the rat. *Science* 305: 1014-1017.

Edwards S., Koob G. F. (2013) Escalation of drug self-administration as a hallmark of persistent addiction liability. *Behavioural Pharmacology* 24: 356-362.

Ferrario C. R., Gorny G., Crombag H. S., Li Y., Kolb B., Robinson T. E. (2005) Neural and behavioral plasticity associated with the transition from controlled to escalated cocaine use. *Biological Psychiatry* 58: 751-759.

Fitch T. E., Roberts D. C. (1993) The effects of dose and access restrictions on the periodicity of cocaine self-administration in the rat. *Drug and Alcohol Dependence* 33: 119-128.

- Gawin F. H., Kleber H. D. (1986) Abstinence symptomatology and psychiatric diagnosis in cocaine abusers. Clinical observations. *Archives of General Psychiatry* 43: 107-113.
- George O., Mandyam C. D., Wee S., Koob G. F. (2008) Extended access to cocaine self-administration produces long-lasting prefrontal cortex-dependent working memory impairments. *Neuropsychopharmacology* 33: 2474-2482.
- Hao Y., Martin-Fardon R., Weiss F. (2010) Behavioral and functional evidence of metabotropic glutamate receptor 2/3 and metabotropic glutamate receptor 5 dysregulation in cocaine-escalated rats: factor in the transition to dependence. *Biological Psychiatry* 68: 240-248.
- Hooks M. S., Duffy P., Striplin C., Kalivas P. W. (1994) Behavioral and neurochemical sensitization following cocaine self-administration. *Psychopharmacology* 115: 265-272.
- Izenwasser S., Cox B. M. (1990) Daily cocaine treatment produces a persistent reduction of [3H]dopamine uptake in vitro in rat nucleus accumbens but not in striatum. *Brain Research* 531: 338-341.
- Izenwasser S., Cox B. M. (1992) Inhibition of dopamine uptake by cocaine and nicotine: tolerance to chronic treatments. *Brain Research* 573: 119-125.
- Kawa A. B., Bentzley B. S., Robinson T. E. (2016) Less is more: prolonged intermittent access cocaine self-administration produces incentive-sensitization and addiction-like behavior. *Psychopharmacology* 233: 3587-3602.
- Kippin T. E., Fuchs R. A., See R. E. (2006) Contributions of prolonged contingent and noncontingent cocaine exposure to enhanced reinstatement of cocaine seeking in rats. *Psychopharmacology* 187: 60-67.
- Knackstedt L. A., Kalivas P. W. (2007) Extended access to cocaine self-administration enhances drug-primed reinstatement but not behavioral sensitization. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 322: 1103-1109.
- Li D. H., Depoortere R. Y., Emmett-Oglesby M. W. (1994) Tolerance to the reinforcing effects of cocaine in a progressive ratio paradigm. *Psychopharmacology* 116: 326-332.
- Martin-Garcia E., Courtin J., Renault P., Fiancette J. F., Wurtz H., Simonnet A., Levet F., Herry C., Deroche-Gamonet V. (2014) Frequency of cocaine self-administration influences drug seeking in the rat: optogenetic evidence for a role of the prelimbic cortex. *Neuropsychopharmacology* 39: 2317-2330.

- Minogianis E. A., Levesque D., Samaha A. N. (2013) The speed of cocaine delivery determines the subsequent motivation to self-administer the drug. *Neuropsychopharmacology* 38: 2644-2656.
- Morgan D., Liu Y., Roberts D. C. (2006) Rapid and persistent sensitization to the reinforcing effects of cocaine. *Neuropsychopharmacology* 31: 121-128.
- Morgan D., Smith M. A., Roberts D. C. (2005) Binge self-administration and deprivation produces sensitization to the reinforcing effects of cocaine in rats. *Psychopharmacology* 178: 309-316.
- Nicola S. M., Deadwyler S. A. (2000) Firing rate of nucleus accumbens neurons is dopamine-dependent and reflects the timing of cocaine-seeking behavior in rats on a progressive ratio schedule of reinforcement. *Journal of Neuroscience* 20: 5526-5537.
- Pan H. T., Menacherry S., Justice J. B., Jr. (1991) Differences in the pharmacokinetics of cocaine in naive and cocaine-experienced rats. *Journal of Neurochemistry* 56: 1299-1306.
- Paterson N. E., Markou A. (2003) Increased motivation for self-administered cocaine after escalated cocaine intake. *Neuroreport* 14: 2229-2232.
- Pitchers K. K., Wood T. R., Skrzynski C. J., Robinson T. E., Sarter M. (2017) The ability for cocaine and cocaine-associated cues to compete for attention. *Behavioural Brain Research* 320: 302-315.
- Post R. M. (1980) Intermittent versus continuous stimulation: effect of time interval on the development of sensitization or tolerance. *Life Sciences* 26: 1275-1282.
- Richardson N. R., Roberts D. C. (1996) Progressive ratio schedules in drug self-administration studies in rats: a method to evaluate reinforcing efficacy. *Journal of Neuroscience Methods* 66: 1-11.
- Roberts D. C., Brebner K., Vincler M., Lynch W. J. (2002) Patterns of cocaine self-administration in rats produced by various access conditions under a discrete trials procedure. *Drug and Alcohol Dependence* 67: 291-299.
- Samaha A. N., Li Y., Robinson T. E. (2002) The rate of intravenous cocaine administration determines susceptibility to sensitization. *Journal of Neuroscience* 22: 3244-3250.
- Samaha A. N., Minogianis E. A., Nachar W. (2011) Cues paired with either rapid or slower self-administered cocaine injections acquire similar conditioned rewarding properties. *PLoS One* 6: e26481.

- Shou M., Ferrario C. R., Schultz K. N., Robinson T. E., Kennedy R. T. (2006) Monitoring dopamine in vivo by microdialysis sampling and on-line CE-laser-induced fluorescence. *Analytical Chemistry* 78: 6717-6725.
- Siciliano C. A., Jones S. R. (2017) Cocaine Potency at the Dopamine Transporter Tracks Discrete Motivational States During Cocaine Self-Administration. *Neuropsychopharmacology* 42: 1893-1904.
- Simon S. L., Richardson K., Dacey J., Glynn S., Domier C. P., Rawson R. A., Ling W. (2002) A comparison of patterns of methamphetamine and cocaine use. *Journal of Addictive Diseases* 21: 35-44.
- Vanderschuren L. J., Everitt B. J. (2004) Drug seeking becomes compulsive after prolonged cocaine self-administration. *Science* 305: 1017-1019.
- Ward A. S., Haney M., Fischman M. W., Foltin R. W. (1997) Binge cocaine self-administration in humans: intravenous cocaine. *Psychopharmacology* 132: 375-381.
- Weeks J. R. (1962) Experimental morphine addiction: method for automatic intravenous injections in unrestrained rats. *Science* 138: 143-144.
- Wise R. A., Newton P., Leeb K., Burnette B., Pocock D., Justice J. B., Jr. (1995) Fluctuations in nucleus accumbens dopamine concentration during intravenous cocaine self-administration in rats. *Psychopharmacology* 120: 10-20.
- Zimmer B. A., Dobrin C. V., Roberts D. C. (2011) Brain-cocaine concentrations determine the dose self-administered by rats on a novel behaviorally dependent dosing schedule. *Neuropsychopharmacology* 36: 2741-2749.
- Zimmer B. A., Oleson E. B., Roberts D. C. (2012) The motivation to self-administer is increased after a history of spiking brain levels of cocaine. *Neuropsychopharmacology* 37: 1901-1910.

CHAPITRE IV

Article 3

**REVISITING LONG-ACCESS VERSUS SHORT-ACCESS COCAINE SELF-
ADMINISTRATION IN RATS: INTERMITTENT INTAKE PROMOTES ADDICTION
SYMPTOMS INDEPENDENT OF SESSION LENGTH**

Running head: Cocaine intake and outcome

Florence Allain, M.Sc.^a and Anne-Noël Samaha, PhD*^{a, b}

^aDepartment of Pharmacology and Physiology, Faculty of Medicine, Université de Montréal,
Montreal, QC, H3C 3J7, Canada; ^bCNS Research Group, Faculty of Medicine, Université de
Montréal, Montreal, QC, H3C 3J7, Canada

*Corresponding Author:
Anne-Noël Samaha
Department of Pharmacology and Physiology
Université de Montréal
C.P. 6128, Succursale Centre-ville
Montreal, Quebec
H3C 3J7
Canada
Tel: 514 343 6111 x. 32788
Fax: 514 343 2291
anna.samaha@umontreal.ca

Ce manuscrit a été publié dans Addiction Biology, ePub, doi : 10.1111/adb.12629, Juin 2018.

Abstract

In rats, continuous cocaine access during long self-administration sessions (6 versus 1-2 hours) promotes the development of behavioral symptoms of addiction. This has led to the assumption that taking large amounts of drug during extended daily bouts is necessary to develop an addiction phenotype. Recent work shows that within-session intermittent access (IntA) to cocaine produces much less drug intake than continuous-access procedures (i.e., long-access sessions), but evokes addiction symptoms more effectively. IntA-sessions are also long, typically lasting 6 hours. It is not known whether IntA-sessions must be extended to promote addiction-relevant changes in drug use over time. Here we determined the influence of IntA-session length on patterns of cocaine use relevant to addiction. Two groups of male Wistar rats self-administered cocaine (0.25 mg/kg/injection, injected over 5 seconds) during 18 daily IntA-sessions. One group had long 6-hour sessions (Long-IntA), the other group had shorter, 2-hour sessions (Short-IntA). Only Long-IntA rats escalated their cocaine intake over sessions, but both groups developed a burst-like pattern of drug use over time and similar levels of psychomotor sensitization. The two groups also showed robust and similar levels of both responding for cocaine under a progressive ratio schedule of reinforcement and cocaine-induced reinstatement of extinguished drug-seeking behavior. In summary, long IntA-sessions lead to greater cocaine intake than shorter IntA-sessions, but the two conditions are equally effective in evoking the patterns of drug-taking and drug-seeking that define addiction. This suggests that chronic intermittent cocaine use, even during short daily bouts, is sufficient to promote addiction symptoms.

Keywords: Burst-like intake; Drug-induced reinstatement; Intermittent access to cocaine; Progressive ratio; Psychomotor sensitization; Session duration.

1. Introduction

Drug addiction is a gradual process whereby vulnerable users progress from recreational to pathological drug use (Gawin, 1991). A challenge in addiction research is to model this transition in animals, such that changes in drug self-administration behavior are seen over time (Roberts et al., 2007). Currently, a commonly used model involves giving rats continuous access to drug during long, 6-hour self-administration sessions [Long-access, or LgA-sessions; (Ahmed and Koob, 1998)]. Relative to shorter daily sessions (typically 1-2 hours), LgA can promote robust escalation of cocaine intake over time (Ahmed and Koob, 1998, 1999; Mantsch et al., 2004; Hao et al., 2010; Bouayad-Gervais et al., 2014; Mandt et al., 2015), increased motivation to obtain cocaine (Paterson and Markou, 2003; Hao et al., 2010) and greater susceptibility to cocaine-induced relapse after abstinence (Mantsch et al., 2004; Knackstedt and Kalivas, 2007). Such findings have led to the proposal that taking large amounts of drug continuously during extended sessions is necessary to develop behavioral symptoms of addiction (Ahmed and Koob, 1998; Ahmed, 2012; Edwards and Koob, 2013).

Recent work has begun to challenge this belief. Zimmer et al. (2011) developed an intermittent-access (IntA) drug self-administration procedure in animals. Similar to LgA-sessions, IntA-sessions are also extended, lasting 4-6 h. However, in contrast to LgA where access to drug is continuous within sessions, IntA gives animals access to drug during 5-minute periods intercalated with 25-minute no-drug periods. This achieves peaks and troughs in brain cocaine concentrations during each daily session, in contrast to the continuously high concentrations achieved during LgA-sessions (Zimmer et al., 2012). This distinction is important, as human cocaine addicts also appear to take cocaine intermittently within a bout of consumption [(Beveridge et al., 2012); See Allain et al. (2015) for review], and this would presumably achieve a spiking pattern in brain cocaine concentrations (Zimmer et al., 2011). In further support of this idea, cocaine users can also experience several episodes of euphoria within a bout of intake (Gawin, 1991) – suggesting that cocaine levels in blood/brain rise and fall within such bouts. However, systematic studies on the temporal pattern with which human

addicts take cocaine during a bout of intoxication are lacking. Such work is needed to inform drug self-administration procedures in laboratory animals. It is also important to note that while cocaine addicts might voluntarily consume the drug intermittently within a bout of intoxication, the IntA procedure imposes an intermittent pattern of cocaine self-administration on rats.

These issues notwithstanding, comparing IntA- to LgA-rats has produced surprising findings. Just like LgA-rats, IntA-rats can also significantly escalate their drug intake over time (Kawa et al., 2016; Pitchers et al., 2017; Allain et al., 2018). However, although IntA-rats take much less cocaine than LgA-rats, IntA-rats develop greater incentive motivation for the drug, as measured either by responding for the drug under a progressive ratio schedule of reinforcement or using behavioral economics procedures (Zimmer et al., 2012; Allain et al., 2018). IntA-rats also show a progressive decrease in the elasticity of the cocaine demand curve, a gradual increase in the willingness to work for cocaine despite an adverse consequence, and stronger cue-induced reinstatement of cocaine-seeking behavior than generally seen in LgA-rats (Kawa et al., 2016). In addition, IntA-rats develop a burst-like pattern of cocaine use, as indicated by multiple episodes of high-frequency intake during each session, where rats load up on cocaine each time the drug becomes available again (Allain et al., 2018). Such burst-like cocaine use is thought to facilitate the development of addiction (Belin et al., 2009; Martin-Garcia et al., 2014). Because drug access is continuous during an LgA-session, brain cocaine concentrations would remain high (Zimmer et al., 2012; Allain et al., 2018) and this would likely not evoke repeated episodes of burst-like drug use within the session. However, at this stage, this prediction remains speculative, as the within-session pattern of cocaine intake in LgA-rats has not been studied systematically. Finally, IntA-rats are sensitized to cocaine-, methylphenidate- and methamphetamine-induced blockade of the dopamine transporter in the nucleus accumbens, while LgA-rats show tolerance to cocaine-induced inhibition of the transporter (Calipari et al., 2013; Calipari et al., 2014). Thus, IntA to cocaine more effectively induces the changes in brain and behavior that are relevant to addiction.

Similar to the LgA procedure, IntA also involves long daily sessions (4-6 h), but it is not known whether this is necessary to produce addiction-relevant patterns of drug use. To our knowledge, no one has assessed the influence of session length using the IntA procedure. However, there is evidence that even very brief exposure to IntA cocaine self-administration (as little as three 6-h sessions) can produce sensitization to both the incentive motivational effects of cocaine as measured using behavioral economics indices, and the drug's effects at the dopamine transporter (Calipari et al., 2015). Here, we sought to determine the influence of IntA-session length on outcome. This is important because it has implications for modelling in animals the changes in brain and psychological function that underlie the progression from recreational drug use to drug addiction. We compared two groups of rats allowed to self-administer cocaine during IntA-sessions. One group had 6-h IntA-sessions (Long-IntA) while the second group had 2-h IntA-sessions (Short-IntA). We compared changes in the response to cocaine following chronic self-administration of the drug. We assessed escalation of intake, the emergence of a burst-like pattern of drug use, the development of psychomotor sensitization, the motivation to take cocaine under a progressive ratio schedule of drug reinforcement, and the vulnerability to cocaine-induced reinstatement of extinguished drug-seeking after abstinence. If session length is a critical factor in the development of an addiction phenotype, then Long-IntA rats should preferentially show these behavioral changes compared to Short-IntA rats.

2. Materials and methods

2.1 Animals

Male Wistar rats (n = 27, 225-250 g; Charles River Laboratories, St Constant, QC) were housed individually under a reverse 12 hours-12 hours dark-light cycle (Lights off at 8:30 a.m.) in a temperature- and humidity-controlled room. After 4-5 days of habituation to the animal colony, rats were implanted with a catheter into the jugular vein, as described previously (Samaha et al., 2011). Water was available ad libitum and food was restricted to 25 g/day. The

animal ethics committee of the Université de Montréal approved all procedures involving rats, and these followed the guidelines of the Canadian Council on Animal Care.

2.2 Acquisition of food and cocaine self-administration

Figure 1 illustrates the experimental design. All behavioral testing took place during the dark phase of the rats' circadian cycle. After 3-4 days of recovery from surgery, rats were placed in standard operant cages (Med Associates, St Albans, VT) and trained to press a lever to self-administer 45-mg, banana-flavored, grain-based food pellets (VWR, Town of Mount-Royal, QC) in daily 1-hour sessions, under a fixed ratio 3 schedule of reinforcement (FR3, three lever presses give one food pellet). This was done to hasten the acquisition of the lever-pressing response, and thus decrease the time needed to later learn to self-administer cocaine. The house-light was illuminated at the beginning of each test session and was turned off when the session ended. Rats had access to an active and an inactive lever. Pressing the active lever was reinforced with a food pellet. Pressing the inactive lever had no programmed consequences. When rats showed reliable lever-pressing for food (>25 pellets/session, on two consecutive sessions), food pellets were substituted with intravenous (i.v.) injections of 0.25-mg/kg cocaine, delivered over 5 seconds. Each cocaine injection was followed by a 20-second timeout period. During each drug injection and timeout period, both levers were retracted and the cue light above the active lever was illuminated. Rats that self-administered at least six cocaine injections at regular intervals on two consecutive days and pressed ≥ 2 times more on the active versus inactive lever were assigned to one of two groups. All rats took an average of 4 days (3-7 days) to meet these criteria. Group assignment was made such that number of self-administered cocaine injections and number of lever presses were similar in both groups. Both groups were now given 18 daily IntA-sessions. One group had 2-hour sessions (Short-IntA rats) and the other group had 6-hour sessions (Long-IntA rats).

Catheter patency was checked after the last IntA-session and after the last PR-session by giving rats i.v. Propofol (1 mg per 0.1 ml, CDMV, St-Hyacinthe, QC). All rats became ataxic

after this injection. Three rats were excluded during cocaine training because they did not meet acquisition criteria after one week. Two Short-IntA rats and one Long-IntA rat were excluded from the experiment because they did not reliably self-administer cocaine during IntA-sessions (taking on average 0-1 injection/5-minute drug period throughout the 18 IntA-sessions).

2.3 Intermittent access to cocaine

During IntA-sessions (Zimmer et al., 2011; Zimmer et al., 2012; Allain et al., 2017; Allain et al., 2018), Short-IntA and Long-IntA rats could self-administer cocaine (0.25-mg/kg/inj, injected over 5 seconds) during 5-minute periods, followed by 25-minute no-cocaine periods, during which both levers were retracted and no cocaine was available. During each 5-minute drug period, cocaine was available under FR3, and there was no timeout period after each drug injection. Our prior work shows that under these conditions, Long-IntA rats develop a burst-like pattern of cocaine intake (Allain et al., 2018). Short-IntA rats had *four* 5-minute cocaine periods/session while Long-IntA rats had *twelve* 5-minute cocaine periods/session (**Fig. 3a**). During each IntA-session, we also measured locomotor behavior using 4 infrared photocells, aligned horizontally in each operant cage. Locomotor activity was computed as photocell beam breaks/minute.

We estimated brain cocaine concentrations (C ; in μM) as a function of time ' t ' during the 1st and 18th IntA-sessions in a representative rat from each group using the following formula:

$$C = dA \cdot (e^{-\beta t} - e^{-\alpha t}) \text{ with } A = \frac{k}{v \cdot (\alpha - \beta)}$$

This was done using a mathematical 2-compartment open model for rats treated chronically with intravenous cocaine injections (Pan et al., 1991). ' d ' represents the self-administered cocaine dose per injection ($0.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). ' A ' ($9.63 \mu\text{M} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{kg}$) integrates the rate constant ' k ' for transfer of cocaine from blood to brain, the apparent volume ' v ' of brain distribution and two constants ' α ' (0.6419 min^{-1}) and ' β ' (0.0971 min^{-1}) that account for

removal of cocaine from the system via redistribution or elimination. Finally, ‘*t*’ is the time in minutes since the last cocaine injection. Dr. David C. S. Roberts generously provided the Python script used to model brain cocaine concentrations.

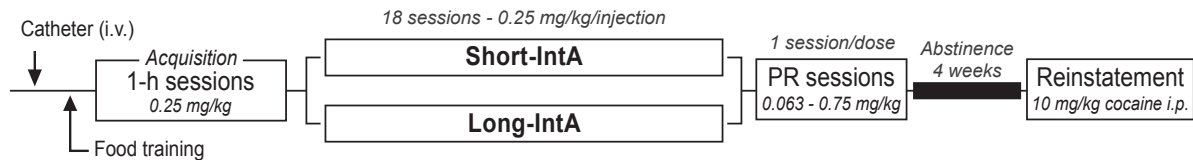


Fig. 1. The sequence of experimental events. Following the acquisition of operant responding first for food pellets and then for cocaine (0.25 mg/kg/inj), two groups of rats were allowed to self-administer cocaine (0.25 mg/kg/inj) during 18 intermittent-access sessions (IntA). Sessions lasted 2 hours in one group (Short-IntA) and 6 hours in the other group (Long-IntA). During each IntA-session, cocaine was available for 5-minute periods, separated by 25-minute no-cocaine periods. Next, breakpoints for cocaine were assessed under a progressive ratio (PR) schedule of reinforcement. Finally, after 1 month of abstinence from cocaine, we assessed cocaine- (10 mg/kg, i.p.) induced reinstatement of extinguished cocaine-seeking behavior.

2.4 Progressive ratio and cocaine-induced reinstatement of extinguished drug-seeking

After 18 IntA-sessions, rats were kept in their home cages for 4 days. The rats were then tested under a progressive ratio (PR) schedule of drug reinforcement to assess incentive motivation for cocaine (0.063, 0.125, 0.25 and 0.75 mg/kg/inj; one day/dose; tested in counterbalanced order save for the highest dose which was tested last). To remain constant with previous work (Allain et al., 2017; Allain et al., 2018), we used a standard PR procedure, where both levers are present in the cage throughout the session, except during each 5-second injection (Richardson and Roberts, 1996). Under PR, the number of active lever presses required to obtain each successive injection increased exponentially according to the following formula:

$$5 \times e^{(\text{number of injection} \times 0.2)} - 5 \text{ (Richardson and Roberts 1996)}$$

PR-sessions lasted 5 h or stopped after 1 h of no drug intake. The last ratio reached is the breakpoint and it is used as an index of the motivation for cocaine. After the last PR-session, rats were kept in their home cages for four weeks and were handled regularly. Then, cocaine-induced reinstatement of extinguished cocaine-seeking behavior was assessed. Rats received

a 6-hour extinction session immediately followed by a 2-hour cocaine-induced reinstatement session. During these sessions, both levers were present in the test cage but lever-pressing produced no cocaine or cocaine cues. Immediately before the 2-hour reinstatement session, rats received 10 mg/kg cocaine i.p.

2.5 Data analysis

Group differences in cocaine intake over IntA-sessions was analyzed using 2-way repeated-measures ANOVA (Group x IntA-session, the latter as a within-subjects variable). Cumulative cocaine intake was compared between groups with an unpaired *t*-test. The number of episodes of burst-like intake (≥ 3 self-administered injections/minute) during each minute of the 5-minute cocaine periods was further analyzed using 2-way repeated-measures ANOVA (1-minute bin x IntA-session, both as within-subjects variables) and 1-way repeated-measures ANOVA (changes within each 1-minute bin, across IntA-sessions). Locomotor activity was compared between IntA-sessions 1 and 18 using 2-way repeated-measures ANOVA (Session x Time, both as within-subjects variables; Group x Time, the latter as a within-subjects variable). Breakpoints for cocaine achieved under PR were analyzed using 2-way repeated-measures ANOVA (Group x Dose of cocaine, the latter as a within-subjects variable). Three-way repeated-measures ANOVAs were used to both analyze lever-pressing behavior during extinction (Group x Lever type x Hour, the latter two as within-subjects variables) and to compare lever-pressing during extinction versus reinstatement (Group x Lever type x Session type, the latter two as within-subjects variables).

3. Results

3.1. Extended intermittent-access sessions (6 hours) promote high and escalating levels of cocaine intake while shorter intermittent-access sessions (2 hours) produce low and stable levels of intake

Figure 2a shows average number of cocaine injections per IntA-session in rats given eighteen 2-hour (Short-IntA, S) or 6-hour (Long-IntA, L) self-administration sessions. Long-

IntA rats self-administered more cocaine injections/session than Short-IntA rats (Main effect of Group, $F_{1, 19} = 6.84$, $p = 0.02$; **Fig. 2a**). The Long-IntA rats also escalated their cocaine intake between IntA-sessions (Main effect of IntA-session, $F_{17, 323} = 2.36$, $P = 0.002$; Group x IntA-session interaction effect, $F_{17, 323} = 1.65$, $P = 0.05$; **Fig. 2a**). From the 17th IntA-session on, Long-IntA rats self-administered more injections than on the 1st IntA-session (Bonferroni's multiple comparisons test, all $P < 0.001$; **Fig. 2a**). In contrast, the Short-IntA rats maintained a stable level of drug intake between sessions (all $P > 0.05$; **Fig. 2a**).

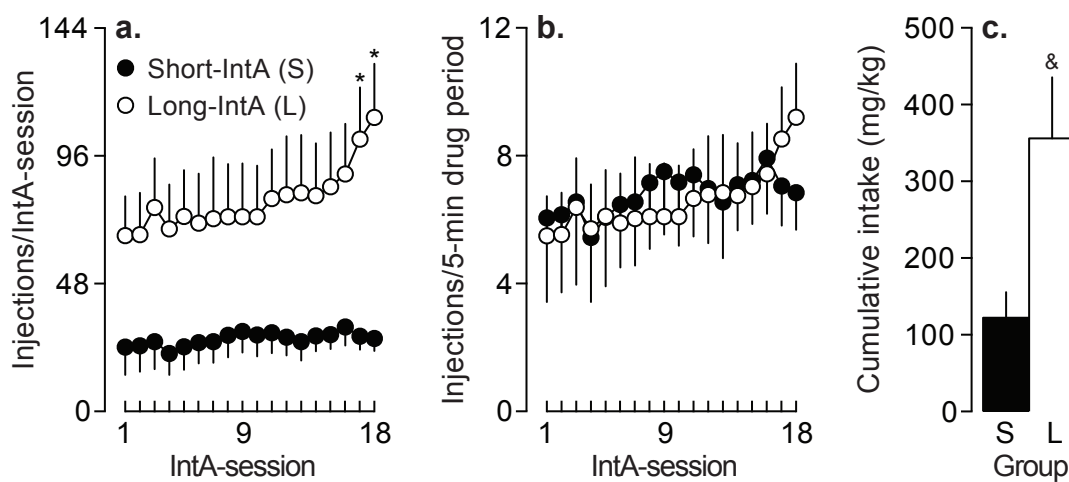


Fig. 2. Extended IntA-sessions (6 hours) promote high and escalating levels of cocaine intake while shorter IntA-sessions (2 hours) produce low and stable levels of intake. (a) Average number of cocaine injections per session and (b) average number of cocaine injections per 5-minute cocaine period. Note that each 2-hour session had four 5-minute cocaine periods, while each 6-hour session had twelve 5-minute cocaine periods. Panel (c) shows cumulative cocaine intake over the 18 IntA-sessions in the two groups. Long-IntA (L) rats escalated their cocaine intake and self-administered threefold more cocaine than Short-IntA (S) rats. * $P < 0.05$, versus first Long-IntA session. & $P < 0.05$, Long-IntA versus Short-IntA rats. Data are mean \pm SEM. $n = 10-11$ /group.

Figure 2b shows average number of injections/5-min drug period. Both groups self-administered a similar average number of injections of cocaine injections/5-minute drug period over the 18 self-administration sessions (Main effect of Group, $F_{1, 19} = 0.007$, $P = 0.93$; **Fig. 2b**). The number of these injections increased over IntA-sessions, and this escalation effect did not significantly vary as a function of group (Main effect of IntA-session, $F_{17, 323} = 2.43$, $P = 0.001$; Group x IntA-session interaction effect, $F_{17, 323} = 1.04$, $P = 0.41$; **Fig. 2b**). Thus, the escalation in overall cocaine intake observed specifically in the Long-IntA rats (**Fig. 2a**) is likely because, compared to Short-IntA rats, Long-IntA rats took slightly (but not significantly) more cocaine

injections during each 5-minute drug phase of the latter IntA-sessions (average number of injections/5-minute drug phase in the 18th IntA-session \pm SEM; Long-IntA rats, 9.2 ± 1.7 ; Short-IntA rats; 6.9 ± 1.2 ; **Fig. 2b**). Finally, Long-IntA rats took 3 times more cocaine than Short-IntA rats over the 18 IntA-sessions ($t_{19} = 2.62$, $P = 0.02$; **Fig. 2c**).

3.2 Rats self-administering cocaine during either extended (6 hours) or shorter (2 hours) intermittent-access sessions develop a burst-like pattern of cocaine use

Figure 3 shows episodes of burst-like cocaine intake in the two experimental groups. These episodes are defined as taking at least 3 injections per 1-minute bin, as adapted from (Belin et al., 2009; Allain et al., 2018). Here, the Long-IntA rats had twelve 5-minute cocaine periods/IntA-session and the Short-IntA rats had four 5-minute cocaine periods/IntA-session (**Fig. 3a**). As described previously in Long-IntA rats (Allain et al., 2018), both the Long-IntA and Short-IntA rats in the present study developed a burst-like pattern of drug use (**Fig. 3b**). To analyze episodes of burst-like intake, each 5-minute cocaine period was split into 1-minute bins. An episode of burst-like intake was counted when a rat took at least 3 cocaine injections within a 1-minute bin (see **Fig. 3b** for data from representative rats). **Figures 3c-l** show the number of episodes of burst-like intake during each minute of the 5-minute drug phases, across the 18 IntA-sessions. **Figures 3c-g** show these data in Long-IntA rats. **Figures 3h-l** show these data in Short-IntA rats. In both groups, episodes of burst-like intake occurred predominantly in the first 1-minute bin of each 5-minute cocaine period (Main effect of 1-minute bin, $F_{4, 40} = 25.98$; **Figs. 3c-g**; $F_{4, 36} = 26.44$; **Figs. 3h-l**; 1-minute bin x IntA-session interaction effect, $F_{68, 680} = 1.96$; **Figs. 3c-g**; $F_{68, 612} = 3.13$; **Figs. 3h-l**; all $P < 0.0001$). In both Long-IntA and Short-IntA rats, the number of episodes of burst-like intake in the first min of each cocaine period also increased significantly between IntA-sessions ($F_{17, 170} = 3.05$; **Fig. 3c**; $F_{17, 153} = 4.57$; **Fig. 3h**; all $P \leq 0.0001$; no other comparisons were significant). In the Long-IntA rats, the number of episodes of burst-like intake on sessions 17-18 was greater than on the 1st IntA-session, and in the Short-IntA rats this effect was seen on sessions 9 and 13-18 (Bonferroni's multiple comparisons tests; All $P < 0.05$, **Figs. 3c,h**).

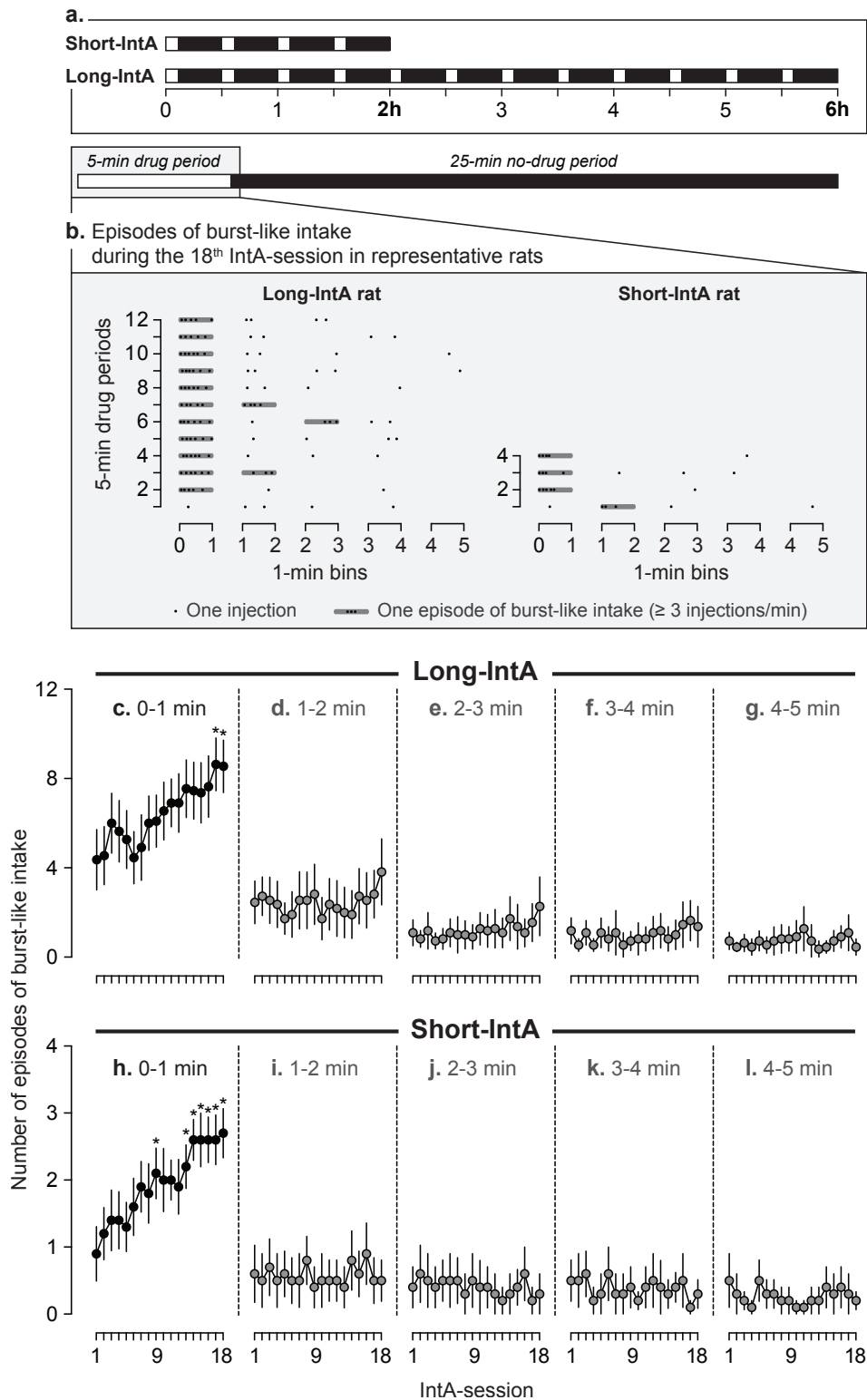


Fig. 3. Rats self-administering cocaine during either extended (6 hours) or shorter (2 hours) IntA-sessions develop a burst-like pattern of cocaine use. (a) During each IntA-session, Long-IntA rats had twelve 5-minute drug periods, while Short-IntA rats had four 5-minute drug periods. Here, the 5-minute cocaine periods within each IntA-session were broken down into five 1-minute bins. **(b)** The pattern of cocaine intake during the 18th IntA-session is shown for a representative rat from each experimental group. Both rats took most of their injections in the first 1-minute bin of each 5-minute drug period. Both rats also showed episodes of burst-like intake (defined as taking ≥ 3 cocaine injections per 1-minute bin), in particular in the first minute of each 5-minute drug period. **(c–g)** and **(h–l)** show the number of episodes of burst-like intake during each minute of the 5-minute drug phases, across the 18 IntA-sessions, in Long-IntA and Short-IntA rats, respectively. * $P < 0.05$, versus first IntA-session. Data are mean \pm SEM. $n = 10$ -11/group.

In summary, both rats given Short-IntA and rats given Long-IntA sessions load up on cocaine at the start of each 5-minute cocaine period – self-administering cocaine at a rapid rate – and this burst-like effect sensitizes across IntA-sessions.

3.3 Rats self-administering cocaine during either extended (6 hours) or shorter (2 hours) intermittent-access sessions show a similar increase in drug-induced locomotion over sessions

Figures 4a,b show the pattern of cocaine intake (top two lines) and estimated brain cocaine concentrations for a representative rat from each group during the 1st and 18th IntA-sessions. In both rats, the IntA protocol produces a spiking pattern of estimated brain cocaine concentrations (Zimmer et al., 2011). Long-IntA rats self-administered more cocaine on the 18th session than on the 1st (Fig. 2a), and estimated brain cocaine concentrations also increased between the two sessions (Fig. 4a). However, Short-IntA rats took similar amounts of cocaine per session over time (Fig. 2a), thus estimated brain cocaine concentrations were similar between the 1st and the 18th sessions in these rats (Fig. 4b).

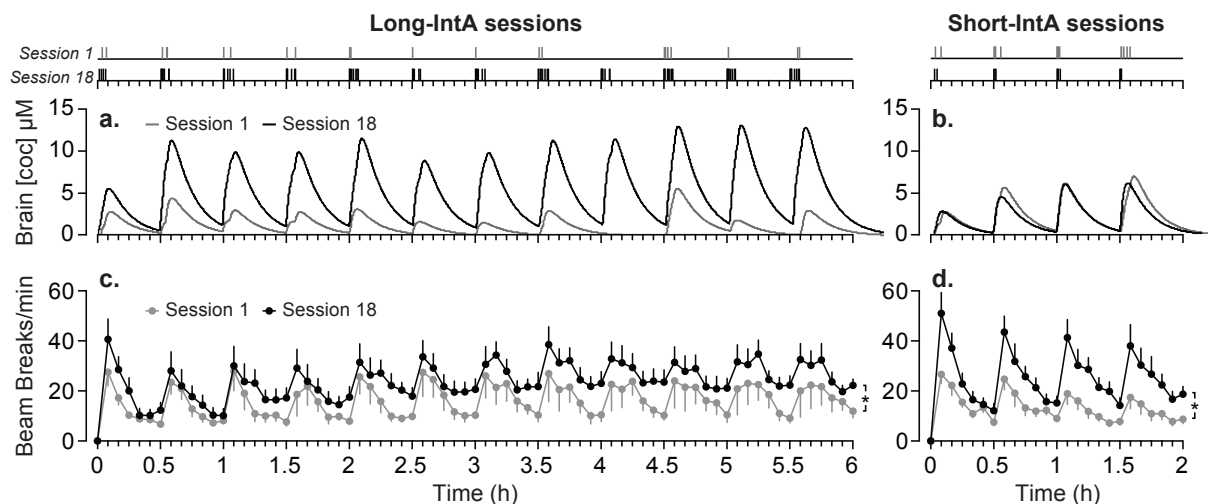


Fig. 4. Rats self-administering cocaine during either extended (6 hours) or shorter (2 hours) IntA-sessions develop robust psychomotor sensitization. (a) and (b) show the pattern of cocaine intake and estimated brain cocaine concentrations as a function of time during the 1st (gray line) and 18th (black line) sessions, in a representative rat from each group. (c) and (d) show locomotor activity per min during the 1st (gray line) and 18th (black line) sessions, in Long-IntA and Short-IntA rats, respectively. * $P < 0.05$, versus first IntA-session. Data are mean \pm SEM. $n = 10-11$ /group.

Although brain cocaine concentrations increased over time in the Long-IntA rats but not in the Short-IntA rats, both groups showed greater cocaine-induced locomotor activity on the 18th session relative to the 1st (Main effect of Day, $F_{1,10} = 5.74$, $P = 0.04$; **Fig. 4c**; $F_{1,9} = 21.07$, $P = 0.001$; **Fig. 4d**). There were no group differences in cocaine-induced locomotor activity on the 1st IntA-session (Main effect of Group for the first 2 hours, $F_{1,19} = 0.0008$, $P = 0.98$; gray lines; **Figs. 4c,d**) or on the 18th IntA-session (Main effect of Group for the first 2 hours, $F_{1,19} = 1.65$, $P = 0.21$; black lines; **Figs. 4c,d**). Thus, the findings suggest that the two groups developed robust and similar levels of psychomotor sensitization to self-administered cocaine.

3.4 Rats that have self-administered cocaine during either extended (6 hours) or shorter (2 hours) intermittent-access sessions show similar levels of responding for cocaine under progressive ratio

While Long-IntA rats self-administered significantly more cocaine than Short-IntA rats during IntA-sessions, operant responding for cocaine under PR was similar in the two groups (Main effect of Group, $F_{1,19} = 0.009$, $P = 0.92$; **Fig. 5a**). Both groups also lever-pressed more for higher doses of cocaine (Main effect of Dose, $F_{3,57} = 23.64$, $P < 0.0001$; Dose x Group interaction effect, $F_{3,57} = 1.92$, $P = 0.14$; **Fig. 5a**). Thus, rats that have previously taken cocaine during Short-IntA or Long-IntA sessions later show equivalent levels of incentive motivation for the drug.

3.5 Rats that have self-administered cocaine during either extended (6 hours) or shorter (2 hours) intermittent-access sessions show similar extinction of lever-pressing behavior

One month after PR testing, lever-pressing behavior was extinguished during a single 6-hour extinction session (**Fig. 5b**). During this session, all rats pressed more on the active than on the inactive lever (Main effect of Lever type, $F_{1,19} = 12.98$, $P = 0.002$; **Fig. 5b**). Lever-pressing behavior also decreased over the extinction session (Main effect of Time, $F_{5,95} = 15.13$, $P < 0.0001$; **Fig. 5b**), and there was a more pronounced decrease in pressing on the active versus the inactive lever (Lever type x Time interaction effect, $F_{5,95} = 11.49$, $P < 0.0001$;

Fig. 5b). There was no effect of group on lever-pressing behavior during the extinction session (Group x Lever type x Time interaction effect, $F_{5, 95} = 0.76$, $P = 0.58$; **Fig. 5b).**

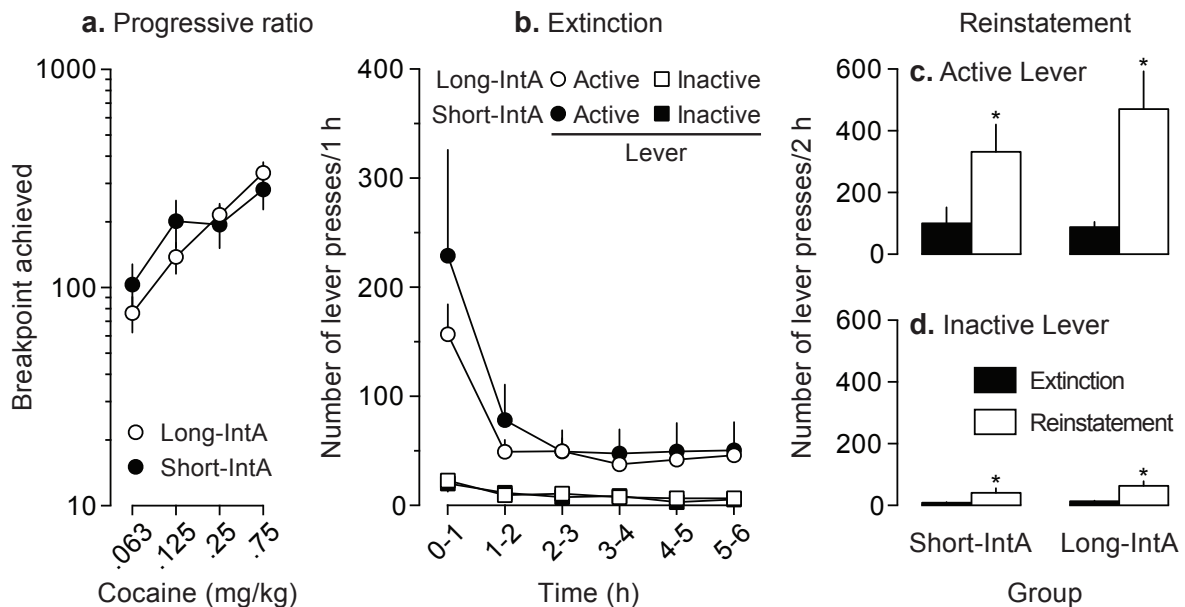


Fig. 5. Rats with a history of self-administering cocaine during either extended (6 hours) or shorter (2 hours) IntA-sessions show (a) similar levels of incentive motivation for the drug and (b,c) similar levels of cocaine-primed reinstatement of extinguished drug-seeking behavior after 1 month of abstinence. In (a), Long-IntA and Short-IntA rats reached similar breakpoints for cocaine under a progressive ratio schedule of reinforcement. In (b), extinction of lever pressing behavior was similar in Long-IntA and Short-IntA rats. In (c), a priming injection of cocaine (10 mg/kg, i.p.) triggered similar levels of reinstatement of extinguished drug-seeking in the two groups. * $P < 0.05$, Main effect of Session type for each lever. Data are mean \pm SEM. $n = 10-11$ /group.

3.6 Rats that have self-administered cocaine during either extended (6 hours) or shorter (2 hours) intermittent-access sessions show similar levels of cocaine-induced reinstatement

Immediately after the extinction session, rats were injected with 10 mg/kg cocaine i.p. and replaced in the operant test cages for a 2-hour reinstatement test. During this test, lever-pressing behavior was quantified but it produced no cocaine or cocaine cues. The i.p. cocaine injection reinstated lever-pressing behavior across the two groups (Main effect of Session type, $F_{1, 19} = 21.23$, $P < 0.0001$; **Figs. 5c,d**), and there were no group differences in this effect (Group x Session type interaction effect, $F_{1, 19} = 1.25$, $P = 0.28$; **Figs. 5c,d**). During this reinstatement session, all rats pressed more on the levers than during the extinction session (Main effect of Session type, $F_{1, 19} = 19.05$, $P = 0.0003$, **Fig. 5c**; $F_{1, 19} = 16.91$, $P = 0.0006$, **Fig. 5d**), but both

groups also pressed more on the active lever than on the inactive lever (2-way ANOVA on the reinstatement session only; Main effect of Lever type, $F_{1,19} = 22.36$, $P = 0.0001$; **Figs. 5c,d**). There were no group differences in this effect (Group x Lever-type x Session type interaction effect, $F_{1,19} = 0.99$, $P = 0.33$; **Figs. 5c,d**). In summary, rats that have previously taken cocaine during Short-IntA or Long-IntA sessions are equally susceptible to cocaine-induced reinstatement of drug-seeking behavior after one month of abstinence, at least at the cocaine dose tested (10 mg/kg, i.p.).

4. Discussion

Here, we assessed the influence of IntA-session length on the development of addiction-like symptoms. We did this by allowing two groups of rats to self-administer cocaine daily during extended (6 hours) or shorter (2 hours) IntA-sessions (Zimmer et al., 2011; Zimmer et al., 2012). During IntA-sessions, cocaine was available for 5-minute periods interspersed with 25-minute no cocaine periods. This produces repeated spikes and troughs in estimated brain cocaine concentrations during each self-administration session [**Figs. 4a,b**; see also (Zimmer et al., 2011; Zimmer et al., 2012)]. Long-IntA rats had *twelve* 5-minute cocaine periods per session, and Short-IntA rats had *four* such cocaine periods per session. Only Long-IntA rats escalated their cocaine use, but both groups transitioned to an increasingly burst-like pattern of drug use, and both also developed robust psychomotor sensitization over time. After eighteen IntA-sessions, the two groups showed similar incentive motivation to take cocaine (**Fig. 5a**). Finally, after one month of abstinence from cocaine, the two groups also showed equivalent levels of cocaine-primed reinstatement of extinguished drug-seeking (**Fig. 5c**).

Our findings have two major implications. First, continuously high and escalating levels of total cocaine intake are not necessary to evoke changes in behavior that are relevant to addiction [see also (Allain et al., 2018)]. Second, when cocaine is taken in an intermittent pattern, even short bouts of intake (2 hours/day) are sufficient to evoke an addiction-like

phenotype. It must be considered that the present findings do not include a group that self-administered cocaine under continuous access conditions (i.e. a non-IntA comparison group). This being said, our results extend prior work showing that quite limited IntA experience is sufficient to see addiction-relevant plasticity. Calipari et al. (2015) showed that exposure to as little as three Long-IntA sessions with a 7-day abstinence period is enough to sensitize animals to both the incentive motivational effects of cocaine and the drug's effects at the dopamine transporter. It appears, therefore, that extended exposure to cocaine and/or escalation of drug use is not necessary to model in animals the changes in brain and psychological function involved in addiction, at least when drug access is intermittent. This idea is also supported by our recent work, showing that high and escalating levels of cocaine intake are neither sufficient nor necessary to increase incentive motivation for the drug (Allain et al., 2018).

The present findings and others (Zimmer et al., 2012; Allain et al., 2018) bring to mind the contentious issue of whether most current drug policies might in some ways promote addiction, as they favor intermittent drug access. Clearly, unrestricted drug access would not be protective. Beyond the immediate consequences on health, extensive research has shown that animals given continuous access during long self-administration sessions do develop patterns of drug use that define addiction (Ahmed and Koob, 1998, 1999; Paterson and Markou, 2003; Mantsch et al., 2004). Instead, our findings provide new ways of thinking about the conditions that are sufficient and/or necessary for laboratory animals, and humans, to show addiction-like behaviors.

Prior work shows that imposing intermittent access to a reward can induce a 'frustration' effect in animals. This has most often been studied with food reward. With intermittent access to food reward, a 'frustration' effect can change the response to the reward itself, whereby animals will later binge on the reward after being exposed to cues that predict it [e.g. (Micioni Di Bonaventura et al., 2014)]. This 'frustration' can also lead to excessive consumption of other, more readily available rewards as a coping strategy [e.g. the schedule-induced

polydipsia phenomenon (Falk et al., 1997)]. One explanation is that intermittent access to a reward produces a physiological/psychological state that results in exaggerated craving for that reward (Roper, 1981). This could involve activation of physiological stress responses (Micioni Di Bonaventura et al., 2014). There is cross-sensitization between the effects of stress and the effects of drugs of abuse (Antelman et al., 1980; Herman et al., 1984; Robinson et al., 1985). As such, stress-related mechanisms could be involved in the ability of intermittent cocaine access to both promote psychomotor sensitization [present findings and Allain et al. (2017)] and evoke greater incentive motivation for the drug than continuous cocaine access (Zimmer et al., 2012; Allain et al., 2018).

Our findings suggest that the development of a burst-like pattern of cocaine use and the escalation of cocaine use over time are dissociable phenomena. The Short-IntA rats maintained stable levels of total cocaine intake between self-administration sessions, but just like Long-IntA rats, Short-IntA rats developed a burst-like pattern of cocaine use. Over time, rats in both groups began taking cocaine at a very rapid rate (≥ 3 injections/min) each time they had access to the drug during IntA-sessions, and this effect sensitized across sessions (**Fig. 3**). That is, regardless of session length, the rats would load up on cocaine when brain levels were low [see also Allain et al. (2018)]. By imposing regular drug-free periods where brain cocaine levels drop, the IntA procedure might promote a recurring pattern of burst-like intake, where rats load up on cocaine each time it becomes available again during the session. Such episodes of high frequency cocaine intake are thought to contribute to the development of addiction (Belin et al., 2009; Martin-Garcia et al., 2014). Interestingly, the Short-IntA rats progressively developed a burst-like pattern of cocaine use, but they did not escalate their total cocaine intake over time (**Fig. 2a**). Thus, the development of burst-like use and escalation of cocaine intake over time might be symptoms of the transition to addiction that can emerge independently. In further support of this, IntA-rats can show recurring episodes of burst-like cocaine intake either with [(Allain et al., 2018) and Long-IntA rats here] or without escalating their total intake over time (Short-IntA rats here).

Both Long-IntA and Short-IntA rats developed robust psychomotor sensitization. Psychomotor sensitization is a long-lasting increase in drug-induced psychomotor activity in response to repeated drug exposure (Robinson and Berridge, 1993). It is thought to reflect changes in the brain that also lead to sensitized drug wanting (Robinson and Berridge, 1993; De Vries et al., 1998; Lorrain et al., 2000). However, in studies using continuous access to cocaine within each self-administration session, psychomotor sensitization and sensitization of drug wanting are often reported as being dissociable effects [(Ben-Shahar et al., 2004; Ben-Shahar et al., 2005; Ahmed and Cador, 2006; Knackstedt and Kalivas, 2007) but see (Ferrario et al., 2005)]. In contrast, IntA-rats develop robust psychomotor sensitization [present findings and (Allain et al., 2017)], and the degree of psychomotor sensitization predicts later incentive motivation for cocaine following IntA experience (Allain et al., 2017). In the present study, the Long-IntA rats escalated their cocaine intake over sessions. This could have contributed to the increase in drug-induced psychomotor activity over IntA-sessions. This being said, we do not believe that the increase in psychomotor activity over time is simply a consequence of increased drug use. The Short-IntA rats also showed robust psychomotor sensitization, even though they maintained stable total levels of cocaine intake between sessions. In addition, we have shown previously that Long-IntA rats prevented from escalating their intake still develop strong psychomotor sensitization (Allain et al., 2017).

5. Conclusion

In summary, rats given IntA to cocaine during either short or longer daily sessions develop an addiction phenotype. This was indicated by the emergence of a burst-like pattern of cocaine use, the development of robust psychomotor sensitization, the willingness to self-administer cocaine in spite of increasing physical costs (as measured under PR), and significant cocaine-primed relapse during abstinence. Both Short-IntA and Long-IntA rats showed these behavioral effects, but only the Long-IntA rats had a history of escalated cocaine use. This suggests that taking high and escalating levels of cocaine is not necessary to change drug use

over time, and that even short daily bouts of intermittent cocaine use are sufficient to evoke forms of neurobehavioral plasticity that are linked to the transition to addiction.

Author contributions

F.A performed the experiments and analyzed the data. F.A and A.N.S designed the experiments and wrote the paper.

Acknowledgements

This work was supported by grants to A.N.S from the Canada Foundation for Innovation (grant number 24326) and the Canadian Institutes of Health Research (grant number 157572). A.N.S is supported by a salary grant from the Fonds de Recherche du Québec – Santé (grant number 28988). F.A is supported by a PhD fellowship from the Groupe de Recherche sur le Système Nerveux Central.

RÉFÉRENCES CHAPITRE IV

- Ahmed S. H. (2012) The science of making drug-addicted animals. *Neuroscience* 211: 107-125.
- Ahmed S. H., Cador M. (2006) Dissociation of psychomotor sensitization from compulsive cocaine consumption. *Neuropsychopharmacology* 31: 563-571.
- Ahmed S. H., Koob G. F. (1998) Transition from moderate to excessive drug intake: change in hedonic set point. *Science* 282: 298-300.
- Ahmed S. H., Koob G. F. (1999) Long-lasting increase in the set point for cocaine self-administration after escalation in rats. *Psychopharmacology* 146: 303-312.
- Allain F., Bouayad-Gervais K., Samaha A. N. (2018) High and escalating levels of cocaine intake are dissociable from subsequent incentive motivation for the drug in rats. *Psychopharmacology* 235: 317-328.
- Allain F., Minogianis E. A., Roberts D. C., Samaha A. N. (2015) How fast and how often: The pharmacokinetics of drug use are decisive in addiction. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 56: 166-179.
- Allain F., Roberts D. C., Levesque D., Samaha A. N. (2017) Intermittent intake of rapid cocaine injections promotes robust psychomotor sensitization, increased incentive motivation for the drug and mGlu2/3 receptor dysregulation. *Neuropharmacology* 117: 227-237.
- Antelman S. M., Eichler A. J., Black C. A., Kocan D. (1980) Interchangeability of stress and amphetamine in sensitization. *Science* 207: 329-331.
- Belin D., Balado E., Piazza P. V., Deroche-Gamonet V. (2009) Pattern of intake and drug craving predict the development of cocaine addiction-like behavior in rats. *Biological Psychiatry* 65: 863-868.
- Ben-Shahar O., Ahmed S. H., Koob G. F., Ettenberg A. (2004) The transition from controlled to compulsive drug use is associated with a loss of sensitization. *Brain Research* 995: 46-54.
- Ben-Shahar O., Moscarello J. M., Jacob B., Roarty M. P., Ettenberg A. (2005) Prolonged daily exposure to i.v. cocaine results in tolerance to its stimulant effects. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 82: 411-416.
- Beveridge T. J. R., Wray P., Brewer A., Shapiro B., Mahoney J. J., Newton T. F. (2012) Analyzing human cocaine use patterns to inform animal addiction model

development. Published abstract for the College on Problems of Drug Dependence Annual Meeting, Palm Springs, CA.

- Bouayad-Gervais K., Minogianis E. A., Levesque D., Samaha A. N. (2014) The self-administration of rapidly delivered cocaine promotes increased motivation to take the drug: contributions of prior levels of operant responding and cocaine intake. *Psychopharmacology* 231: 4241-4252.
- Calipari E. S., Ferris M. J., Siciliano C. A., Zimmer B. A., Jones S. R. (2014) Intermittent cocaine self-administration produces sensitization of stimulant effects at the dopamine transporter. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 349: 192-198.
- Calipari E. S., Ferris M. J., Zimmer B. A., Roberts D. C., Jones S. R. (2013) Temporal pattern of cocaine intake determines tolerance vs sensitization of cocaine effects at the dopamine transporter. *Neuropsychopharmacology* 38: 2385-2392.
- Calipari E. S., Siciliano C. A., Zimmer B. A., Jones S. R. (2015) Brief intermittent cocaine self-administration and abstinence sensitizes cocaine effects on the dopamine transporter and increases drug seeking. *Neuropsychopharmacology* 40: 728-735.
- De Vries T. J., Schoffelmeer A. N., Binnekade R., Mulder A. H., Vanderschuren L. J. (1998) Drug-induced reinstatement of heroin- and cocaine-seeking behaviour following long-term extinction is associated with expression of behavioural sensitization. *European Journal of Neuroscience* 10: 3565-3571.
- Edwards S., Koob G. F. (2013) Escalation of drug self-administration as a hallmark of persistent addiction liability. *Behavioural Pharmacology* 24: 356-362.
- Falk J. L., Neal S. A., Lau C. E. (1997) Schedule induction conditions not only exaggerate intake but also enhance drug solution choice. *Physiology and Behavior* 62: 479-483.
- Ferrario C. R., Gorny G., Crombag H. S., Li Y., Kolb B., Robinson T. E. (2005) Neural and behavioral plasticity associated with the transition from controlled to escalated cocaine use. *Biological Psychiatry* 58: 751-759.
- Gawin F. H. (1991) Cocaine addiction: psychology and neurophysiology. *Science* 251: 1580-1586.
- Hao Y., Martin-Fardon R., Weiss F. (2010) Behavioral and functional evidence of metabotropic glutamate receptor 2/3 and metabotropic glutamate receptor 5 dysregulation in cocaine-escalated rats: factor in the transition to dependence. *Biological Psychiatry* 68: 240-248.

- Herman J. P., Stinus L., Le Moal M. (1984) Repeated stress increases locomotor response to amphetamine. *Psychopharmacology* 84: 431-435.
- Kawa A. B., Bentzley B. S., Robinson T. E. (2016) Less is more: prolonged intermittent access cocaine self-administration produces incentive-sensitization and addiction-like behavior. *Psychopharmacology* 233: 3587-3602.
- Knackstedt L. A., Kalivas P. W. (2007) Extended access to cocaine self-administration enhances drug-primed reinstatement but not behavioral sensitization. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 322: 1103-1109.
- Lorrain D. S., Arnold G. M., Vezina P. (2000) Previous exposure to amphetamine increases incentive to obtain the drug: long-lasting effects revealed by the progressive ratio schedule. *Behavioural Brain Research* 107: 9-19.
- Mandt B. H., Copenhagen L. I., Zahniser N. R., Allen R. M. (2015) Escalation of cocaine consumption in short and long access self-administration procedures. *Drug and Alcohol Dependence* 149: 166-172.
- Mantsch J. R., Yuferov V., Mathieu-Kia A. M., Ho A., Kreek M. J. (2004) Effects of extended access to high versus low cocaine doses on self-administration, cocaine-induced reinstatement and brain mRNA levels in rats. *Psychopharmacology* 175: 26-36.
- Martin-Garcia E., Courtin J., Renault P., Fiancette J. F., Wurtz H., Simonnet A., Levet F., Herry C., Deroche-Gamonet V. (2014) Frequency of cocaine self-administration influences drug seeking in the rat: optogenetic evidence for a role of the prelimbic cortex. *Neuropsychopharmacology* 39: 2317-2330.
- Micioni Di Bonaventura M. V., Ciccocioppo R., Romano A., Bossert J. M., Rice K. C., Ubaldi M., St Laurent R., Gaetani S., Massi M., Shaham Y., Cifani C. (2014) Role of bed nucleus of the stria terminalis corticotrophin-releasing factor receptors in frustration stress-induced binge-like palatable food consumption in female rats with a history of food restriction. *Journal of Neuroscience* 34: 11316-11324.
- Pan H. T., Menacherry S., Justice J. B., Jr. (1991) Differences in the pharmacokinetics of cocaine in naive and cocaine-experienced rats. *Journal of Neurochemistry* 56: 1299-1306.
- Paterson N. E., Markou A. (2003) Increased motivation for self-administered cocaine after escalated cocaine intake. *Neuroreport* 14: 2229-2232.
- Pitchers K. K., Wood T. R., Skrzyński C. J., Robinson T. E., Sarter M. (2017) The ability for cocaine and cocaine-associated cues to compete for attention. *Behavioural Brain Research* 320: 302-315.

- Richardson N. R., Roberts D. C. (1996) Progressive ratio schedules in drug self-administration studies in rats: a method to evaluate reinforcing efficacy. *Journal of Neuroscience Methods* 66: 1-11.
- Roberts D. C., Morgan D., Liu Y. (2007) How to make a rat addicted to cocaine. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 31: 1614-1624.
- Robinson T. E., Angus A. L., Becker J. B. (1985) Sensitization to stress: the enduring effects of prior stress on amphetamine-induced rotational behavior. *Life Sciences* 37: 1039-1042.
- Robinson T. E., Berridge K. C. (1993) The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Research: Brain Research Reviews* 18: 247-291.
- Roper T. J. (1981) What is meant by the term "schedule-induced," and how general is schedule induction? *Animal Learning and Behavior* 9: 433-440.
- Samaha A. N., Minogianis E. A., Nachar W. (2011) Cues paired with either rapid or slower self-administered cocaine injections acquire similar conditioned rewarding properties. *PLoS One* 6: e26481.
- Zimmer B. A., Dobrin C. V., Roberts D. C. (2011) Brain-cocaine concentrations determine the dose self-administered by rats on a novel behaviorally dependent dosing schedule. *Neuropsychopharmacology* 36: 2741-2749.
- Zimmer B. A., Oleson E. B., Roberts D. C. (2012) The motivation to self-administer is increased after a history of spiking brain levels of cocaine. *Neuropsychopharmacology* 37: 1901-1910.

CHAPITRE V

Données non publiées

Les données de l'expérience 1 ont fait l'objet de deux résumés publiés par : *The College on Problems of Drugs Dependence* (Allain and Samaha, 2017a) et *the Canadian Association for Neurosciences* (Allain and Samaha, 2017b).

**CONTINUOUS D-AMPHETAMINE TREATMENT DURING INTERMITTENT COCAINE
INTAKE REDUCES ADDICTION-LIKE BEHAVIORS IN RATS AND PREVENTS
SENSITIZED COCAINE RESPONSE AT THE DOPAMINE TRANSPORTER**

Florence Allain, Ph.D. ^a, Benoît Delignat-Lavaud, M.Sc. ^b, Marie-Pierre Beaudoin ^b, Vincent Jacquemet, Ph.D. ^{a, c}, Louis-Eric Trudeau, Ph.D. ^{a, b, d} and Anne-Noël Samaha, Ph.D. * ^{a, d}

^aDepartment of Pharmacology and Physiology, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, QC, H3C 3J7, Canada; ^bDepartment of Neurosciences, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, QC, H3C 3J7, Canada; ^cCentre de recherche, Hôpital du Sacré-Coeur, Montréal, QC, Canada; ^dCNS Research Group, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, QC, H3C 3J7, Canada

*Corresponding Author:
Anne-Noël Samaha
Department of Pharmacology and Physiology
Université de Montréal
C.P. 6128, Succursale Centre-ville
Montreal, Quebec
H3C 3J7
Canada
Tel: 514 343 6111 x. 32788
Fax: 514 343 2291
anna.samaha@umontreal.ca

Aims

During a bout of intoxication, experienced users take cocaine intermittently so as to produce spiking rather than continuously high brain drug levels (Beveridge et al., 2012). In rats, intermittent (IntA) cocaine access increases the motivation to take the drug in the future (Zimmer et al., 2012). This is linked to the ability of drug ‘spikes’ to sensitize the cocaine response at the dopamine transporter (Calipari et al., 2013). Here we hypothesized that increasing monoaminergic tone during IntA cocaine reduces addiction-like behaviors, presumably by flattening and/or widening the monoamine spikes produced by IntA cocaine. To this end, we gave rats continuous amphetamine treatment during IntA-sessions and we assessed cocaine-taking and cocaine-seeking behaviors.

Specific aim – Experiment 1

In this project, we evaluate the hypothesis that a continuous d-amphetamine release during intermittent (IntA) cocaine self-administration decreases the development and the expression of behavioral symptoms of cocaine addiction (an excessive motivation for the drug and a vulnerability to cocaine-induced reinstatement).

Specific aim – Experiment 2

In this project, we evaluate the hypothesis that a continuous d-amphetamine release during IntA cocaine self-administration prevents the ability of drug ‘spikes’ to sensitize the cocaine response at the dopamine transporter.

Methods

Experiment 1

Male Wistar rats ($n = 33$) self-administered cocaine (FR3, 0.25 mg/kg/injection) for fourteen 5-h IntA-sessions (1 session/day) where cocaine was available for ten 5-min trials intercalated with 25-min timeout trials. Some rats (Amph-1, $n = 11$) received concomitant amphetamine treatment (5 mg/kg/day) through a subcutaneous osmotic minipump (Alzet model 2ML2, Durect, Cupertino, CA, USA). Control rats (Ctrl, $n = 22$) were implanted with a minipump filled with saline or received a sham surgery. After the last IntA-session, we removed the minipumps and measured the motivation to take cocaine (0.063, 0.125 and 0.25 mg/kg/injection) under a progressive ratio (PR) schedule of reinforcement (question 1, **Fig. 1**). Three weeks later, we assessed cocaine- (0, 7.5 and 15 mg/kg, i.p.) induced reinstatement of extinguished drug-seeking behavior in the Amph-1 rats and one half of the Ctrl-rats ($n = 11$, question 2, **Fig. 1**). The other half of the Ctrl-rats ($n = 11$), now cocaine-experienced, were implanted with amphetamine-containing minipumps (Amph-2) and given 14 additional IntA-sessions. Their motivation to take cocaine was then assessed as before (question 3, **Fig. 1**).

Experiment 2

Male Wistar rats self-administered cocaine ($n = 13$) or saline ($n = 10$) during fourteen IntA-sessions (as described in Experiment 1). Some cocaine ($n = 7$) and saline ($n = 5$) rats received concomitant amphetamine treatment (5 mg/kg/day). Control rats (cocaine rats, $n = 6$ and saline rats, $n = 5$) received a sham surgery.

Five days after the last IntA-session and the pump removal, we tested the ability of cocaine to block dopamine uptake in the nucleus accumbens (NAc) using Fast Scan Cyclic Voltammetry (FSCV, question 4, **Fig. 1**). Recordings were made by Benoît Delignat-Lavaud, a Ph.D student in the laboratory of Dr. Louis-Eric Trudeau.

Rats were injected i.p. with a solution of sodium pentobarbital (90 mg/kg) and perfused with a NMDG-based solution (in mM; 92 NMDG, 2.5 KCl, 1.25 NaH₂PO₄, 30 NaHCO₃, 20 HEPES, 25 glucose, 2 thiourea, 5 ascorbic acid, 3 sodium pyruvate, 0.5 CaCl₂, 10 MgSO₄). Brains were extracted, and 300- μ m-thick coronal brain slices were prepared in ice-cold (0 to 4°C) NMDG solution using a vibratome. Slices were first transferred in a 32°C NMDG solution for 12 minutes and then in an oxygenated HEPES-buffered resting solution (in mM; 92 NaCl, 2.5 KCl, 1.25 NaH₂PO₄, 30 NaHCO₃, 20 HEPES, 25 glucose, 2 thiourea, 5 ascorbic acid, 3 sodium pyruvate, 2 CaCl₂, 2 MgSO₄) for at least 1 hour at room temperature. For recordings, a slice containing NAc [approximately +1.7 mm from Bregma (Paxinos and Watson, 1986)] was transferred in the testing chamber and continuously perfused (at 1 ml/min) with oxygenated aCSF (in mM; 119 NaCl, 2.5 KCl, 1.25 NaH₂PO₄, 24 NaHCO₃, 12.5 glucose, 2.4 CaCl₂, 1.3 MgSO₄) at 32°C. The carbon-fiber electrode (CFE, ~7 μ m in diameter) was placed ~100 μ m below the surface into the NAc core and centered from the bipolar stimulating electrode (placed on the surface). Single-pulse electrical stimulations (400 μ A; 1 ms) were generated every 5 minutes to evoke dopamine release and the potential at the CFE was scanned according to a 10-ms triangular voltage wave (-0.4 to 1 to -0.4 V vs. Ag/AgCl, at the rate of 300 V/s). Once three stable responses were recorded, cocaine (0.3, 1, 3, 10, 30 μ M) was cumulatively applied to the bath.

Dopamine release was analyzed as the peak height of dopamine concentrations and dopamine reuptake was modeled using Michaelis-Menten kinetics, following the methodology of Yorgason et al. (2011). First, nonlinear least-square optimization was applied to fit a three-parameter exponential function with baseline shift to the reuptake phase of the dopamine response. The time constant τ (tau) of the exponential corresponds to the half-life divided by $\log(2)$ and is related to the Michaelis-Menten parameters V_{max} and K_m . It can be shown that the area under the exponential and the area under an equivalent Michaelis-Menten curve are equal if and only if $\tau \cdot V_{max} = K_m + [DA]/2$, where $[DA]$ is dopamine peak height. Under the assumptions that $K_m = 0.18 \mu\text{M}$ in control and that V_{max} remains constant during each

experiment (Calipari et al., 2013), this formula provides an estimate of K_m (apparent K_m , or app. K_m) based on τ , while avoiding overfitting. The parameters $[DA]$ and app. K_m were extracted for each recording. Due to low amplitude signals, signal-to-noise ratio was often too poor in control for accurate parameter identification. To improve reliability, percentage of the kinetics parameters relative to 0.3 μM cocaine dose were reported. Note that in a previous study by Calipari et al. (2013), app. K_m at 0.3 μM cocaine was only < 10-20% larger than control (based on their figure), which remains small compared to the responses to higher cocaine concentrations (> 1000%).

Results

Experiment 1

Amphetamine did not change cocaine intake during IntA-sessions (**Fig. 2**). However, amphetamine decreased the later motivation for cocaine both in cocaine-naive and cocaine-experienced rats (**Figs. 3 and 6**, 2-way Anova; All P 's < 0.05) and also decreased cocaine-induced reinstatement of drug seeking (**Fig. 4**, 2-way Anova; p < 0.05). Thus, continuous treatment with amphetamine during active cocaine use can prevent both the development and expression of addiction-like symptoms.

Experiment 2

Intermittent cocaine self-administration sensitizes the ability of cocaine to inhibit dopamine transporter as previously shown by Calipari et al. (2013). This sensitization effect is prevented in cocaine rats previously treated with amphetamine (**Fig. 7F**, 2-way Anova; p < 0.05).

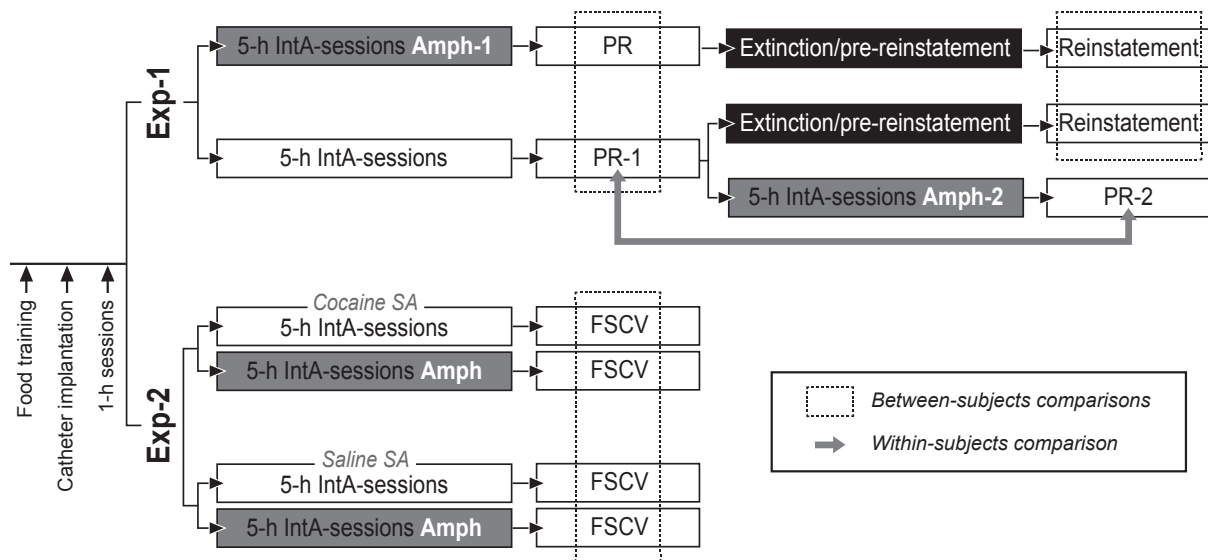


Fig. 1. The sequence of experimental events.

Question 1 In previously cocaine-naïve rats, does continuous amphetamine (Amph-1) release during cocaine self-administration prevent the development of an excessive motivation for cocaine?

Question 2 In previously cocaine-naïve rats, does continuous amphetamine (Amph-1) release during cocaine self-administration decrease cocaine-induced reinstatement of extinguished drug-seeking?

Question 3 In cocaine-experienced rats, does continuous amphetamine (Amph-2) release during cocaine self-administration attenuate the expression of an excessive motivation for cocaine?

Question 4 In previously cocaine-naïve rats, does continuous amphetamine (Amph-1) release during cocaine self-administration prevent the ability of cocaine 'spikes' to sensitize the dopamine transporter to pharmacological effects of cocaine?

Experiment 1

During Amph-1 and Amph-2 treatments, amphetamine was continuously released via a subcutaneous osmotic minipump. **1)** Motivation for cocaine under progressive ratio (PR) was compared between Ctrl-rats and Amph-1 rats (between-subjects comparison). **2)** Cocaine-induced reinstatement of extinguished drug-seeking was compared between Ctrl-rats and Amph-1 rats (between-subjects comparison). **3)** In Ctrl rats, motivation for cocaine under PR was compared before and after Amph-2 treatment (within-subjects comparison). For questions **1)** and **2)**, 2-way repeated measures ANOVAs were used to analyze cocaine intake over IntA-sessions (Group x IntA-session, the latter as a within-subjects variable), locomotor activity over IntA-session (Group x IntA-session, the latter as a within-subjects variable), motivation for cocaine under progressive ratio (Group x Cocaine dose, the latter as a within-subjects variable), extinction of lever-pressing behavior (Group x Extinction session, the latter as a within-subjects variable) and cocaine-induced reinstatement of cocaine seeking (Group x Cocaine dose, the latter as a within-subjects variable). For question **3)**, 2-way repeated measures ANOVAs were used to analyze cocaine intake over IntA-sessions (Treatment x IntA-session, both as within-subjects variables), locomotor activity over IntA-sessions (Treatment x IntA-session, both as within-subjects variables) and motivation for cocaine under progressive ratio (Treatment x Cocaine dose, both as within-subjects variables).

Experiment 2

During Amph treatment (which is equivalent to Amph-1 treatment in Experiment 1), amphetamine was continuously released via a subcutaneous osmotic minipump. **4)** The ability of cocaine to inhibit dopamine uptake was compared between cocaine rats with amphetamine, cocaine rats without amphetamine, saline rats with amphetamine and saline rats without amphetamine. 2-way repeated measures ANOVAs were used to analyze dopamine release and apparent K_m between groups across a range of cocaine doses (0.3 to 30 μM , Group x Cocaine dose, the latter as a within-subjects variable). FSCV, Fast Scan Cyclic Voltammetry.

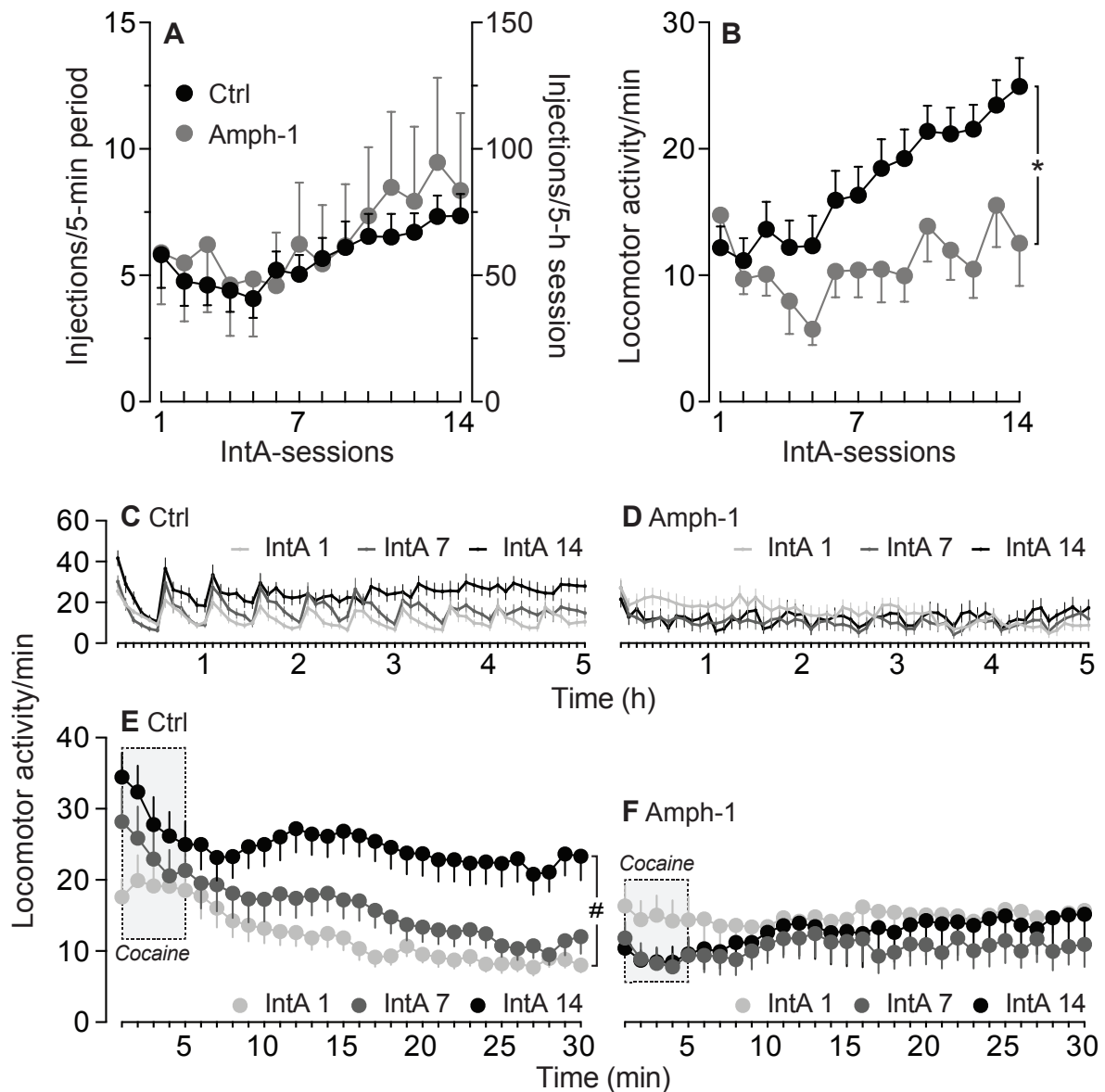


Fig. 2. Ctrl-rats and Amph-1 rats self-administer the same amount of cocaine and increase their intake over time, but amphetamine co-release abolishes cocaine-induced spikes in locomotor activity. (A) Average number of cocaine injections per 5-min cocaine period (left Y-axis) and total number of cocaine injections per 5-h IntA-session (right Y-axis). In **(B)** locomotor activity/min increased over IntA-sessions only in Ctrl-rats (2-way repeated-measures ANOVA, Main effect of Group, $F(1, 31) = 4.51, p = 0.04$; Main effect of Session, $F(13, 403) = 14.09, p < 0.0001$; Group \times Session interaction effect, $F(13, 403) = 5.19, *p < 0.0001$). **(C-D)** Fluctuations in locomotor activity within 5-h IntA-sessions were observed in Ctrl-rats but not in Amph-1 rats. **(E-F)** show locomotor activity/min averaged over the ten 5-min cocaine (shaded in gray) and the ten 25-min no cocaine periods on the 1st, the 7th and the 14th IntA-sessions. **(E)** Locomotor activity increased over IntA-sessions in Ctrl-rats (2-way repeated-measures ANOVA, Main effect of Session, $F(2, 42) = 44.3, *p < 0.0001$) but not in Amph-1 rats **(F)**. Data are mean \pm s.e.m. $n = 11-22$ /group.

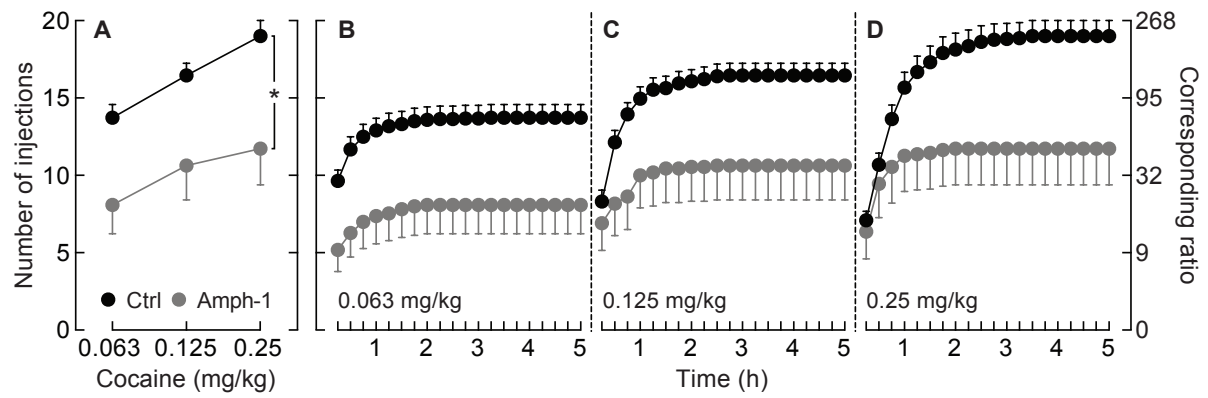


Fig. 3. Continuous amphetamine release during intermittent cocaine self-administration decreases the development of an excessive motivation for cocaine. (A) Amph-1 rats showed reduced motivation for cocaine compared to Ctrl-rats (2-way repeated-measures ANOVA, Main effect of Group, $F(1, 31) = 11.24$, $*p = 0.002$; Main effect of Cocaine dose, $F(2, 62) = 34.11$, $p < 0.0001$). (B-D) Cumulative number of cocaine injections (left Y-axis) and corresponding ratio (right Y-axis) as a function of time for each dose of cocaine. Data are mean \pm s.e.m. $n = 11-22$ /group.

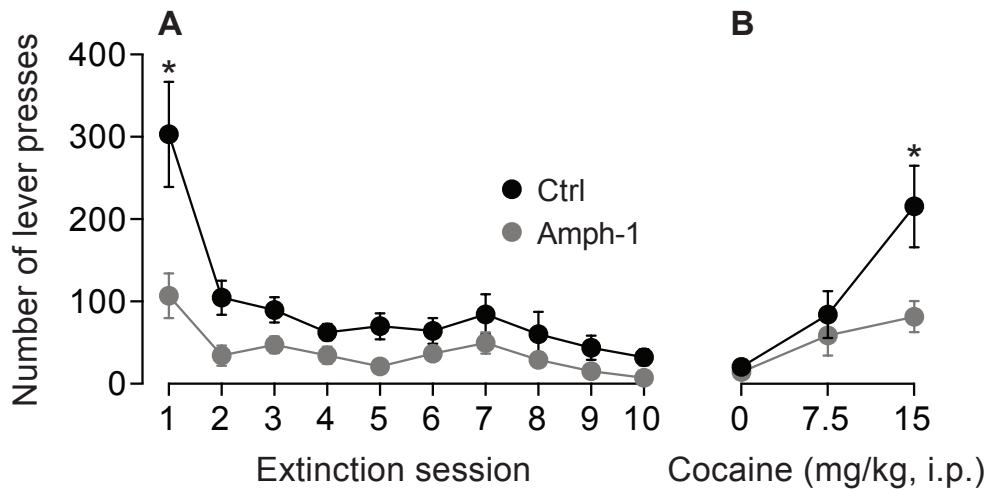


Fig. 4. Continuous amphetamine release during intermittent cocaine self-administration decreases cocaine-primed reinstatement of extinguished drug-seeking behavior. (A) During extinction, the number of lever presses was greater in Ctrl-rats than in Amph-1 rats (2-way repeated-measures ANOVA, Main effect of Group, $F(1, 19) = 10.41, p = 0.004$) but this effect extinguished over time (Main effect of Session, $F(9, 171) = 15.37, p < 0.0001$; Group \times Session interaction effect, $F(9, 171) = 3.87, p = 0.0002$; Followed by Bonferroni's multiple comparisons tests between groups, $*p < 0.05$ only at the 1st extinction session). (B) Amph-1 rats were less vulnerable to cocaine-induced reinstatement of extinguished drug-seeking than Ctrl-rats (2-way repeated-measures ANOVA, Main effect of Cocaine dose, $F(2, 38) = 19.26, p < 0.0001$; Group \times Cocaine dose interaction effect, $F(2, 38) = 5.24, p = 0.01$; Followed by Bonferroni's multiple comparisons tests between groups, $*p < 0.05$ only at the 15 mg/kg dose of cocaine). Data are mean \pm s.e.m. $n = 10-11$ /group.

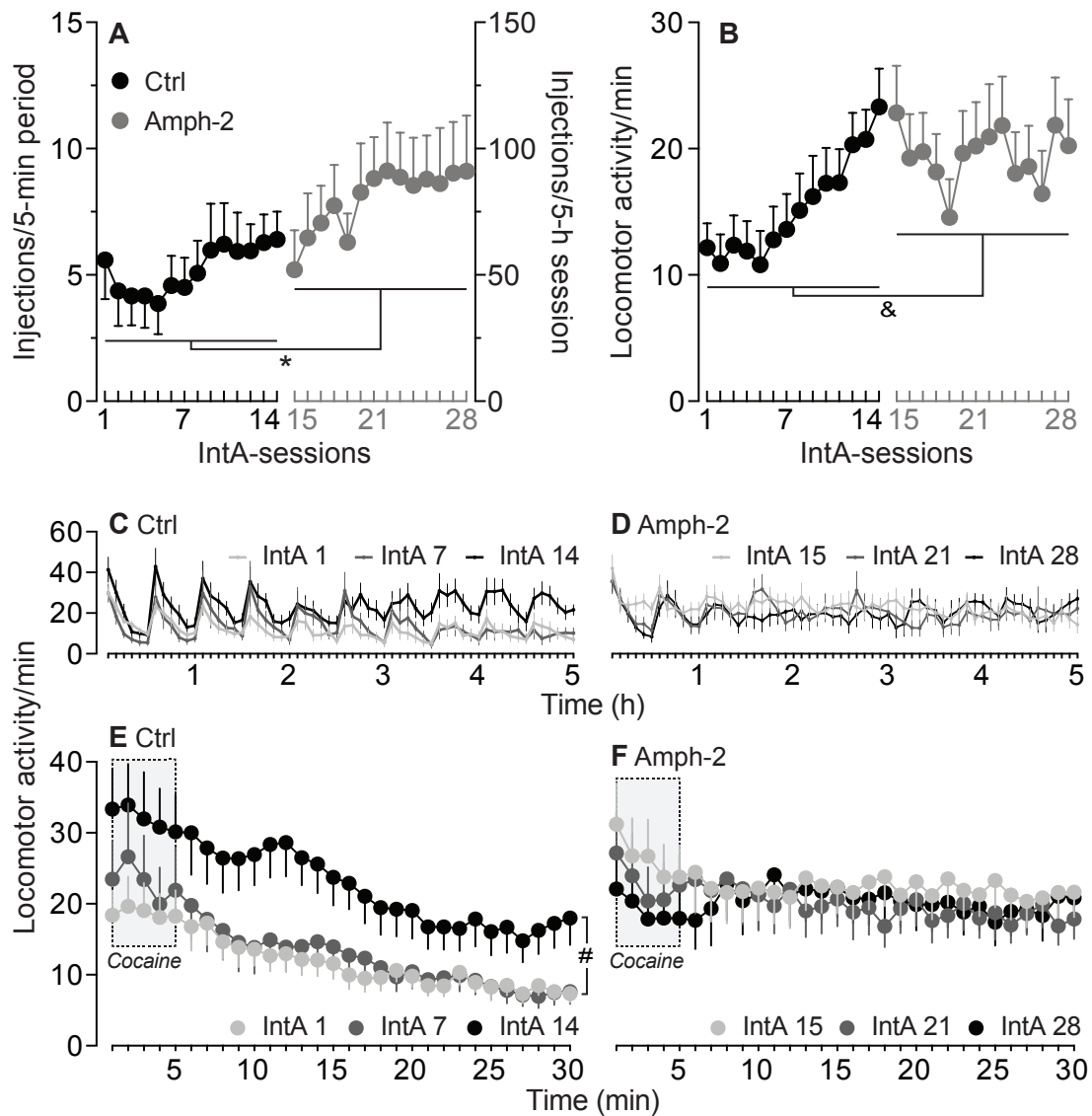


Fig. 5. Ctrl-rats continue to escalate their cocaine intake even when amphetamine is co-released. (A) Average number of cocaine injections per 5-min cocaine period (left Y-axis) and total number of cocaine injections per 5-h IntA-session (right Y-axis). Before and during Amph-2 treatment, Ctrl-rats escalated their cocaine intake over IntA-sessions (2-way repeated-measures ANOVA, Main effect of Session, $F(13, 130) = 3.12, p = 0.0004$; Main effect of Treatment, $F(1, 10) = 5.81, *p = 0.04$; Session \times Treatment interaction effect, $F(13, 130) = 1.04, p = 0.42$). **(B)** Locomotor activity increased over IntA-sessions in Ctrl-rats only before Amph-2 treatment (2-way repeated-measures ANOVA, Main effect of Session, $F(13, 130) = 5.11, p < 0.0001$; Session \times Treatment interaction effect, $F(13, 130) = 4.83, \&p < 0.0001$). **(C-D)** Amph-2 treatment reduced cocaine-induced spikes in locomotor activity within 5-h IntA-sessions. **(E-F)** show locomotor activity/min averaged over the ten 5-min cocaine (shaded in gray) and the ten 25-min no cocaine periods on the 1st, the 7th and the 14th IntA-sessions ($\#p < 0.0001$, Main effect of Session). Data are mean \pm s.e.m. $n = 11$.

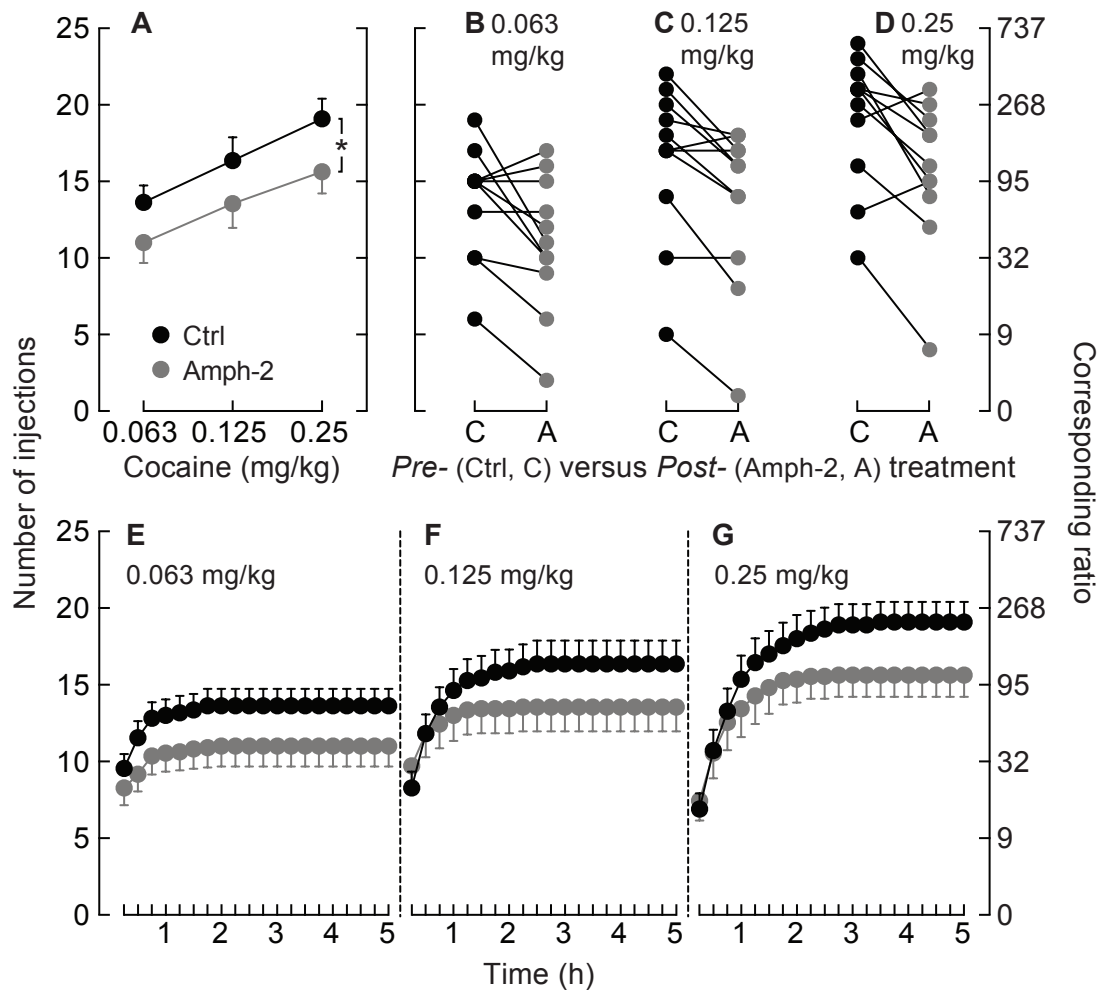


Fig. 6. In cocaine-experienced rats, continuous amphetamine release during intermittent cocaine self-administration decreases the expression of increased motivation for cocaine. **(A)** *Amph-2* treatment reduced the motivation for cocaine in *Ctrl* rats (2-way repeated-measures ANOVA, Main effect of Treatment, $F(1, 10) = 16.51$, $*p = 0.002$; Main effect of Cocaine dose, $F(2, 20) = 79.03$, $p < 0.0001$). **(B-D)** Motivation for cocaine under progressive ratio for each rat before (C, *Ctrl*) and after (A, *Amph-2*) amphetamine treatment. **(E-G)** Cumulative number of cocaine injections (left Y-axis) and corresponding ratio (right Y-axis) as a function of time for each dose of cocaine. Data are mean \pm s.e.m. $n = 11$.

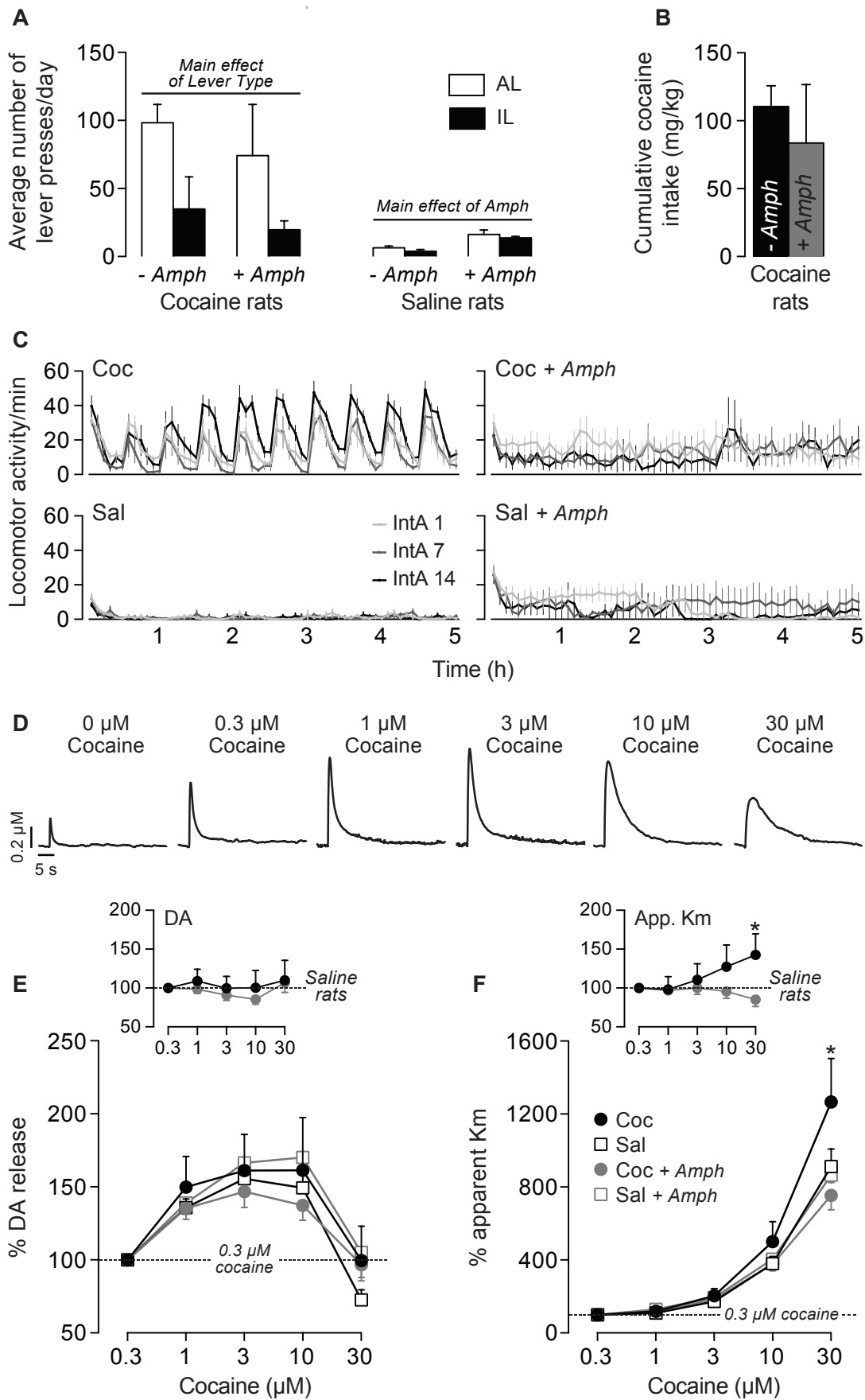


Fig. 7. Sensitized cocaine effect at the dopamine transporter promoted by intermittent cocaine self-administration is prevented when amphetamine is co-released.

(A) With or without Amph treatment, cocaine rats pressed more on the active lever versus the inactive lever during the fourteen IntA-sessions (2-way repeated-measures ANOVA, Main effect of Lever Type, $F(1, 11) = 7.72$, $*p = 0.02$; Main effect of Amphetamine treatment, $F(1, 11) = 0.54$, $p = 0.48$). Saline rats pressed more on both levers when they were treated with amphetamine (2-way repeated-measures ANOVA, Main effect of Lever Type, $F(1, 8) = 2.59$, $p = 0.15$; Main effect of Amphetamine treatment, $F(1, 8) = 18.84$, $*p = 0.003$). **(B)** As in Experiment 1 (Fig. 2A), cocaine rats with or without Amphetamine co-release self-administered the same amount of cocaine. **(C)** As in Experiment 1 (Figs. 2C-D), fluctuations in locomotor activity within 5-h IntA-sessions were observed only in cocaine rats without Amphetamine co-release. These fluctuations in locomotor activity increased over days (Main effect of days, $F(2, 10) = 9.07$, $*p = 0.006$). **(D)** Representative traces showing dopamine concentrations over time as a function of cocaine dose. **(E)** % of dopamine release as a function of cocaine dose did not change across groups (Relative to 0.3 μM cocaine; Main effect of Group, $F(3, 18) = 0.26$, $p = 0.85$; Main effect of Dose, $F(4, 72) = 36.97$, $*p < 0.0001$; Relative to Saline rats (Inset); Main effect of Group, $F(1, 11) = 0.23$, $p = 0.64$; Main effect of Dose, $F(4, 44) = 1.25$, $p = 0.3$). **(F)** % of apparent K_m as a function of cocaine dose preferentially increased in Cocaine rats with no amphetamine (Relative to 0.3 μM cocaine; Main effect of Dose, $F(4, 72) = 126.7$, $*p < 0.0001$; Group x Dose interaction, $F(12, 72) = 2.65$, $*p = 0.005$; Relative to Saline rats (Inset); Group x Dose interaction, $F(4, 44) = 3.56$, $*p = 0.01$). 30 μM of cocaine were more effective to block dopamine transporter in cocaine rats with no amphetamine and this sensitization effect was prevented in cocaine rats with Amphetamine co-release (Bonferroni's test at the 30- μM dose; versus cocaine rats, all $*P$'s < 0.05). Data are mean \pm s.e.m. $n = 4-7/\text{group}$.

Discussion

Experiment 1

Ctrl- and Amph-1 rats self-administer the same amount of cocaine. However, the kinetics of cocaine in the brain are likely different in the two groups. It has been suggested that self-administration of cocaine under these conditions (Intermittent drug access within the session) produces spiking levels of brain cocaine (Zimmer et al., 2011; Zimmer et al., 2012). This in turn would produce peaks and troughs in brain dopamine levels. In support of this, cocaine-induced locomotion is tightly coupled to brain dopamine levels and we observed spiking levels of locomotor behavior during the self-administration sessions. This effect was abolished by amphetamine co-treatment. In parallel, prior amphetamine treatment also decreased incentive motivation for cocaine, as well as reinstatement of drug-seeking behavior following forced abstinence. Others have also shown that continuous amphetamine release decreases the motivation for cocaine (Chiodo et al., 2008). We show here that amphetamine is effective when cocaine access is intermittent, a procedure that likely better reflects human cocaine use (Beveridge et al., 2012).

Experiment 2

Intermittent cocaine self-administration promotes sensitization of cocaine ability to block dopamine transporter (Calipari et al., 2013). We replicate here these findings and show that amphetamine co-release during intermittent cocaine self-administration precludes the development of this sensitization effect.

Conclusion

Our data suggest that agonist substitution therapy – already used for the treatment of addiction to heroin or tobacco – could be effective in the context of cocaine addiction.

RÉFÉRENCES CHAPITRE V

- Allain F., Samaha A. N. (2017a) Continuous d-amphetamine treatment during intermittent cocaine intake reduces addiction-like behaviors. Published abstract (ID: 111) for the College on Problems of Drug Dependence Annual Meeting, Montreal, QC.
- Allain F., Samaha A. N. (2017b) Continuous d-amphetamine treatment during intermittent cocaine self-administration attenuates incentive motivation for cocaine and cocaine-induced reinstatement of drug seeking. Published abstract (ID: 3-F-184) for the Canadian Association for Neuroscience Annual Meeting, Montreal, QC.
- Beveridge T. J. R., Wray P., Brewer A., Shapiro B., Mahoney J. J., Newton T. F. (2012) Analyzing human cocaine use patterns to inform animal addiction model development. Published abstract for the College on Problems of Drug Dependence Annual Meeting, Palm Springs, CA.
- Calipari E. S., Ferris M. J., Zimmer B. A., Roberts D. C., Jones S. R. (2013) Temporal pattern of cocaine intake determines tolerance vs sensitization of cocaine effects at the dopamine transporter. *Neuropsychopharmacology* 38: 2385-2392.
- Chiodo K. A., Lack C. M., Roberts D. C. (2008) Cocaine self-administration reinforced on a progressive ratio schedule decreases with continuous D-amphetamine treatment in rats. *Psychopharmacology* 200: 465-473.
- Paxinos G., Watson C. (1986) *The rat brain in stereotaxic coordinates*, 2nd edn. Academic: New York, NY, USA
- Yorgason J. T., Espana R. A., Jones S. R. (2011) Demon voltammetry and analysis software: analysis of cocaine-induced alterations in dopamine signaling using multiple kinetic measures. *Journal of Neuroscience Methods* 202: 158-164.
- Zimmer B. A., Dobrin C. V., Roberts D. C. (2011) Brain-cocaine concentrations determine the dose self-administered by rats on a novel behaviorally dependent dosing schedule. *Neuropsychopharmacology* 36: 2741-2749.
- Zimmer B. A., Oleson E. B., Roberts D. C. (2012) The motivation to self-administer is increased after a history of spiking brain levels of cocaine. *Neuropsychopharmacology* 37: 1901-1910.

CHAPITRE VI

Discussion générale

**Manipuler la pharmacocinétique de la cocaïne chez le rat pour *comprendre* un
phénotype toxicomane**

Dans le **chapitre II** de ma thèse (Allain et al., 2017), j'ai manipulé la vitesse d'administration de la cocaïne au sein d'un protocole d'auto-administration IntA (Zimmer et al., 2011; Zimmer et al., 2012). Des injections données en 5 secondes (rats 5s) ou en 90 secondes (rats 90s) étaient disponibles lors de 12 brèves périodes actives de 6 minutes intercalées de périodes inactives de 26 minutes. Des périodes de 6 minutes ont ici été préférées aux périodes habituelles de 5 minutes (Zimmer et al., 2011; Zimmer et al., 2012; Calipari et al., 2013b; Calipari et al., 2014c; Calipari et al., 2015; Kawa et al., 2016; Pitchers et al., 2017; Singer et al., 2018) pour permettre aux rats 90s de consommer 4 injections/période active. Une étude préliminaire m'a permis de voir que des rats 90s s'autolimitaient et consommaient en moyenne 2 injections/période de 6 minutes alors que des rats 5s s'auto-administraient beaucoup plus de drogue. Le but de cette étude étant d'isoler la variable pharmacocinétique 'vitesse d'administration de la cocaïne' j'ai ainsi imposé une limite maximale de 2 injections par période de 6 minutes aux rats 5s. Voici les principales conclusions de cette étude :

- Les rats 5s et 90s consomment la même quantité de cocaïne et leur consommation est stable à travers les 10 sessions IntA.
- L'activité locomotrice des rats 5s augmente à travers les sessions IntA alors qu'elle est stable chez les rats 90s. L'auto-administration d'injections rapides, dans un contexte IntA, favorise donc l'expression de la sensibilisation psychomotrice.
- Les rats 5s comparés aux rats 90s développent une motivation excessive pour la cocaïne sous ratio progressif.
- La motivation des rats 90s pour la cocaïne est variable d'un individu à l'autre et l'expression de la sensibilisation psychomotrice prédit la motivation future des rats 90s pour la cocaïne.
- La fonction des mGluR2/3s est augmentée dans le PFC et le Nac uniquement chez les rats 5s et la stimulation de ces récepteurs (par injection systémique de LY379268 juste avant le test sous ratio progressif) diminue la motivation pour la cocaïne préférentiellement chez les rats démontrant une motivation élevée pour la cocaïne.

Il est connu que varier la vitesse d'administration de la cocaïne de 90 à 5 secondes chez des rats LgA augmente la quantité de drogue consommée en plus de favoriser le développement de symptômes pertinents à la toxicomanie (Wakabayashi et al., 2010; Minogianis et al., 2013; Bouayad-Gervais et al., 2014). Ceci est également le cas avec un paradigme IntA. Quand les rats sont libres de consommer ce qu'ils veulent au sein des périodes d'accès à la cocaïne, des injections rapides favorisent une consommation élevée de drogue qui augmente dans le temps comparativement à des injections plus lentes (Kawa et al., 2016; Allain et al., 2017; Pitchers et al., 2017; Allain et al., 2018; Singer et al., 2018). Pour pallier cette limite, la consommation maximale des rats 5s a été rapportée à la consommation moyenne des rats 90s. Ainsi, cette étude est novatrice puisque les rats 5s et les rats 90s s'auto-administrent la même quantité de cocaïne et les deux groupes sont exposés à des pics de cocaïne au cerveau au sein de chaque session IntA – la majeure différence étant la vitesse d'arrivée de la drogue au cerveau. Bien que les deux groupes aient consommé la même quantité de cocaïne par le passé, les rats 5s développent par la suite une plus grande motivation pour la cocaïne sous ratio progressif, un symptôme de l'addiction. Ainsi, l'auto-administration d'injections rapides de cocaïne favorise le développement d'un phénotype toxicomane indépendamment de la quantité de drogue consommée (**Fig. 1**), et cette adaptation comportementale persiste sur le long terme puisque 45 jours après retrait de la drogue les rats 5s sont plus vulnérables à la rechute que les rats 90s – rechute induite par la cocaïne ou par des indices environnementaux (Gueye et al., 2018).

Nous démontrons ici (Allain et al., 2017) que des injections rapides de cocaïne sont plus efficaces à promouvoir le développement de la sensibilisation psychomotrice que des injections plus lentes. Nous démontrons aussi que l'expression de cette plasticité prédit par la suite la motivation future des animaux pour la drogue. Cependant, les études d'auto-administration de cocaïne utilisent typiquement des vitesses d'injection rapides de la drogue. Alors pourquoi les études utilisant un accès continu à la cocaïne ont souvent dissocié sensibilisation psychomotrice et sensibilisation du désir pour la drogue (Ben-Shahar et al.,

2004; Ben-Shahar et al., 2005; Ahmed and Cador, 2006; Knackstedt and Kalivas, 2007) ? Nos données suggèrent que c'est la combinaison entre une vitesse d'injection rapide de la cocaïne et l'intermittence de consommation qui augmente la probabilité de développement de cette plasticité.

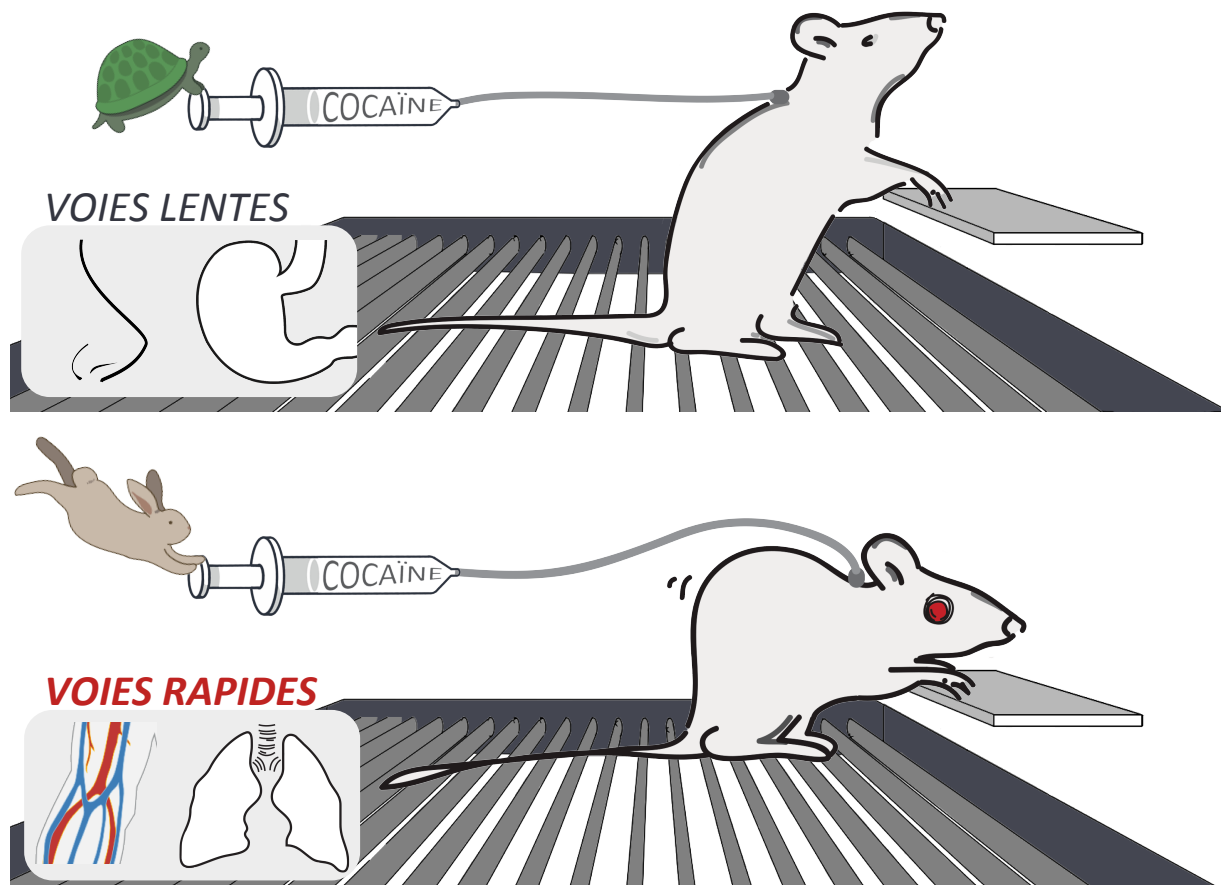


Fig. 1. La livraison rapide de cocaïne au cerveau est un facteur de risque dans le développement de la toxicomanie. Les voies lentes (voie orale et voie intranasale) sont modélisées par la tortue qui pousse la seringue alors que les voies rapides (voie fumée et voie intraveineuse) sont modélisées par le lièvre qui pousse la seringue. Image que j'ai réalisé dans le cadre du concours ma thèse en 180 secondes puis utilisée pour illustration par le magazine Curium #24 p. 29.

Un phénotype toxicomane serait associé à une dérégulation de l'homéostasie glutamatergique (Kalivas, 2009) et cette dérégulation semble prédominante chez des rats précédemment exposés à des injections rapides de cocaïne. Chez des rats LgA qui consomment beaucoup plus de drogue que des rats ShA et augmentent leur consommation dans le temps, la fonction des mGluR2/3s est augmentée dans le circuit mésocorticolimbique

(Hao et al., 2010). Nous démontrons ici que consommer des niveaux excessifs de cocaïne n'est pas nécessaire au développement de cette plasticité neurobiologique. En effet, chez des rats IntA limités à 2 injections par période active de 6 minutes, la consommation de drogue est de l'ordre de 10 fois moins importante que celle de rats LgA [~ 2.5 mg de cocaïne par jour chez des rats IntA-Lim (Allain et al., 2017) versus typiquement ~ 25 mg de cocaïne par jour chez des rats LgA (Hao et al., 2010; Kawa et al., 2016)]. Malgré cette différence dans les niveaux de consommation de cocaïne, l'augmentation de la fonction des mGluR2/3s dans le circuit mésocorticolimbique est mesurable tant chez des rats LgA que chez des rats IntA-Lim (Hao et al., 2010; Allain et al., 2017). L'auto-administration d'injections rapides de cocaïne, dans un contexte IntA, semble quant à elle critique à l'augmentation de la fonction des mGluR2/3s dans le PFC et le Nac. Notre hypothèse est que chez les rats 5s, l'activité de l'échangeur cystine-glutamate serait diminuée, ce qui par conséquence réduirait le tonus glutamatergique basal constant exercé sur les mGluR2/3s (voir **Fig. 17, chapitre I**). Les mGluR2/3s seraient donc moins stimulés en continu et par mécanisme de compensation, leur fonction s'en verrait augmentée pour pallier la baisse de glutamate endogène. Ainsi, au vu de cette augmentation de leur fonction, leur stimulation par apport exogène de LY379268 serait d'autant plus efficace à diminuer la libération de glutamate synaptique provoquée par la cocaïne et ainsi à diminuer la motivation des animaux pour la drogue. Pour voir si cette adaptation neurobiologique est persistante sur le long terme, il serait pertinent dans un contexte IntA de mesurer, 45 jours après retrait de la drogue, l'efficacité du LY379268 à diminuer la vulnérabilité à la rechute des rats 5s (Gueye et al., 2018).

Dans les **chapitres III** (Allain et al., 2018) et **IV** (Allain and Samaha, 2018) de ma thèse, je me suis intéressée à mieux comprendre comment les rats s'auto-administraient la cocaïne au sein de sessions IntA. Il est bien connu que des rats LgA augmentent généralement leur consommation de cocaïne dans le temps alors que la consommation des rats ShA reste stable (Ahmed and Koob, 1998); des rats LgA sont par la suite plus motivés à obtenir la cocaïne que les rats ShA [(Paterson and Markou, 2003), **Fig. 2A**]. L'exposition à des sessions prolongées ainsi que l'augmentation de la consommation dans le temps ont donc longtemps été considérés comme des prérequis pour le développement d'un phénotype toxicomane (Ahmed and Koob, 1998; Edwards and Koob, 2013). Pour renforcer ce point, il est vrai que l'augmentation des doses de cocaïne est un critère diagnostique de la toxicomanie souvent vu en recherche clinique sur l'addiction (Gawin and Kleber, 1988; Gawin, 1991; APA, 2013). Cependant, des rats IntA qui consomment beaucoup moins de cocaïne que des rats LgA, développent par la suite une motivation plus importante pour la drogue (Zimmer et al., 2012) et seule une très brève exposition intermittente à la cocaïne (rien que 3 sessions IntA) favorise la sensibilisation des valeurs de Pmax pour la cocaïne (Calipari et al., 2015). Bien qu'un paradigme IntA puisse également promouvoir l'augmentation de la consommation dans le temps (Kawa et al., 2016; Pitchers et al., 2017; Singer et al., 2018), ces données associées à notre précédente étude (Allain et al., 2017) suggèrent qu'une consommation IntA modérée et stable de cocaïne est suffisante pour promouvoir le développement d'une motivation excessive pour la drogue. J'ai ainsi évalué cette hypothèse dans les **chapitres III** et **IV** de ma thèse.

Dans le **chapitre III**, des rats ont été autorisés à s'auto-administrer des injections rapides de cocaïne [une condition qui favorise le développement d'une motivation excessive pour la drogue (Allain et al., 2017)] à travers plusieurs sessions IntA de 6 heures. Les rats avaient un

accès à la cocaïne soit illimité (IntA-unLim) soit limité (IntA-Lim) au sein de chaque période active de cocaïne. Voici les principales conclusions de cette étude :

- Des rats IntA-unLim augmentent leur consommation de cocaïne à la fois entre les sessions IntA de 6 heures mais aussi au sein même de ces sessions (i.e. entre les phases actives d'accès à la drogue).
- Des rats IntA-unLim apprennent à effectuer des 'bursts' de consommation (voir **Fig. 20B, chapitre I**) – ces 'bursts' étant définis par l'auto-administration de plusieurs injections de cocaïne très rapidement au début de chaque phase active.
- Des rats IntA-Lim ont une consommation stable et modérée comparativement aux rats IntA-unLim mais les deux groupes d'animaux développent une motivation semblable pour la drogue sous ratio progressif (**Fig. 2B**).
- Des rats LgA ont une consommation excessive qui augmente dans le temps comparativement à des rats IntA-Lim. Pour autant, la motivation future des rats IntA-Lim pour la cocaïne est plus importante que celle des rats LgA (**Fig. 2C**).

Dans le **chapitre IV**, des rats ont été autorisés à s'auto-administrer des injections rapides de cocaïne à travers des sessions IntA de 6 heures (Long-IntA) ou de 2 heures (Short-IntA). L'accès à la cocaïne était illimité pour les deux groupes d'animaux au sein de chaque période active de 5 minutes. Chaque session IntA comprenait donc 12 (rats Long-IntA) ou 4 (rats Short-IntA) périodes actives de 5 minutes. Voici les principales conclusions de cette étude :

- Comme vu précédemment, des rats Long-IntA augmentent leur consommation de cocaïne entre les sessions de 6 heures. La consommation est stable pour les rats Short-IntA entre les sessions de 2 heures. Les rats Short-IntA consomment 3 fois moins de cocaïne que les rats Long-IntA (sessions 3 fois plus courtes).
- Les deux groupes de rats Long-IntA et Short-IntA développent un comportement type 'burst' de consommation (voir **Fig. 20B, chapitre I**) en s'auto-administrant plusieurs injections de cocaïne très rapidement au début de chaque phase active. Ceci suggère que cette adaptation comportementale ne dépend pas de l'augmentation de la consommation dans le temps.
- L'activité locomotrice des rats Long-IntA et des rats Short-IntA augmente à travers les sessions. Ceci suggère que des sessions prolongées, dans un contexte IntA, ne sont pas nécessaires au développement de la sensibilisation psychomotrice.
- Les rats Short-IntA et Long-IntA développent la même motivation pour la cocaïne sous ratio progressif (**Fig. 2D**) et sont autant vulnérables à la rechute induite par la cocaïne un mois

après retrait de la drogue. Ceci suggère que des sessions prolongées, dans un contexte IntA, ne sont pas nécessaires au développement de symptômes pertinents à l'addiction.

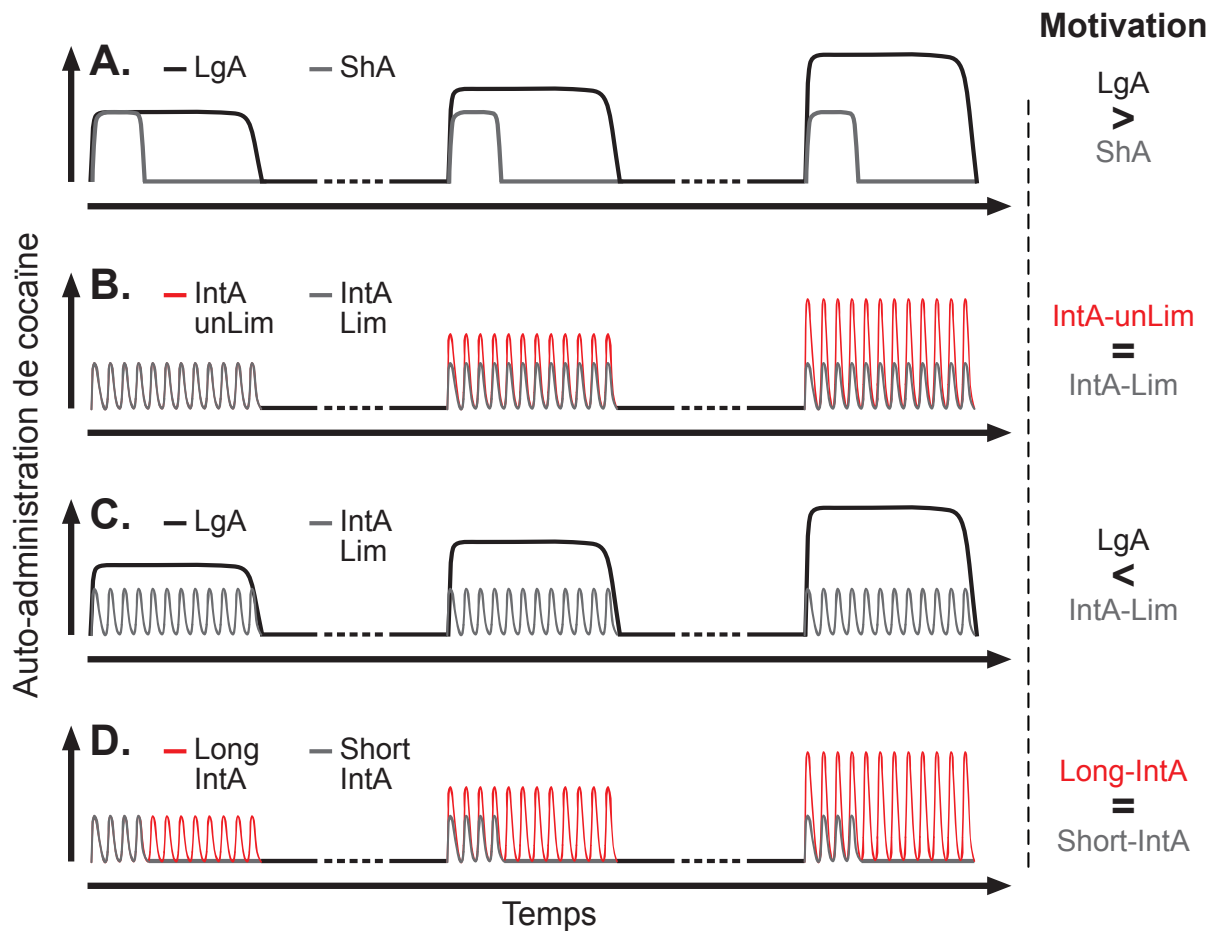


Fig. 2. Quand l'accès à la cocaïne est intermittent, ni la quantité de drogue consommée, ni l'augmentation de la consommation dans le temps, ni la durée de la session ne limitent le développement d'une motivation excessive pour la drogue. (A) Basés sur les travaux de Ahmed and Koob (1998), des rats LgA consomment plus de cocaïne que des rats ShA. Les rats LgA augmentent leur consommation dans le temps alors que les rats ShA conservent une consommation stable dans le temps. Les rats LgA développent également une motivation pour la cocaïne plus grande que les rats ShA. **(B)** Des rats IntA-unLim, sans limitation dans leur nombre d'injections autorisées au sein des périodes actives d'accès à la cocaïne, augmentent leur consommation dans le temps mais ceci n'est pas critique au développement d'une motivation excessive pour la cocaïne. **(C)** Des rats IntA-Lim où l'augmentation de la consommation dans le temps a été bloquée, consomment beaucoup moins de cocaïne que des rats LgA (qui eux augmentent leur consommation dans le temps), mais développent une motivation pour la cocaïne plus importante. **(D)** Des rats Short-IntA consomment beaucoup moins de cocaïne que des rats Long-IntA (parce que la durée de la session est trois fois plus courte), pour autant les deux groupes développent une motivation pour la cocaïne similaire.

Nos résultats associés à la littérature montrent que des rats LgA et des rats IntA (sessions de 6 heures) peuvent tous deux augmenter leur consommation de cocaïne à travers les sessions (Ahmed and Koob, 1998; Kawa et al., 2016; Pitchers et al., 2017; Allain et al., 2018; Allain and Samaha, 2018; Singer et al., 2018). Mais aussi, pour ces deux conditions d'accès

à la cocaïne, continu ou intermittent, la durée de la session semble critique au développement de cette plasticité comportementale. En effet, des rats LgA augmentent leur consommation dans le temps alors que la consommation reste stable chez des rats ShA (Ahmed and Koob, 1998). De même, des rats Long-IntA augmentent leur consommation dans le temps alors que la consommation reste stable chez des rats Short-IntA (Allain and Samaha, 2018). À première vue, ces résultats laisseraient supposer que la neuro-plasticité comportementale engagée par l'auto-administration IntA et LgA est la même. Mais ceci est faux ! Des rats IntA démontrent à la fois des valeurs de Pmax (Zimmer et al., 2012) et des points de rupture plus élevés (Allain et al., 2018) que des rats LgA, et ce bien qu'ils aient consommé moins de cocaïne par le passé (Zimmer et al., 2012; Allain et al., 2018). Mais aussi, Calipari et al. (2013b) ont démontré que la capacité de la cocaïne à inhiber le DAT dans le Nac était augmentée chez des rats IntA alors qu'elle était diminuée chez des rats LgA. Ceci suggère qu'un schéma de consommation intermittent de cocaïne est critique pour le développement de la sensibilisation neurocomportementale (Zimmer et al., 2012; Calipari et al., 2013b; Allain et al., 2017; Allain et al., 2018). Ainsi, Kawa et al. (2016) ont émis l'hypothèse que ces deux neuro-adaptations, bien que différentes, pouvaient toutes deux favoriser l'augmentation de la consommation dans le temps mais pour différentes raisons. Les auteurs émettent le postulat que l'augmentation des doses dans le temps pourrait être la conséquence à la fois d'une tolérance de la valeur hédonique de la cocaïne (diminution du plaisir) chez des rats LgA mais aussi d'une sensibilisation de la valeur incitative de la drogue (augmentation du désir) chez des rats IntA (Kawa et al., 2016). Pour renforcer ce point, en économie comportementale, l'auto-administration LgA de cocaïne augmente à la fois la motivation des animaux pour la cocaïne (diminution de α = augmentation de la demande de drogue) ainsi que la valeur de Q0 (Bentzley et al., 2014). À l'inverse, l'auto-administration IntA de cocaïne augmente sélectivement la motivation des animaux pour la cocaïne (diminution de α , augmentation de Pmax) sans affecter la valeur de Q0 (Kawa et al., 2016; Singer et al., 2018). Pour rappel (section 3.2.3, **chapitre I**), Q0 est un indice de consommation 'facile' de la cocaïne, indiquant les niveaux de base de drogue préférés par les animaux (à un moment où peu d'effort est requis pour obtenir

la dose de choix). Alpha et Pmax analysent quant à eux la persévérance des animaux à maintenir leurs niveaux de cocaïne au cerveau stables (quand la cocaïne devient plus coûteuse) et sont donc tous deux des indices de la motivation des animaux pour la drogue.

Bien que des sessions IntA et LgA favorisent l'augmentation de la consommation dans le temps, une analyse plus poussée de cette plasticité comportementale montre plusieurs différences entre les deux conditions d'accès. En effet, l'augmentation de la consommation entre les sessions est observée pour les deux conditions, mais seul un accès IntA peut promouvoir une augmentation de la consommation au sein même des sessions [i.e. entre les périodes actives d'accès à la cocaïne (Allain et al., 2018)]. Par ailleurs, quand l'accès à la cocaïne est continu, les animaux chargent leurs niveaux de drogue au cerveau très rapidement au début de la session (i.e. quand les niveaux de cocaïne au cerveau sont nuls) puis les maintiennent élevés pour le restant de la session. De manière intéressante, Ahmed and Koob (1998) ont démontré que cette phase de chargement rapide des niveaux de cocaïne au cerveau en début de session était plus robuste chez des rats LgA versus des rats ShA. Ceci suggère que l'intensité du chargement des niveaux de cocaïne au cerveau, quand l'accès à la drogue est continu, dépend de l'augmentation de la consommation dans le temps. Les auteurs ont donc émis l'hypothèse d'un changement dans le point hédonique homéostatique chez les rats LgA versus les rats ShA. À l'inverse des rats LgA, des rats IntA ont de multiples occasions de charger rapidement leurs niveaux de cocaïne au cerveau au sein de chaque session [les niveaux de cocaïne au cerveau diminuent pendant les périodes inactives de 25-26 min où la cocaïne n'est pas disponible (Zimmer et al., 2011; Zimmer et al., 2012)]. Nous démontrons que les rats IntA développent une consommation type 'burst' et que cet effet se sensibilise dans le temps quelle que soit la durée de la session (Allain et al., 2018; Allain and Samaha, 2018). Chaque 'burst' de consommation est défini par l'auto-administration de plusieurs injections de cocaïne à des intervalles très rapprochés (voir **Fig. 20B, chapitre I**). Cette consommation type 'burst' est susceptible d'augmenter la recherche de drogue des animaux (Belin et al., 2009; Martin-Garcia et al., 2014). Nos données révèlent que quand l'accès à la

cocaïne est intermittent, le développement d'un comportement type 'burst' est indépendant de l'augmentation de la consommation dans le temps (Allain and Samaha, 2018). Ces résultats nuancent une nouvelle fois les changements dans la consommation observés quand l'accès à la cocaïne est intermittent versus continu.

Pour finir, bloquer l'augmentation de la consommation de cocaïne chez des rats IntA n'empêche pas le développement d'une motivation excessive pour la drogue (IntA-Lim versus IntA-unLim, **Fig. 2B**). Des rats IntA-Lim ayant une consommation stable et 7 à 8 fois plus faible que des rats LgA développent même une motivation pour la drogue plus importante (**Fig. 2C**). Alors que des rats LgA sont plus motivés à obtenir la cocaïne sous ratio progressif que des rats ShA (Paterson and Markou, 2003), des rats Long-IntA et Short-IntA développent une motivation similaire pour la drogue (**Fig. 2D**). Ces résultats (Allain et al., 2018; Allain and Samaha, 2018) suggèrent que l'augmentation de la consommation dans le temps, dans un contexte IntA, n'est pas nécessaire pour permettre le développement d'adaptations comportementales pertinentes à l'addiction, alors qu'elle semble l'être quand l'accès à la cocaïne est continu. La fluctuation des niveaux de cocaïne au cerveau serait donc plus importante que la quantité de drogue consommée pour promouvoir la sensibilisation du désir pour la drogue. Par ailleurs, une exposition très brève à 3 sessions IntA sensibilise la motivation des animaux pour la drogue et augmente la capacité de la cocaïne à inhiber le DAT (Calipari et al., 2015). Il est donc très probable que cette sensibilisation neurobiologique soit également mesurable chez des rats Short-IntA. En conclusion, ces données remettent en question l'importance d'une consommation élevée qui augmente dans le temps au sein de sessions prolongées quotidiennes pour la mise en place d'une plasticité neurocomportementale pertinente à l'addiction. Nos données suggèrent que l'augmentation de la consommation de cocaïne observée chez des toxicomanes (Gawin and Kleber, 1988; Gawin, 1991; APA, 2013) serait plus une conséquence qu'une cause de la maladie.

Indéniablement, nos données associées à celles de la littérature remettent en question l'utilisation du modèle LgA en tant que modèle animal 'phare' de l'addiction. Le modèle LgA prédomine la recherche préclinique sur l'addiction depuis 1998 – année où ce modèle a été démontré comme efficace pour promouvoir des symptômes de la toxicomanie (Ahmed and Koob, 1998). Pour autant, nous pensons aujourd'hui que ce modèle n'est pas adapté et que nous devons nous remettre en question pour faire avancer la recherche sur l'addiction. L'argument le plus percutant en faveur de cette analyse est que des consommateurs humains de cocaïne ne s'exposeraient pas en continu à la drogue pendant des heures et des heures par jour (Beveridge et al., 2012). Pour toute maladie, le meilleur modèle animal est celui qui va mimer au plus près le comportement humain. De fait, le modèle LgA semble bien éloigné de la réalité clinique. Face à ce constat, Zimmer et al. (2011) ont imaginé le modèle IntA qui souhaite représenter la prise intermittente de cocaïne des usagers expérimentés de drogue au sein d'un 'binge' de consommation (Beveridge et al., 2012). Bien que le modèle IntA soit encore très récent, les résultats sont probants : Malgré une consommation plus faible de cocaïne, des rats IntA deviennent beaucoup plus motivés à obtenir la drogue que des rats LgA, un symptôme de la toxicomanie (Zimmer et al., 2012; Allain et al., 2018). Par ailleurs, les deux modèles peuvent promouvoir une plasticité neurobiologique qui s'oppose (Calipari et al., 2013b). Nos données révèlent que le modèle IntA favorise de façon plus robuste la transition vers l'addiction que le modèle LgA, et ceci pourrait être la conséquence d'une meilleure modélisation du schéma de consommation en pics de cocaïne observé chez les usagers expérimentés de drogue. Ceci est fondamental puisque les modèles animaux sont une base pour tester des traitements pharmacologiques dans le but d'aider les consommateurs pathologiques de drogue.

Il est évident qu'il faut rester prudent. Il n'existe pas de modèle parfait et le modèle IntA a bien évidemment ses défauts. Les consommateurs de cocaïne ne vont pas consommer leur drogue tous les jours à heure régulière – ce qui est généralement favorisé avec nos modèles animaux. Mais aussi, dans un contexte clinique, les consommateurs ont accès à d'autres

récompenses et ont ainsi d'autres choix que de consommer leur drogue – nos animaux sont dans des cages opérantes où leur activité principale est de s'auto-administrer de la drogue sans récompense alternative, ceci peut donc être critiqué (Ahmed et al., 2013). Pour finir, les consommateurs ne vont généralement pas se contenter d'une seule drogue et vont avoir ce qu'on appelle une *poly-consommation* – générant ainsi des interactions entre les drogues. Il est donc important d'être conscient des limites de chaque modèle. La comparaison des modèles est donc primordiale pour se faire une opinion du meilleur modèle à adopter. Dans notre cas, nous pensons que le modèle IntA est plus utile que le modèle LgA (et cliniquement plus pertinent) pour étudier les changements neurobiologiques et comportementaux relatifs à l'addiction (Kawa et al., 2018).

Manipuler la pharmacocinétique de la cocaïne chez le rat pour *traiter* un phénotype toxicomane

Encore aujourd'hui il n'existe pas de traitement pharmacologique approuvé par la FDA (US Food and Drug Administration) pour l'addiction à la cocaïne (Vocci and Ling, 2005). Nos données ainsi que la littérature suggèrent qu'un schéma de consommation intermittent de la cocaïne – qui génère des pics de drogue au cerveau – est très à risque pour le développement de la toxicomanie. Théoriquement, aplatir/élargir ces pics de cocaïne au cerveau pourrait être une piste thérapeutique intéressante. Pour se faire, la cocaïne pourrait être substituée par un agoniste ayant une pharmacocinétique différente avec une durée d'action plus longue (libération prolongée) et/ou une arrivée au cerveau plus lente en changeant la voie de son administration (Gorelick, 1998; Carroll et al., 1999; Grabowski et al., 2004; Negus and Henningfield, 2015). L'utilisation de stimulants pour traiter l'addiction à la cocaïne peut surprendre et faire peur du fait des propriétés addictives propres à l'agoniste (Crowley, 1984). Cependant, des stimulants sont déjà utilisés pour traiter d'autres pathologies comme la narcolepsie ou des troubles de l'attention et cet usage thérapeutique des stimulants, quand contrôlé peut ne pas être problématique (Kollins, 2003; Grabowski et al., 2004).

Par ailleurs, des traitements de substitution sont aujourd'hui déjà utilisés pour d'autres addictions comme l'addiction à l'héroïne et l'addiction au tabac. En effet, l'utilisation de la méthadone est un traitement efficace pour aider les héroïnomanes à ne pas rechuter en les maintenant dans une 'zone de confort' qui les protège des effets négatifs et positifs de la drogue (Dole et al., 1966; Dole and Nyswander, 1967; O'Connor, 2005; Kleber, 2008). La méthadone administrée par voie orale a une durée d'action beaucoup plus longue que l'héroïne administrée par voie intraveineuse [24-36 h versus 3-6 h, respectivement (Kreek, 2000)]. De la même manière, la nicotine peut être utilisée comme traitement pour l'addiction au tabac en utilisant des gommes à mâcher, des vaporisateurs ou plus communément des patchs transdermiques (Henningfield and Keenan, 1993; Henningfield, 1995; Stead et al., 2012). Cette libération plus lente et prolongée de la drogue peut contrer à la fois (1) les fluctuations des niveaux de nicotine générés quand une cigarette est fumée toutes les heures mais aussi (2) le bolus de drogue amené au cerveau par la prise en bouffées de chaque

cigarette (Russell and Feyerabend, 1978). L'utilisation des produits de substitution doit généralement se faire sur le long terme pour maintenir les patients abstinents de leur drogue de choix. Pour la méthadone, elle peut être utilisée uniquement pendant le sevrage afin d'éviter les symptômes négatifs liés au retrait de l'héroïne ou alors elle peut être prescrite pour éviter des événements de rechute. Dans ce deuxième cas, la méthadone peut être prescrite pendant plusieurs mois, plusieurs années voir toute la vie. L'efficacité du traitement peut résulter de la capacité des patients à le respecter. Par exemple, l'efficacité des traitements de substitution pour l'addiction au tabac – traitements qui sont en libre-service (e.g. patches) – est très faible, ceci pouvant être le résultat de l'automédication et/ou d'un traitement mal respecté.

Pour l'addiction à la cocaïne, les traitements de substitution sont également une perspective thérapeutique intéressante. L'exposition libre à des arômes de cocaïne pendant l'extinction pourrait réduire le 'craving' pour la drogue chez certaines personnes (Siegel, 1984b). Des capsules de cocaïne administrées chroniquement par voie orale pourraient réduire certains effets physiologiques et subjectifs d'une dose rappel i.v. de cocaïne (Walsh et al., 2000) et des infusions quotidiennes de sachets de thé contenant de la cocaïne pourraient diminuer la rechute chez des fumeurs de pâte de coca (Llosa, 1994). Cependant, la durée d'action de la cocaïne est très brève ce qui peut limiter les effets. Une possibilité est de permettre une diffusion continue de la drogue (Glowa and Fantegrossi, 1997) ou d'utiliser un agoniste dopaminergique ayant une pharmacodynamie similaire à celle de la cocaïne avec une pharmacocinétique différente (Gorelick, 1998; Carroll et al., 1999; Grabowski et al., 2004; Negus and Henningfield, 2015). L'amphétamine, en plus de bloquer la recapture de DA via le DAT tout comme la cocaïne, permet aussi la libération directe de DA (Heikkila et al., 1975a; Heikkila et al., 1975b). Les données cliniques et précliniques sur l'efficacité d'un traitement à l'amphétamine pour réduire des symptômes de l'addiction à la cocaïne sont prometteuses. En effet, chez des cocaïnomanes, une libération soutenue d'amphétamine diminue le choix pour la cocaïne comparativement à une dose placebo et diminue aussi la recherche de drogue (Greenwald et al., 2010; Rush et al., 2010). Des essais cliniques tendent également à

démontrer une diminution de la consommation de cocaïne chez des patients traités de façon prolongée avec de l'amphétamine (Grabowski et al., 2001; Shearer et al., 2003; Mariani et al., 2012). Des études précliniques sur le singe ou le rat montrent qu'un traitement chronique à l'amphétamine diminue le choix pour la cocaïne, la facilitation de l'autostimulation intracrânienne par la cocaïne, l'auto-administration de cocaïne, la motivation des animaux pour la cocaïne ainsi que la vulnérabilité à la rechute induite par la drogue (Peltier et al., 1996; Negus, 2003; Negus and Mello, 2003b, a; Chiodo et al., 2008; Chiodo and Roberts, 2009; Czoty et al., 2010; Czoty et al., 2011; Banks et al., 2013; Thomsen et al., 2013; Bauer et al., 2014; Zimmer et al., 2014; Czoty et al., 2015; Siciliano et al., 2018). De manière intéressante, plusieurs de ces études ont établi que la libération continue d'amphétamine diminuait le nombre de réponses pour la cocaïne sous ratio progressif (Peltier et al., 1996; Negus and Mello, 2003a; Chiodo et al., 2008; Chiodo and Roberts, 2009; Czoty et al., 2010; Czoty et al., 2011; Zimmer et al., 2014). Le ratio progressif est un programme où l'exigence pour obtenir l'injection 'n+1' de cocaïne augmente exponentiellement. Il est donc très probable que les niveaux de cocaïne au cerveau soient élevés en début de la session (au moment où l'exigence de la tâche est faible) puis qu'ils fluctuent ensuite d'une injection à l'autre (quand l'exigence devient élevée). Il est donc tentant d'émettre l'hypothèse que l'amphétamine atténuerait ces pics de cocaïne au cerveau pendant le ratio progressif et diminuerait ainsi la recherche de drogue.

Dans le **chapitre V** de ma thèse [résumés publiés par *the College on Problems of Drugs Dependence* (Allain and Samaha, 2017a) et *the Canadian Association for Neurosciences* (Allain and Samaha, 2017b)], j'ai évalué l'efficacité d'un traitement continu à l'amphétamine – pendant l'auto-administration intermittente de cocaïne – à diminuer la motivation future des animaux pour la drogue ainsi que la vulnérabilité à la rechute induite par la cocaïne. L'amphétamine [isomère d-amphétamine (Heikkila et al., 1975b)] était libérée par mini-pompe sous-cutanée à une dose de 5 mg/kg/jour. Cette dose a été sélectionnée car elle est efficace à diminuer les points de rupture des animaux de manière sélective pour la cocaïne sans

affecter ceux pour la nourriture (Chiodo et al., 2008). De plus, comparativement à des doses plus élevées d'amphétamine, cette dose modérée n'induit pas de stéréotypie et de perte de poids des animaux (Nielsen, 1981; Sams-Dodd, 1998; Chiodo et al., 2008). Des rats contrôles (Ctrl) se sont auto-administrés de la cocaïne pendant 14 sessions IntA sans traitement amphétamine. Pendant l'expérience 1, le traitement à l'amphétamine a été testé à deux temps différents, chez des rats naïfs (Amph-1) et chez des rats expérimentés s'étant déjà auto-administrés de la cocaïne en conditions contrôles (Amph-2). Voici les principales conclusions de cette expérience :

- L'amphétamine en libération continue, chez des rats naïfs (Amph-1) et expérimentés (Amph-2), ne diminue pas l'auto-administration moyenne de cocaïne à travers les sessions IntA.
- L'amphétamine en libération continue, chez des rats naïfs (Amph-1) et expérimentés (Amph-2), atténue les pics de locomotion générés par l'auto-administration intermittente de cocaïne en conditions contrôles.
- L'amphétamine en libération continue est efficace à diminuer le développement (Amph-1) et l'expression (Amph-2) d'une motivation excessive pour la cocaïne.
- L'amphétamine en libération continue est efficace à diminuer la vulnérabilité à la rechute induite par la cocaïne (Amph-1).

Un accès IntA à la cocaïne est très à risque pour le développement d'une motivation excessive pour la cocaïne (Zimmer et al., 2012; Allain et al., 2018). Un tel accès favorise l'établissement de pics de cocaïne au cerveau au sein de chaque session (Zimmer et al., 2011; Zimmer et al., 2012). Les niveaux de cocaïne et de DA au cerveau étant étroitement liés (Hurd et al., 1988; Nicolaysen et al., 1988; Minogianis et al., 2018), ceci suggère qu'un paradigme IntA génère des pics de DA au cerveau. Nos données révèlent qu'un traitement continu à l'amphétamine – pendant l'auto-administration intermittente de cocaïne – est efficace à diminuer à la fois le développement et l'expression de symptômes pertinents à l'addiction. La libération continue d'amphétamine atténue les pics de locomotion normalement vus au sein d'une session d'auto-administration IntA de cocaïne. Sachant que l'activité locomotrice des

animaux en réponse à une injection de cocaïne corrèle avec les niveaux de DA au cerveau (Shou et al., 2006), notre hypothèse est que l'exposition continue à l'amphétamine contribue également à l'atténuation des pics de DA au cerveau. Cet aplatissement des pics de DA pourrait être responsable de l'efficacité thérapeutique de l'amphétamine. À noter qu'il est peu probable que l'efficacité thérapeutique de l'amphétamine résulte uniquement d'une diminution de l'amplitude des pics de DA puisque nous avons vu précédemment que des rats IntA-unLim (pics élevés de cocaïne/DA) étaient autant motivés à obtenir la cocaïne sous ratio progressif que des rats IntA-Lim [diminution de l'amplitude des pics de cocaïne/DA (Allain et al., 2018), voir aussi **Fig. 2B**]. Théoriquement, l'amphétamine modifierait la dynamique temporelle des pics de DA au cerveau – en les aplatissant/élargissant. Nos résultats suggèrent que le traitement Amph-1 a empêché la mise en place de ces pics de DA et a ainsi contré le développement d'une motivation excessive pour la cocaïne. Le traitement Amph-2 est cliniquement plus pertinent que le traitement Amph-1 puisque les rats ont été au préalable exposés à des sessions IntA sans traitement et expriment donc déjà une motivation excessive pour la drogue. Ce deuxième traitement nous révèle que cette motivation excessive pour la drogue n'est pas irréversible et qu'elle peut être diminuée. Le 1^{er} traitement (Amph-1) est essentiel pour comprendre la plasticité neurobiologique qui se met en place lors de la transition vers la toxicomanie (voir expérience 2). Le 2^{ème} traitement (Amph-2) est quant à lui cliniquement beaucoup plus pertinent puisqu'il cherche à proposer un traitement à des patients qui expriment déjà la pathologie.

La capacité de la cocaïne à inhiber le DAT est augmentée après l'auto-administration IntA de cocaïne et diminuée après l'auto-administration LgA de cocaïne (Calipari et al., 2013b). Notre théorie est que cette sensibilisation du système dopaminergique engagée par l'auto-administration IntA de cocaïne serait responsable de la sensibilisation du désir pour la drogue observée par une telle exposition (Zimmer et al., 2012; Calipari et al., 2015; Allain et al., 2018). Ainsi, l'hypothèse est que la sensibilisation des effets de la cocaïne sur le DAT serait bloquée par une libération continue d'amphétamine pendant l'auto-administration IntA de cocaïne,

diminuant ainsi le désir pour la drogue. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons généré une nouvelle cohorte d'animaux (expérience 2) pouvant s'auto-administrer de la cocaïne (ou une solution saline) par intermittence avec ou sans co-administration passive d'amphétamine. Après les 14 sessions d'auto-administration de cocaïne (ou de salin) et l'interruption du traitement (retrait des mini-pompes), nous avons évalué la capacité de la cocaïne à inhiber le DAT par voltamétrie ex vivo. Comparativement aux rats salin (avec ou sans amphetamine), l'auto-administration intermittente de cocaïne favorise la sensibilisation des effets de la cocaïne sur le DAT (voir **Fig. 7F, chapitre V**) comme ce qui avait déjà été rapporté par Calipari et al. (2013b). En revanche, cette sensibilisation n'est plus présente chez des rats s'étant auto-administrés de la cocaïne par intermittence avec co-administration passive d'amphétamine (voir **Fig. 7F, chapitre V**). Ceci nous suggère que le traitement à l'amphétamine est non seulement efficace à empêcher le développement de la sensibilisation du désir pour la drogue mais aussi à empêcher le développement de la sensibilisation dopaminergique.

L'auto-administration LgA de cocaïne – à l'inverse de l'auto-administration IntA – favorise le développement de mécanismes de tolérance, avec une diminution de la capacité de la cocaïne à bloquer le DAT (Calipari et al., 2013b). Une étude récente a démontré que la libération continue d'amphétamine pendant l'auto-administration LgA de cocaïne prévenait la mise en place de la tolérance des effets de la cocaïne sur le DAT (Siciliano et al., 2018). Ceci est tout à fait fascinant, puisque l'amphétamine semble efficace à diminuer à la fois la sensibilisation dopaminergique évoquée par l'auto-administration IntA de cocaïne ainsi que la tolérance dopaminergique évoquée par l'auto-administration LgA de drogue – deux plasticités neurobiologiques qui s'opposent. Pour émettre cette conclusion, il serait fondamental d'effectuer une expérience où les deux protocoles seraient comparés directement. Des rats IntA et LgA seraient comparés avec et sans traitement à l'amphétamine. Quoiqu'il en soit, à l'heure actuelle nos données suggèrent que les deux paradigmes IntA et LgA s'opposent une nouvelle fois et il est donc tentant d'imaginer que le traitement à l'amphétamine pourrait être efficace à diminuer la motivation des animaux pour la cocaïne chez des rats IntA et LgA (Allain

and Samaha, 2017a, b; Siciliano et al., 2018) mais pour différentes raisons. L'un en diminuant le développement de la sensibilisation dopaminergique, l'autre en diminuant le développement de la tolérance dopaminergique.

Rappelons que pendant l'auto-administration IntA de cocaïne, l'amphétamine était inefficace à diminuer la consommation *moyenne* de cocaïne ainsi que l'augmentation de la consommation de drogue dans le temps (voir **Fig. 2A, chapitre V**). Pour autant, l'amphétamine était efficace à diminuer la motivation future des rats pour la drogue ainsi que la vulnérabilité à la rechute induite par la cocaïne sur le plus long terme (voir **Figs. 3 & 4, chapitre V**). En parallèle, pendant l'auto-administration LgA de cocaïne, l'amphétamine était efficace à diminuer (1) la consommation *moyenne* de cocaïne, (2) l'augmentation de la consommation dans le temps et (3) la motivation future (P_{max}) des animaux pour la drogue (Siciliano et al., 2018). Bien que la consommation *moyenne* de cocaïne au fil des sessions IntA reste inchangée par un traitement à l'amphétamine, il faut noter que le comportement de consommation est très variable chez les animaux de ce groupe (voir **Fig. 2A & Fig. 7B, chapitre V**). Ceci semble moins être le cas chez des rats LgA traités avec de l'amphétamine (Siciliano et al., 2018). Ainsi, le traitement Amph-1 pourrait également être efficace à diminuer la consommation de cocaïne chez une sous-population de rats IntA, même si ceci ne se reflète pas dans la consommation *moyenne* du groupe. Il serait donc pertinent de générer des plus grosses cohortes d'animaux IntA et LgA traités ou non avec de l'amphétamine et ainsi d'évaluer l'hétérogénéité du traitement selon chaque paradigme comportemental.

Pour finir, rappelons que les paradigmes IntA et LgA favorisent tous deux l'augmentation de la consommation dans le temps. À ce stade, nous avons démontré qu'il était peu probable que cette plasticité comportementale favorisée par les deux paradigmes d'auto-administration de cocaïne, résulte d'une même plasticité neurobiologique. Kawa et al. (2016) avaient émis l'hypothèse que l'augmentation des doses dans le temps pourrait résulter à la fois d'une diminution du plaisir pour la drogue chez les rats LgA (tolérance) et d'une augmentation du

désir pour la drogue chez les rats IntA (sensibilisation). Ainsi l'amphétamine pourrait être efficace à empêcher la diminution du plaisir pour la drogue (empêcher la mise en place de mécanismes de tolérance) chez les rats LgA et pourrait être efficace à empêcher l'augmentation du désir pour la drogue (empêcher la mise en place de mécanismes de sensibilisation) chez les rats IntA.

Conclusion générale

Ma thèse s'est intéressée à mieux comprendre l'influence des variables pharmacocinétiques de la cocaïne dans l'établissement d'un phénotype toxicomane. La quantité, la vitesse et la fréquence d'administration de la cocaïne sont des facteurs de risque. La quantité de drogue consommée (consommer beaucoup de drogue, augmenter les doses dans le temps) a longtemps été considérée comme cause pharmacocinétique majoritaire de la transition vers la toxicomanie. Nous démontrons ici que ceci est faux et que même une très faible exposition à la cocaïne, qui est stable dans le temps, peut favoriser le développement d'une motivation excessive pour la drogue à partir du moment où la vitesse d'administration de la cocaïne est rapide et que les niveaux de drogue au cerveau sont fluctuants. Ainsi, des pics rapides de cocaïne au cerveau peuvent être plus à risque que la quantité de drogue consommée dans la sensibilisation du désir pour la drogue. Encore aujourd'hui il n'existe pas de traitement pharmacologique approuvé pour l'addiction à la cocaïne. Une possibilité est que les modèles animaux existants pourraient être raffinés davantage pour représenter de manière plus convaincante la réalité clinique de l'addiction. Nos données suggèrent que l'augmentation de la consommation dans le temps, longtemps utilisée comme critère diagnostique de l'addiction en recherche préclinique, serait plus une conséquence qu'une cause de l'addiction. Faire varier d'autres variables pharmacocinétiques de la cocaïne que la quantité de drogue consommée est donc primordial pour modéliser l'addiction chez l'animal et ainsi évaluer de nouveaux traitements.

RÉFÉRENCES CHAPITRES I & VI

- Abreu M. E., Bigelow G. E., Fleisher L., Walsh S. L. (2001) Effect of intravenous injection speed on responses to cocaine and hydromorphone in humans. *Psychopharmacology* 154: 76-84.
- Addy N. A., Daberkow D. P., Ford J. N., Garris P. A., Wightman R. M. (2010) Sensitization of rapid dopamine signaling in the nucleus accumbens core and shell after repeated cocaine in rats. *Journal of Neurophysiology* 104: 922-931.
- Adewale A. S., Platt D. M., Spealman R. D. (2006) Pharmacological stimulation of group ii metabotropic glutamate receptors reduces cocaine self-administration and cocaine-induced reinstatement of drug seeking in squirrel monkeys. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 318: 922-931.
- Ahmed S. H. (2012) The science of making drug-addicted animals. *Neuroscience* 211: 107-125.
- Ahmed S. H., Cador M. (2006) Dissociation of psychomotor sensitization from compulsive cocaine consumption. *Neuropsychopharmacology* 31: 563-571.
- Ahmed S. H., Koob G. F. (1998) Transition from moderate to excessive drug intake: change in hedonic set point. *Science* 282: 298-300.
- Ahmed S. H., Koob G. F. (1999) Long-lasting increase in the set point for cocaine self-administration after escalation in rats. *Psychopharmacology* 146: 303-312.
- Ahmed S. H., Lenoir M., Guillem K. (2013) Neurobiology of addiction versus drug use driven by lack of choice. *Current Opinion in Neurobiology* 23: 581-587.
- Allain F., Bouayad-Gervais K., Samaha A. N. (2018) High and escalating levels of cocaine intake are dissociable from subsequent incentive motivation for the drug in rats. *Psychopharmacology* 235: 317-328.
- Allain F., Minogianis E. A., Roberts D. C., Samaha A. N. (2015) How fast and how often: The pharmacokinetics of drug use are decisive in addiction. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 56: 166-179.
- Allain F., Roberts D. C., Levesque D., Samaha A. N. (2017) Intermittent intake of rapid cocaine injections promotes robust psychomotor sensitization, increased incentive motivation for the drug and mGlu2/3 receptor dysregulation. *Neuropharmacology* 117: 227-237.

- Allain F., Samaha A. N. (2017a) Continuous d-amphetamine treatment during intermittent cocaine intake reduces addiction-like behaviors. Published abstract (ID: 111) for the College on Problems of Drug Dependence Annual Meeting, Montreal, QC.
- Allain F., Samaha A. N. (2017b) Continuous d-amphetamine treatment during intermittent cocaine self-administration attenuates incentive motivation for cocaine and cocaine-induced reinstatement of drug seeking. Published abstract (ID: 3-F-184) for the Canadian Association for Neuroscience Annual Meeting, Montreal, QC.
- Allain F., Samaha A. N. (2018) Revisiting long-access versus short-access cocaine self-administration in rats: intermittent intake promotes addiction symptoms independent of session length. *Addiction Biology*, ePub: doi: 101111/adb12629.
- Ambre J. (1985) The urinary excretion of cocaine and metabolites in humans: a kinetic analysis of published data. *Journal of Analytical Toxicology* 9: 241-245.
- Ambre J., Fischman M., Ruo T. I. (1984) Urinary excretion of ecgonine methyl ester, a major metabolite of cocaine in humans. *Journal of Analytical Toxicology* 8: 23-25.
- Anthony J. C., Warner L. A., Kessler R. C. (1994) Comparative epidemiology of dependence on tobacco, alcohol, controlled substances, and inhalants: Basic findings from the national comorbidity survey. *Experimental and Clinical Psychopharmacology* 2: 244-268.
- APA (1994) DSM IV Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. American Psychiatric Association.
- APA (2013) DSM V Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. American Psychiatric Association.
- Arnold J. M., Roberts D. C. (1997) A critique of fixed and progressive ratio schedules used to examine the neural substrates of drug reinforcement. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 57: 441-447.
- Aujla H., Martin-Fardon R., Weiss F. (2008) Rats with extended access to cocaine exhibit increased stress reactivity and sensitivity to the anxiolytic-like effects of the mGluR 2/3 agonist LY379268 during abstinence. *Neuropsychopharmacology* 33: 1818-1826.
- Baker D. A., McFarland K., Lake R. W., Shen H., Tang X. C., Toda S., Kalivas P. W. (2003) Neuroadaptations in cystine-glutamate exchange underlie cocaine relapse. *Nature Neuroscience* 6: 743-749.
- Baker D. A., Xi Z. X., Shen H., Swanson C. J., Kalivas P. W. (2002) The origin and neuronal function of in vivo nonsynaptic glutamate. *Journal of Neuroscience* 22: 9134-9141.

- Balster R. L., Schuster C. R. (1973) Fixed-interval schedule of cocaine reinforcement: effect of dose and infusion duration. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior* 20: 119-129.
- Banks M. L., Blough B. E., Negus S. S. (2013) Effects of 14-day treatment with the schedule III anorectic phendimetrazine on choice between cocaine and food in rhesus monkeys. *Drug and Alcohol Dependence* 131: 204-213.
- Baptista M. A., Martin-Fardon R., Weiss F. (2004) Preferential effects of the metabotropic glutamate 2/3 receptor agonist LY379268 on conditioned reinstatement versus primary reinforcement: comparison between cocaine and a potent conventional reinforcer. *Journal of Neuroscience* 24: 4723-4727.
- Baptista M. A., Martin-Fardon R., Weiss F. (2005) Effects of LY379268, an mGlu2/3 agonist, on cocaine self-administration and cocaine prime-induced cocaine seeking behavior in cocaine-escalated versus nonescalated rats (on-line). *Soc Neurosci Abstr*, Program 5613, Society for Neuroscience, Washington, DC.
- Bardo M. T., Bevins R. A. (2000) Conditioned place preference: what does it add to our preclinical understanding of drug reward? *Psychopharmacology* 153: 31-43.
- Bardo M. T., Klebaur J. E., Valone J. M., Deaton C. (2001) Environmental enrichment decreases intravenous self-administration of amphetamine in female and male rats. *Psychopharmacology* 155: 278-284.
- Bauer C. T., Banks M. L., Negus S. S. (2014) The effect of chronic amphetamine treatment on cocaine-induced facilitation of intracranial self-stimulation in rats. *Psychopharmacology* 231: 2461-2470.
- Bedi G., Preston K. L., Epstein D. H., Heishman S. J., Marrone G. F., Shaham Y., de Wit H. (2011) Incubation of cue-induced cigarette craving during abstinence in human smokers. *Biological Psychiatry* 69: 708-711.
- Belin D., Balado E., Piazza P. V., Deroche-Gamonet V. (2009) Pattern of intake and drug craving predict the development of cocaine addiction-like behavior in rats. *Biological Psychiatry* 65: 863-868.
- Bell S. M., Macenski M. J., Silverman P. B., Meisch R. A. (1993) Water deprivation-induced oral self-administration of cocaine in the Lewis rat: evidence for locomotor effects but not reinforcement. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 45: 749-754.
- Bell S. M., Silverman P. B., Lemaire G. A., Meisch R. A. (1995) The failure of cocaine to serve as an orally self-administered reinforcer in Lewis rats. *Behavioural Pharmacology* 6: 366-374.

- Ben-Shahar O., Ahmed S. H., Koob G. F., Ettenberg A. (2004) The transition from controlled to compulsive drug use is associated with a loss of sensitization. *Brain Research* 995: 46-54.
- Ben-Shahar O., Moscarello J. M., Jacob B., Roarty M. P., Ettenberg A. (2005) Prolonged daily exposure to i.v. cocaine results in tolerance to its stimulant effects. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 82: 411-416.
- Benchimol A., Bartall H., Desser K. B. (1978) Accelerated ventricular rhythm and cocaine abuse. *Annals of Internal Medicine* 88: 519-520.
- Benet L. Z., Zia-Amirhosseini P. (1995) Basic principles of pharmacokinetics. *Toxicologic Pathology* 23: 115-123.
- Benowitz N. L. (1990) Clinical pharmacology of inhaled drugs of abuse: implications in understanding nicotine dependence. *NIDA Research Monograph* 99: 12-29.
- Benowitz N. L., Henningfield J. E. (1994) Establishing a nicotine threshold for addiction. The implications for tobacco regulation. *New England Journal of Medicine* 331: 123-125.
- Bentzley B. S., Fender K. M., Aston-Jones G. (2013) The behavioral economics of drug self-administration: a review and new analytical approach for within-session procedures. *Psychopharmacology* 226: 113-125.
- Bentzley B. S., Jhou T. C., Aston-Jones G. (2014) Economic demand predicts addiction-like behavior and therapeutic efficacy of oxytocin in the rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111: 11822-11827.
- Berridge K. C., Robinson T. E. (1995) The mind of an addicted brain: neural sensitization of wanting versus liking. *Current Directions in Psychological Science* 4: 71-76.
- Beveridge T. J. R., Wray P., Brewer A., Shapiro B., Mahoney J. J., Newton T. F. (2012) Analyzing human cocaine use patterns to inform animal addiction model development. Published abstract for the College on Problems of Drug Dependence Annual Meeting, Palm Springs, CA.
- Bouayad-Gervais K., Minogianis E. A., Levesque D., Samaha A. N. (2014) The self-administration of rapidly delivered cocaine promotes increased motivation to take the drug: contributions of prior levels of operant responding and cocaine intake. *Psychopharmacology* 231: 4241-4252.
- Bozarth M. A., Wise R. A. (1985) Toxicity associated with long-term intravenous heroin and cocaine self-administration in the rat. *JAMA* 254: 81-83.

- Brebner K., Froestl W., Andrews M., Phelan R., Roberts D. C. (1999) The GABA(B) agonist CGP 44532 decreases cocaine self-administration in rats: demonstration using a progressive ratio and a discrete trials procedure. *Neuropharmacology* 38: 1797-1804.
- Brown P. L., Kiyatkin E. A. (2005) Brain temperature change and movement activation induced by intravenous cocaine delivered at various injection speeds in rats. *Psychopharmacology* 181: 299-308.
- Busto U., Sellers E. M. (1986) Pharmacokinetic determinants of drug abuse and dependence. A conceptual perspective. *Clinical Pharmacokinetics* 11: 144-153.
- Byck R., Van Dyke C. (1977) What are the effects of cocaine in man? In: *Petersen, R. C. and Stillman, R. C., eds. Cocaine : 1977. National Institute on Drug Abuse Research Monograph 13. DHEW Pub. No. (ADM) 77-741. Washington, D.C.: Supt. of Docs., U.S. Govt. Print. Off., 1977. pp. 97-118.*
- Calipari E. S., Beveridge T. J., Jones S. R., Porrino L. J. (2013a) Withdrawal from extended-access cocaine self-administration results in dysregulated functional activity and altered locomotor activity in rats. *European Journal of Neuroscience* 38: 3749-3757.
- Calipari E. S., Ferris M. J., Jones S. R. (2014a) Extended access of cocaine self-administration results in tolerance to the dopamine-elevating and locomotor-stimulating effects of cocaine. *Journal of Neurochemistry* 128: 224-232.
- Calipari E. S., Ferris M. J., Melchior J. R., Bermejo K., Salahpour A., Roberts D. C., Jones S. R. (2014b) Methylphenidate and cocaine self-administration produce distinct dopamine terminal alterations. *Addiction Biology* 19: 145-155.
- Calipari E. S., Ferris M. J., Siciliano C. A., Zimmer B. A., Jones S. R. (2014c) Intermittent cocaine self-administration produces sensitization of stimulant effects at the dopamine transporter. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 349: 192-198.
- Calipari E. S., Ferris M. J., Zimmer B. A., Roberts D. C., Jones S. R. (2013b) Temporal pattern of cocaine intake determines tolerance vs sensitization of cocaine effects at the dopamine transporter. *Neuropsychopharmacology* 38: 2385-2392.
- Calipari E. S., Siciliano C. A., Zimmer B. A., Jones S. R. (2015) Brief intermittent cocaine self-administration and abstinence sensitizes cocaine effects on the dopamine transporter and increases drug seeking. *Neuropsychopharmacology* 40: 728-735.
- Carroll F. I., Howell L. L., Kuhar M. J. (1999) Pharmacotherapies for treatment of cocaine abuse: preclinical aspects. *Journal of Medicinal Chemistry* 42: 2721-2736.

- Carroll K. M., Rounsaville B. J., Gawin F. H. (1991a) A comparative trial of psychotherapies for ambulatory cocaine abusers: relapse prevention and interpersonal psychotherapy. *American Journal of Drug and Alcohol Abuse* 17: 229-247.
- Carroll K. M., Rounsaville B. J., Keller D. S. (1991b) Relapse prevention strategies for the treatment of cocaine abuse. *American Journal of Drug and Alcohol Abuse* 17: 249-265.
- Casale J. F., Klein R. F. (1993) Illicit Production of Cocaine. *Forensic Sci Rev* 5: 95-107.
- Catania A., Laties V. (1999) Pavlov And Skinner: Two Lives In Science (An Introduction To B. F. Skinner's "Some Responses To The Stimulus 'Pavlov' "). *Journal of the Experimental Analysis of Behavior* 72: 455-461.
- Centre Canadien sur les Dépendances et l'Usage de Substances, CCDUS, Semaine nationale de sensibilisation aux dépendances (2017).
- Chen C. Y., Anthony J. C. (2004) Epidemiological estimates of risk in the process of becoming dependent upon cocaine: cocaine hydrochloride powder versus crack cocaine. *Psychopharmacology* 172: 78-86.
- Childress A. R., McLellan A. T., Ehrman R., O'Brien C. P. (1988) Classically conditioned responses in opioid and cocaine dependence: a role in relapse? *NIDA Research Monograph* 84: 25-43.
- Childress A. R., Mozley P. D., McElgin W., Fitzgerald J., Reivich M., O'Brien C. P. (1999) Limbic activation during cue-induced cocaine craving. *American Journal of Psychiatry* 156: 11-18.
- Chiodo K. A., Lack C. M., Roberts D. C. (2008) Cocaine self-administration reinforced on a progressive ratio schedule decreases with continuous D-amphetamine treatment in rats. *Psychopharmacology* 200: 465-473.
- Chiodo K. A., Roberts D. C. (2009) Decreased reinforcing effects of cocaine following 2 weeks of continuous D-amphetamine treatment in rats. *Psychopharmacology* 206: 447-456.
- Chow M. J., Ambre J. J., Ruo T. I., Atkinson A. J., Jr., Bowsher D. J., Fischman M. W. (1985) Kinetics of cocaine distribution, elimination, and chronotropic effects. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 38: 318-324.
- Christensen C. J., Silberberg A., Hursh S. R., Huntsberry M. E., Riley A. L. (2008) Essential value of cocaine and food in rats: tests of the exponential model of demand. *Psychopharmacology* 198: 221-229.

- Church W. H., Justice J. B., Jr., Byrd L. D. (1987) Extracellular dopamine in rat striatum following uptake inhibition by cocaine, nomifensine and benztropine. *European Journal of Pharmacology* 139: 345-348.
- Cone E. J. (1995) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cocaine. *Journal of Analytical Toxicology* 19: 459-478.
- Cone E. J. (1998) Recent discoveries in pharmacokinetics of drugs of abuse. *Toxicology Letters* 102-103: 97-101.
- Conn P. J., Pin J. P. (1997) Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 37: 205-237.
- Convention unique sur les stupéfiants, ONU (1961).
- Cook C. E., Jeffcoat A. R. (1990) Pyrolytic Degradation of Heroin, Phencyclidine, and Cocaine: Identification of Products and Some Observations on Their Metabolism. *In: Research Findings on Smoking of Abused Substances. NIDA Research Monograph*. 99: 97-120.
- Covington H. E., 3rd, Miczek K. A. (2001) Repeated social-defeat stress, cocaine or morphine. Effects on behavioral sensitization and intravenous cocaine self-administration "binges". *Psychopharmacology* 158: 388-398.
- Crawford J. T., Roberts D. C., Beveridge T. J. (2013) The group II metabotropic glutamate receptor agonist, LY379268, decreases methamphetamine self-administration in rats. *Drug and Alcohol Dependence* 132: 414-419.
- Crisp A. H., Gelder M. G., Rix S., Meltzer H. I., Rowlands O. J. (2000) Stigmatisation of people with mental illnesses. *British Journal of Psychiatry* 177: 4-7.
- Crombag H. S., Ferrario C. R., Robinson T. E. (2008) The rate of intravenous cocaine or amphetamine delivery does not influence drug-taking and drug-seeking behavior in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 90: 797-804.
- Crow T. J. (1972) A map of the rat mesencephalon for electrical self-stimulation. *Brain Research* 36: 265-273.
- Crowley T. J. (1984) Cautionary note on methylphenidate for cocaine dependence. *American Journal of Psychiatry* 141: 327-328.
- Czoty P. W., Gould R. W., Martelle J. L., Nader M. A. (2011) Prolonged attenuation of the reinforcing strength of cocaine by chronic d-amphetamine in rhesus monkeys. *Neuropsychopharmacology* 36: 539-547.

- Czoty P. W., Martelle J. L., Nader M. A. (2010) Effects of chronic d-amphetamine administration on the reinforcing strength of cocaine in rhesus monkeys. *Psychopharmacology* 209: 375-382.
- Czoty P. W., Tran P., Thomas L. N., Martin T. J., Grigg A., Blough B. E., Beveridge T. J. (2015) Effects of the dopamine/norepinephrine releaser phenmetrazine on cocaine self-administration and cocaine-primed reinstatement in rats. *Psychopharmacology* 232: 2405-2414.
- Davis J. D. (1966) A method for chronic intravenous infusion in freely moving rats. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior* 9: 385-387.
- Davis W. M., Nichols J. R. (1963) A technique for self-injection of drugs in the study of reinforcement. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior* 6: 233-235.
- De Vries T. J., Schoffelmeer A. N. (2005) Cannabinoid CB1 receptors control conditioned drug seeking. *Trends in Pharmacological Sciences* 26: 420-426.
- De Vries T. J., Schoffelmeer A. N., Binnekade R., Mulder A. H., Vanderschuren L. J. (1998) Drug-induced reinstatement of heroin- and cocaine-seeking behaviour following long-term extinction is associated with expression of behavioural sensitization. *European Journal of Neuroscience* 10: 3565-3571.
- De Vries T. J., Shaham Y., Homberg J. R., Crombag H., Schuurman K., Dieben J., Vanderschuren L. J., Schoffelmeer A. N. (2001) A cannabinoid mechanism in relapse to cocaine seeking. *Nature Medicine* 7: 1151-1154.
- de Wit H. (1996) Priming effects with drugs and other reinforcers. *Experimental and Clinical Psychopharmacology* 4: 5-10.
- Deneau G., Yanagita T., Seevers M. H. (1964) Psychogenic dependence to a variety of drugs in the monkey. *The Pharmacologist* 6: 182-182.
- Deneau G., Yanagita T., Seevers M. H. (1969) Self-administration of psychoactive substances by the monkey. *Psychopharmacologia* 16: 30-48.
- Depoortere R. Y., Li D. H., Lane J. D., Emmett-Oglesby M. W. (1993) Parameters of self-administration of cocaine in rats under a progressive-ratio schedule. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 45: 539-548.
- Deroche-Gamonet V., Belin D., Piazza P. V. (2004) Evidence for addiction-like behavior in the rat. *Science* 305: 1014-1017.

- Deroche-Gamonet V., Piat F., Le Moal M., Piazza P. V. (2002) Influence of cue-conditioning on acquisition, maintenance and relapse of cocaine intravenous self-administration. *European Journal of Neuroscience* 15: 1363-1370.
- Di Chiara G., Imperato A. (1988) Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 85: 5274-5278.
- Dole V. P., Nyswander M. E. (1967) Heroin addiction--a metabolic disease. *Archives of Internal Medicine* 120: 19-24.
- Dole V. P., Nyswander M. E., Kreek M. J. (1966) Narcotic blockade. *Archives of Internal Medicine* 118: 304-309.
- Dougherty J., Pickens R. (1973) Fixed-interval schedules of intravenous cocaine presentation in rats. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior* 20: 111-118.
- Downs A. W., Eddy N. B. (1932) The effect of repeated doses of cocaine on the rat. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 46: 199-200.
- Duaux E., Krebs M. O., Loo H., Poirier M. F. (2000) Genetic vulnerability to drug abuse. *European Psychiatry* 15: 109-114.
- Dujourdy L., Besacier F., Ladroue V. (2010) Cocaine seized in France. Statistical data from National database of the National Forensic Institute. *L'actualité chimique* 342-343: 29-36.
- Edwards S., Koob G. F. (2013) Escalation of drug self-administration as a hallmark of persistent addiction liability. *Behavioural Pharmacology* 24: 356-362.
- Erickson C. K., Wilcox R. E. (2006) Please, Not "Addiction" in DSM-V. *American Journal of Psychiatry* 163: 2015-2016; author reply 2016-2017.
- Ettenberg A., Pettit H. O., Bloom F. E., Koob G. F. (1982) Heroin and cocaine intravenous self-administration in rats: mediation by separate neural systems. *Psychopharmacology* 78: 204-209.
- Evans A. H., Pavese N., Lawrence A. D., Tai Y. F., Appel S., Doder M., Brooks D. J., Lees A. J., Piccini P. (2006) Compulsive drug use linked to sensitized ventral striatal dopamine transmission. *Annals of Neurology* 59: 852-858.
- Evans S. M., Cone E. J., Henningfield J. E. (1996) Arterial and venous cocaine plasma concentrations in humans: relationship to route of administration, cardiovascular

- effects and subjective effects. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 279: 1345-1356.
- Farre M., Cami J. (1991) Pharmacokinetic considerations in abuse liability evaluation. *British Journal of Addiction* 86: 1601-1606.
- Feingold A., Rounsaville B. (1995) Construct validity of the dependence syndrome as measured by DSM-IV for different psychoactive substances. *Addiction* 90: 1661-1669.
- Fernandez L., Sztulman H. (1997) Approche du concept d'addiction en psychopathologie. *Annales Médico-Psychologiques* 155: 255-265.
- Ferrario C. R., Gorny G., Crombag H. S., Li Y., Kolb B., Robinson T. E. (2005) Neural and behavioral plasticity associated with the transition from controlled to escalated cocaine use. *Biological Psychiatry* 58: 751-759.
- Ferrario C. R., Robinson T. E. (2007) Amphetamine pretreatment accelerates the subsequent escalation of cocaine self-administration behavior. *European Neuropsychopharmacology* 17: 352-357.
- Ferrario C. R., Shou M., Samaha A. N., Watson C. J., Kennedy R. T., Robinson T. E. (2008) The rate of intravenous cocaine administration alters c-fos mRNA expression and the temporal dynamics of dopamine, but not glutamate, overflow in the striatum. *Brain Research* 1209: 151-156.
- Ferris M. J., Mateo Y., Roberts D. C., Jones S. R. (2011) Cocaine-insensitive dopamine transporters with intact substrate transport produced by self-administration. *Biological Psychiatry* 69: 201-207.
- Feucht C., Patel D. R. (2011) Principles of pharmacology. *Pediatric Clinics of North America* 58: 11-19, ix.
- Fischman M. W. (1984) The behavioral pharmacology of cocaine in humans. *NIDA Research Monograph* 50: 72-91.
- Fischman M. W., Schuster C. R., Resnekov L., Shick J. F., Krasnegor N. A., Fennell W., Freedman D. X. (1976) Cardiovascular and subjective effects of intravenous cocaine administration in humans. *Archives of General Psychiatry* 33: 983-989.
- Fitch T. E., Roberts D. C. (1993) The effects of dose and access restrictions on the periodicity of cocaine self-administration in the rat. *Drug and Alcohol Dependence* 33: 119-128.

- Fleming J. A., Byck R., Barash P. G. (1990) Pharmacology and therapeutic applications of cocaine. *Anesthesiology* 73: 518-531.
- Foltin R. W., Fischman M. W. (1991) Smoked and intravenous cocaine in humans: acute tolerance, cardiovascular and subjective effects. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 257: 247-261.
- Foltin R. W., Fischman M. W., Levin F. R. (1995) Cardiovascular effects of cocaine in humans: laboratory studies. *Drug and Alcohol Dependence* 37: 193-210.
- Freye E. (2009a) Freebase Cocaine: High Bioavailability with Increase in Potency. *In: Pharmacology and Abuse of Cocaine, Amphetamines, Ecstasy and Related Designer Drugs. Springer, Dordrecht*
- Freye E. (2009b) Pharmacology of cocaine. *In: Pharmacology and Abuse of Cocaine, Amphetamines, Ecstasy and Related Designer Drugs. Springer, Dordrecht.*
- Gallistel C. R., Karras D. (1984) Pimozide and amphetamine have opposing effects on the reward summation function. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 20: 73-77.
- Gawin F. H. (1991) Cocaine addiction: psychology and neurophysiology. *Science* 251: 1580-1586.
- Gawin F. H., Ellinwood E. H., Jr. (1988) Cocaine and other stimulants. Actions, abuse, and treatment. *New England Journal of Medicine* 318: 1173-1182.
- Gawin F. H., Ellinwood E. H., Jr. (1989) Cocaine dependence. *Annual Review of Medicine* 40: 149-161.
- Gawin F. H., Kleber H. D. (1985) Cocaine use in a treatment: population: patterns and diagnostic distinctions. *NIDA Research Monograph* 61: 182-192.
- Gawin F. H., Kleber H. D. (1986) Abstinence symptomatology and psychiatric diagnosis in cocaine abusers. Clinical observations. *Archives of General Psychiatry* 43: 107-113.
- Gawin F. H., Kleber H. D. (1988) Evolving conceptualizations of cocaine dependence. *Yale Journal of Biology and Medicine* 61: 123-136.
- Gibaldi M., Levy G. (1976) Pharmacokinetics in clinical practice. I. Concepts. *JAMA* 235: 1864-1867.

- Giros B., Jaber M., Jones S. R., Wightman R. M., Caron M. G. (1996) Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter. *Nature* 379: 606-612.
- Glowa J. R., Fantegrossi W. E. (1997) Effects of dopaminergic drugs on food- and cocaine-maintained responding. IV: Continuous cocaine infusions. *Drug and Alcohol Dependence* 45: 71-79.
- Goeders N. E. (2002) Stress and cocaine addiction. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 301: 785-789.
- Goldman D., Oroszi G., Ducci F. (2005) The genetics of addictions: uncovering the genes. *Nature Reviews Genetics* 6: 521-532.
- Goldstein A., Kalant H. (1990) Drug policy: striking the right balance. *Science* 249: 1513-1521.
- Goodman A. (1990) Addiction: definition and implications. *British Journal of Addiction* 85: 1403-1408.
- Gorelick D. A. (1998) The rate hypothesis and agonist substitution approaches to cocaine abuse treatment. *Advances in Pharmacology* 42: 995-997.
- Grabowski J., Rhoades H., Schmitz J., Stotts A., Daruzska L. A., Creson D., Moeller F. G. (2001) Dextroamphetamine for cocaine-dependence treatment: a double-blind randomized clinical trial. *Journal of Clinical Psychopharmacology* 21: 522-526.
- Grabowski J., Shearer J., Merrill J., Negus S. S. (2004) Agonist-like, replacement pharmacotherapy for stimulant abuse and dependence. *Addictive Behaviors* 29: 1439-1464.
- Greenwald M. K., Lundahl L. H., Steinmiller C. L. (2010) Sustained release d-amphetamine reduces cocaine but not 'speedball'-seeking in buprenorphine-maintained volunteers: a test of dual-agonist pharmacotherapy for cocaine/heroin polydrug abusers. *Neuropsychopharmacology* 35: 2624-2637.
- Grimm J. W., Hope B. T., Wise R. A., Shaham Y. (2001) Neuroadaptation. Incubation of cocaine craving after withdrawal. *Nature* 412: 141-142.
- Grimm J. W., Lu L., Hayashi T., Hope B. T., Su T. P., Shaham Y. (2003) Time-dependent increases in brain-derived neurotrophic factor protein levels within the mesolimbic dopamine system after withdrawal from cocaine: implications for incubation of cocaine craving. *Journal of Neuroscience* 23: 742-747.

- Grimm J. W., See R. E. (2000) Dissociation of primary and secondary reward-relevant limbic nuclei in an animal model of relapse. *Neuropsychopharmacology* 22: 473-479.
- Gueye A. B., Allain F., Samaha A. N. (2018) Taking rapid cocaine injections intermittently promotes incubation of drug craving and increases mesolimbic BDNF levels after withdrawal. *Neuropsychopharmacology (Under revision)*.
- Hao Y., Martin-Fardon R., Weiss F. (2010) Behavioral and functional evidence of metabotropic glutamate receptor 2/3 and metabotropic glutamate receptor 5 dysregulation in cocaine-escalated rats: factor in the transition to dependence. *Biological Psychiatry* 68: 240-248.
- Harrison Narcotics Tax Act (1914).
- Hasin D. S., O'Brien C. P., Auriacombe M., Borges G., Bucholz K., Budney A., Compton W. M., Crowley T., Ling W., Petry N. M., Schuckit M., Grant B. F. (2013) DSM-5 criteria for substance use disorders: recommendations and rationale. *American Journal of Psychiatry* 170: 834-851.
- Hatsukami D. K., Fischman M. W. (1996) Crack cocaine and cocaine hydrochloride. Are the differences myth or reality? *JAMA* 276: 1580-1588.
- Haugeto O., Ullensvang K., Levy L. M., Chaudhry F. A., Honore T., Nielsen M., Lehre K. P., Danbolt N. C. (1996) Brain glutamate transporter proteins form homomultimers. *Journal of Biological Chemistry* 271: 27715-27722.
- Headlee C. P., Coppock H. W., Hichols J. R. (1955) Apparatus and technique involved in a laboratory method of detecting the addictiveness of drugs. *Journal of the American Pharmaceutical Association (American Pharmaceutical Association)* 44: 229-231.
- Heikkila R. E., Orlansky H., Cohen G. (1975a) Studies on the distinction between uptake inhibition and release of (3H)dopamine in rat brain tissue slices. *Biochemical Pharmacology* 24: 847-852.
- Heikkila R. E., Orlansky H., Mytilineou C., Cohen G. (1975b) Amphetamine: evaluation of d- and l-isomers as releasing agents and uptake inhibitors for 3H-dopamine and 3H-norepinephrine in slices of rat neostriatum and cerebral cortex. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 194: 47-56.
- Henningfield J. E. (1995) Nicotine medications for smoking cessation. *New England Journal of Medicine* 333: 1196-1203.
- Henningfield J. E., Keenan R. M. (1993) Nicotine delivery kinetics and abuse liability. *Journal of Consulting and Clinical Psychology* 61: 743-750.

- Hodos W. (1961) Progressive ratio as a measure of reward strength. *Science* 134: 943-944.
- Holmstedt B., Lindgren J. E., Rivier L., Plowman T. (1979) Cocaine in blood of coca chewers. *Journal of Ethnopharmacology* 1: 69-78.
- Hooks M. S., Duffy P., Striplin C., Kalivas P. W. (1994) Behavioral and neurochemical sensitization following cocaine self-administration. *Psychopharmacology* 115: 265-272.
- Hotsenpiller G., Giorgetti M., Wolf M. E. (2001) Alterations in behaviour and glutamate transmission following presentation of stimuli previously associated with cocaine exposure. *European Journal of Neuroscience* 14: 1843-1855.
- Hunt W. A., Barnett L. W., Branch L. G. (1971) Relapse rates in addiction programs. *Journal of Clinical Psychology* 27: 455-456.
- Hurd Y. L., Kehr J., Ungerstedt U. (1988) In vivo microdialysis as a technique to monitor drug transport: correlation of extracellular cocaine levels and dopamine overflow in the rat brain. *Journal of Neurochemistry* 51: 1314-1316.
- Hursh S. R. Hursh Exponential Model Template. In <http://ibrinc.org/behavioral-economics/>.
- Hursh S. R. (1980) Economic concepts for the analysis of behavior. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior* 34: 219-238.
- Hursh S. R. (1984) Behavioral economics. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior* 42: 435-452.
- Hursh S. R. (1991) Behavioral economics of drug self-administration and drug abuse policy. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior* 56: 377-393.
- Hursh S. R., Silberberg A. (2008) Economic demand and essential value. *Psychological Review* 115: 186-198.
- Hursh S. R., Winger G. (1995) Normalized demand for drugs and other reinforcers. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior* 64: 373-384.
- Izenwasser S., Cox B. M. (1990) Daily cocaine treatment produces a persistent reduction of [3H]dopamine uptake in vitro in rat nucleus accumbens but not in striatum. *Brain Research* 531: 338-341.
- Izenwasser S., Cox B. M. (1992) Inhibition of dopamine uptake by cocaine and nicotine: tolerance to chronic treatments. *Brain Research* 573: 119-125.

- Jarvik M. E. (1967) Tobacco smoking in monkeys. *Annals New York Academy of Sciences* 142: 280-294.
- Jatlow P. (1988) Cocaine: analysis, pharmacokinetics, and metabolic disposition. *Yale Journal of Biology and Medicine* 61: 105-113.
- Javaid J. I., Fischman M. W., Schuster C. R., Dekirmenjian H., Davis J. M. (1978) Cocaine plasma concentration: relation to physiological and subjective effects in humans. *Science* 202: 227-228.
- Javaid J. I., Musa M. N., Fischman M., Schuster C. R., Davis J. M. (1983) Kinetics of cocaine in humans after intravenous and intranasal administration. *Biopharmaceutics and Drug Disposition* 4: 9-18.
- Jeffcoat A. R., Perez-Reyes M., Hill J. M., Sadler B. M., Cook C. E. (1989) Cocaine disposition in humans after intravenous injection, nasal insufflation (snorting), or smoking. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals* 17: 153-159.
- Jenkins A. J., Cone E. J. (1998) Pharmacokinetics: drug absorption, distribution, and elimination. In: *Karch, S.B. (Ed.), Drug Abuse Handbook. CRC Press LLC.*: 165–215.
- Jeri F. R. (1984) Coca-paste smoking in some Latin American countries: a severe and unabated form of addiction. *Bulletin on Narcotics* 36: 15-31.
- Johanson C. E., Balster R. L., Bonese K. (1976) Self-administration of psychomotor stimulant drugs: the effects of unlimited access. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 4: 45-51.
- Jones R. T. (1984) The pharmacology of cocaine. *NIDA Research Monograph* 50: 34-53.
- Jones R. T. (1990) The pharmacology of cocaine smoking in humans. *NIDA Research Monograph* 99: 30-41.
- Joyce E. M., Iversen S. D. (1984) Dissociable effects of 6-OHDA-induced lesions of neostriatum on anorexia, locomotor activity and stereotypy: the role of behavioural competition. *Psychopharmacology* 83: 363-366.
- Jusko W. J., Gibaldi M. (1972) Effects of change in elimination on various parameters of the two-compartment open model. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 61: 1270-1273.
- Kalivas P. W. (2009) The glutamate homeostasis hypothesis of addiction. *Nature Reviews: Neuroscience* 10: 561-572.

- Kalivas P. W., Duffy P. (1990) Effect of acute and daily cocaine treatment on extracellular dopamine in the nucleus accumbens. *Synapse* 5: 48-58.
- Kalivas P. W., Duffy P. (1993) Time course of extracellular dopamine and behavioral sensitization to cocaine. I. Dopamine axon terminals. *Journal of Neuroscience* 13: 266-275.
- Kalivas P. W., Volkow N., Seamans J. (2005) Unmanageable motivation in addiction: a pathology in prefrontal-accumbens glutamate transmission. *Neuron* 45: 647-650.
- Karch S. B. (1993) *The Pathology of Drug Abuse*, CRC Press, Boca Raton, FL.
- Kato S., Wakasa Y., Yanagita T. (1987) Relationship between minimum reinforcing doses and injection speed in cocaine and pentobarbital self-administration in crab-eating monkeys. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 28: 407-410.
- Kau K. S., Madayag A., Mantsch J. R., Grier M. D., Abdulhameed O., Baker D. A. (2008) Blunted cystine-glutamate antiporter function in the nucleus accumbens promotes cocaine-induced drug seeking. *Neuroscience* 155: 530-537.
- Kawa A. B., Allain F., Robinson T. E., Samaha A. N. (2018) Modeling the transition to addiction. Review in preparation.
- Kawa A. B., Bentzley B. S., Robinson T. E. (2016) Less is more: prolonged intermittent access cocaine self-administration produces incentive-sensitization and addiction-like behavior. *Psychopharmacology* 233: 3587-3602.
- Kelly P. H., Seviour P. W., Iversen S. D. (1975) Amphetamine and apomorphine responses in the rat following 6-OHDA lesions of the nucleus accumbens septi and corpus striatum. *Brain Research* 94: 507-522.
- Kenny P. J., Boutrel B., Gasparini F., Koob G. F., Markou A. (2005) Metabotropic glutamate 5 receptor blockade may attenuate cocaine self-administration by decreasing brain reward function in rats. *Psychopharmacology* 179: 247-254.
- Kim J. H., Austin J. D., Tanabe L., Creekmore E., Vezina P. (2005) Activation of group II mGlu receptors blocks the enhanced drug taking induced by previous exposure to amphetamine. *European Journal of Neuroscience* 21: 295-300.
- Kim J. H., Vezina P. (2002) The mGlu2/3 receptor agonist LY379268 blocks the expression of locomotor sensitization by amphetamine. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 73: 333-337.

- King G. R., Joyner C., Lee T., Kuhn C., Ellinwood E. H., Jr. (1992) Intermittent and continuous cocaine administration: residual behavioral states during withdrawal. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 43: 243-248.
- Kippin T. E., Fuchs R. A., See R. E. (2006) Contributions of prolonged contingent and noncontingent cocaine exposure to enhanced reinstatement of cocaine seeking in rats. *Psychopharmacology* 187: 60-67.
- Kleber H. D. (2008) Methadone maintenance 4 decades later: thousands of lives saved but still controversial. *JAMA* 300: 2303-2305.
- Knackstedt L. A., Kalivas P. W. (2007) Extended access to cocaine self-administration enhances drug-primed reinstatement but not behavioral sensitization. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 322: 1103-1109.
- Knackstedt L. A., Melendez R. I., Kalivas P. W. (2010) Ceftriaxone restores glutamate homeostasis and prevents relapse to cocaine seeking. *Biological Psychiatry* 67: 81-84.
- Koller C. (1892) The Sub-conjunctival application of Cocaine in Eye Operations. *Transactions of the American Ophthalmological Society* 6: 421-424.
- Kollins S. H. (2003) Comparing the abuse potential of methylphenidate versus other stimulants: a review of available evidence and relevance to the ADHD patient. *Journal of Clinical Psychiatry* 64 Suppl 11: 14-18.
- Koob G. F., Le Moal M. (1997) Drug abuse: hedonic homeostatic dysregulation. *Science* 278: 52-58.
- Koob G. F., Le Moal M. (2001) Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. *Neuropsychopharmacology* 24: 97-129.
- Kornetsky C., Esposito R. U., McLean S., Jacobson J. O. (1979) Intracranial self-stimulation thresholds: a model for the hedonic effects of drugs of abuse. *Archives of General Psychiatry* 36: 289-292.
- Kosten T. A., Miserendino M. J., Chi S., Nestler E. J. (1994) Fischer and Lewis rat strains show differential cocaine effects in conditioned place preference and behavioral sensitization but not in locomotor activity or conditioned taste aversion. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 269: 137-144.
- Kramer J. C., Fischman V. S., Littlefield D. C. (1967) Amphetamine abuse. Pattern and effects of high doses taken intravenously. *JAMA* 201: 305-309.

- Kreek M. J. (2000) Methadone-related opioid agonist pharmacotherapy for heroin addiction. History, recent molecular and neurochemical research and future in mainstream medicine. *Annals of the New York Academy of Sciences* 909: 186-216.
- Kreek M. J., Nielsen D. A., Butelman E. R., LaForge K. S. (2005) Genetic influences on impulsivity, risk taking, stress responsivity and vulnerability to drug abuse and addiction. *Nature Neuroscience* 8: 1450-1457.
- Kufahl P. R., Watterson L. R., Nemirovsky N. E., Hood L. E., Villa A., Halstengard C., Zautra N., Olive M. F. (2013) Attenuation of methamphetamine seeking by the mGluR2/3 agonist LY379268 in rats with histories of restricted and escalated self-administration. *Neuropharmacology* 66: 290-301.
- Lack C. M., Jones S. R., Roberts D. C. (2008) Increased breakpoints on a progressive ratio schedule reinforced by IV cocaine are associated with reduced locomotor activation and reduced dopamine efflux in nucleus accumbens shell in rats. *Psychopharmacology* 195: 517-525.
- Lathers C. M., Tyau L. S., Spino M. M., Agarwal I. (1988) Cocaine-induced seizures, arrhythmias and sudden death. *Journal of Clinical Pharmacology* 28: 584-593.
- Leshner A. I. (1997) Addiction is a brain disease, and it matters. *Science* 278: 45-47.
- Leyton M., Boileau I., Benkelfat C., Diksic M., Baker G., Dagher A. (2002) Amphetamine-induced increases in extracellular dopamine, drug wanting, and novelty seeking: a PET/[11C]raclopride study in healthy men. *Neuropsychopharmacology* 27: 1027-1035.
- Li D. H., Depoortere R. Y., Emmett-Oglesby M. W. (1994) Tolerance to the reinforcing effects of cocaine in a progressive ratio paradigm. *Psychopharmacology* 116: 326-332.
- Liu Y., Roberts D. C., Morgan D. (2005a) Effects of extended-access self-administration and deprivation on breakpoints maintained by cocaine in rats. *Psychopharmacology* 179: 644-651.
- Liu Y., Roberts D. C., Morgan D. (2005b) Sensitization of the reinforcing effects of self-administered cocaine in rats: effects of dose and intravenous injection speed. *European Journal of Neuroscience* 22: 195-200.
- Llosa T. (1994) The standard low dose of oral cocaine used for treatment of cocaine dependence. *Substance Abuse* 15: 215-220.
- Lopez-Quintero C., Perez de los Cobos J., Hasin D. S., Okuda M., Wang S., Grant B. F., Blanco C. (2011) Probability and predictors of transition from first use to dependence on nicotine, alcohol, cannabis, and cocaine: results of the National Epidemiologic

- Survey on Alcohol and Related Conditions (NESARC). *Drug and Alcohol Dependence* 115: 120-130.
- Lorrain D. S., Arnold G. M., Vezina P. (2000) Previous exposure to amphetamine increases incentive to obtain the drug: long-lasting effects revealed by the progressive ratio schedule. *Behavioural Brain Research* 107: 9-19.
- Lu L., Grimm J. W., Dempsey J., Shaham Y. (2004) Cocaine seeking over extended withdrawal periods in rats: different time courses of responding induced by cocaine cues versus cocaine priming over the first 6 months. *Psychopharmacology* 176: 101-108.
- Lynch W. J., Carroll M. E. (2001) Regulation of drug intake. *Experimental and Clinical Psychopharmacology* 9: 131-143.
- Lynch W. J., Roberts D. C. (2004) Effects of cocaine self-administration on food-reinforced responding using a discrete trial procedure in rats. *Neuropsychopharmacology* 29: 669-675.
- Macey D. J., Rice W. N., Freedland C. S., Whitlow C. T., Porrino L. J. (2004) Patterns of functional activity associated with cocaine self-administration in the rat change over time. *Psychopharmacology* 172: 384-392.
- Madayag A., Kau K. S., Lobner D., Mantsch J. R., Wisniewski S., Baker D. A. (2010) Drug-induced plasticity contributing to heightened relapse susceptibility: neurochemical changes and augmented reinstatement in high-intake rats. *Journal of Neuroscience* 30: 210-217.
- Madayag A., Lobner D., Kau K. S., Mantsch J. R., Abdulhameed O., Hearing M., Grier M. D., Baker D. A. (2007) Repeated N-acetylcysteine administration alters plasticity-dependent effects of cocaine. *Journal of Neuroscience* 27: 13968-13976.
- Madden G. J. (2000) A behavioral economic primer. In: *W. K. Bickel & R. Vuchinich (Eds.), Reframing Health Behavior Change with Behavioral Economics. Mahwah, NJ: Lawrence Erlbaum & Associates.* 3-26.
- Mandt B. H., Copenhagen L. I., Zahniser N. R., Allen R. M. (2015) Escalation of cocaine consumption in short and long access self-administration procedures. *Drug and Alcohol Dependence* 149: 166-172.
- Mannarini S., Boffo M. (2014) Anxiety, bulimia, drug and alcohol addiction, depression, and schizophrenia: what do you think about their aetiology, dangerousness, social distance, and treatment? A latent class analysis approach. *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology* 50: 27-37.

- Mantsch J. R., Yuferov V., Mathieu-Kia A. M., Ho A., Kreek M. J. (2004) Effects of extended access to high versus low cocaine doses on self-administration, cocaine-induced reinstatement and brain mRNA levels in rats. *Psychopharmacology* 175: 26-36.
- Mariani J. J., Pavlicova M., Bisaga A., Nunes E. V., Brooks D. J., Levin F. R. (2012) Extended-release mixed amphetamine salts and topiramate for cocaine dependence: a randomized controlled trial. *Biological Psychiatry* 72: 950-956.
- Markel H. (2011) Uber coca: Sigmund Freud, Carl Koller, and cocaine. *JAMA* 305: 1360-1361.
- Markou A., Koob G. F. (1991) Postcocaine anhedonia. An animal model of cocaine withdrawal. *Neuropsychopharmacology* 4: 17-26.
- Martin-Fardon R., Weiss F. (2012) (-)-2-oxa-4-aminobicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylic acid (LY379268) and 3-[(2-methyl-1,3-thiazol-4-yl)ethynyl]piperidine (MTEP) similarly attenuate stress-induced reinstatement of cocaine seeking. *Addiction Biology* 17: 557-564.
- Martin-Garcia E., Courtin J., Renault P., Fiancette J. F., Wurtz H., Simonnet A., Levet F., Herry C., Deroche-Gamonet V. (2014) Frequency of cocaine self-administration influences drug seeking in the rat: optogenetic evidence for a role of the prelimbic cortex. *Neuropsychopharmacology* 39: 2317-2330.
- 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. *Journal of Neuroscience* 23: 3531-3537.
- Meisch R. A. (2001) Oral drug self-administration: an overview of laboratory animal studies. *Alcohol* 24: 117-128.
- Meltzer E. C., Suppes A., Burns S., Shuman A., Orfanos A., Sturiano C. V., Charney P., Fins J. J. (2013) Stigmatization of substance use disorders among internal medicine residents. *Substance Abuse* 34: 356-362.
- Mendrek A., Blaha C. D., Phillips A. G. (1998) Pre-exposure of rats to amphetamine sensitizes self-administration of this drug under a progressive ratio schedule. *Psychopharmacology* 135: 416-422.
- Meyer R. E. (1996) The disease called addiction: emerging evidence in a 200-year debate. *Lancet* 347: 162-166.
- Miguens M., Del Olmo N., Higuera-Matas A., Torres I., Garcia-Lecumberri C., Ambrosio E. (2008) Glutamate and aspartate levels in the nucleus accumbens during cocaine self-administration and extinction: a time course microdialysis study. *Psychopharmacology* 196: 303-313.

- Miller N. S., Giannini A. J. (1990) The disease model of addiction: a biopsychiatrist's view. *Journal of Psychoactive Drugs* 22: 83-85.
- Milner P. M. (1991) Brain-stimulation reward: a review. *Canadian Journal of Psychology* 45: 1-36.
- Minogianis E. A., Levesque D., Samaha A. N. (2013) The speed of cocaine delivery determines the subsequent motivation to self-administer the drug. *Neuropsychopharmacology* 38: 2644-2656.
- Minogianis E. A., Shams W. M., Mabrouk O. S., Wong J. M. T., Brake W. G., Kennedy R. T., du Souich P., Samaha A. N. (2018) Varying the rate of intravenous cocaine infusion influences the temporal dynamics of both drug and dopamine concentrations in the striatum. *European Journal of Neuroscience*, ePub: doi: 101111/ejn13941.
- Moghaddam B., Adams B. W. (1998) Reversal of phencyclidine effects by a group II metabotropic glutamate receptor agonist in rats. *Science* 281: 1349-1352.
- Moran M. M., McFarland K., Melendez R. I., Kalivas P. W., Seamans J. K. (2005) Cystine/glutamate exchange regulates metabotropic glutamate receptor presynaptic inhibition of excitatory transmission and vulnerability to cocaine seeking. *Journal of Neuroscience* 25: 6389-6393.
- Moussawi K., Kalivas P. W. (2010) Group II metabotropic glutamate receptors (mGlu2/3) in drug addiction. *European Journal of Pharmacology* 639: 115-122.
- Moussawi K., Pacchioni A., Moran M., Olive M. F., Gass J. T., Lavin A., Kalivas P. W. (2009) N-Acetylcysteine reverses cocaine-induced metaplasticity. *Nature Neuroscience* 12: 182-189.
- Myers R. D., Carey R. (1961) Preference factors in experimental alcoholism. *Science* 134: 469-470.
- National Drug Threat Assessment (2011). U.S. department of justice national drug intelligence center.
- Nayak P. K., Misra A. L., Mule S. J. (1976) Physiological disposition and biotransformation of (3H) cocaine in acutely and chronically treated rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 196: 556-569.
- Negus S. S. (2003) Rapid assessment of choice between cocaine and food in rhesus monkeys: effects of environmental manipulations and treatment with d-amphetamine and flupenthixol. *Neuropsychopharmacology* 28: 919-931.

- Negus S. S., Henningfield J. (2015) Agonist Medications for the Treatment of Cocaine Use Disorder. *Neuropsychopharmacology* 40: 1815-1825.
- Negus S. S., Mello N. K. (2003a) Effects of chronic d-amphetamine treatment on cocaine- and food-maintained responding under a progressive-ratio schedule in rhesus monkeys. *Psychopharmacology* 167: 324-332.
- Negus S. S., Mello N. K. (2003b) Effects of chronic d-amphetamine treatment on cocaine- and food-maintained responding under a second-order schedule in rhesus monkeys. *Drug and Alcohol Dependence* 70: 39-52.
- Nelson R. A., Boyd S. J., Ziegelstein R. C., Herning R., Cadet J. L., Henningfield J. E., Schuster C. R., Contoreggi C., Gorelick D. A. (2006) Effect of rate of administration on subjective and physiological effects of intravenous cocaine in humans. *Drug and Alcohol Dependence* 82: 19-24.
- Nicola S. M., Deadwyler S. A. (2000) Firing rate of nucleus accumbens neurons is dopamine-dependent and reflects the timing of cocaine-seeking behavior in rats on a progressive ratio schedule of reinforcement. *Journal of Neuroscience* 20: 5526-5537.
- Nicolaysen L. C., Pan H. T., Justice J. B., Jr. (1988) Extracellular cocaine and dopamine concentrations are linearly related in rat striatum. *Brain Research* 456: 317-323.
- Nielsen E. B. (1981) Rapid decline of stereotyped behavior in rats during constant one week administration of amphetamine via implanted ALZET osmotic minipumps. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 15: 161-165.
- Niswender C. M., Conn P. J. (2010) Metabotropic glutamate receptors: physiology, pharmacology, and disease. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 50: 295-322.
- Nomikos G. G., Spyraiki C. (1988) Cocaine-induced place conditioning: importance of route of administration and other procedural variables. *Psychopharmacology* 94: 119-125.
- Nutt D., King L. A., Saulsbury W., Blakemore C. (2007) Development of a rational scale to assess the harm of drugs of potential misuse. *Lancet* 369: 1047-1053.
- Nutt D. J., Lingford-Hughes A., Erritzoe D., Stokes P. R. (2015) The dopamine theory of addiction: 40 years of highs and lows. *Nature Reviews: Neuroscience* 16: 305-312.
- O'Brien C. P. (2005) Anticraving medications for relapse prevention: a possible new class of psychoactive medications. *American Journal of Psychiatry* 162: 1423-1431.

- O'Brien C. P. (2008) Review. Evidence-based treatments of addiction. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences* 363: 3277-3286.
- O'Brien C. P., Childress A. R., Ehrman R., Robbins S. J. (1998) Conditioning factors in drug abuse: can they explain compulsion? *Journal of Psychopharmacology* 12: 15-22.
- O'Brien C. P., Childress A. R., McLellan A. T., Ehrman R. (1992) Classical conditioning in drug-dependent humans. *Annals of the New York Academy of Sciences* 654: 400-415.
- O'Brien C. P., McLellan A. T. (1996) Myths about the treatment of addiction. *Lancet* 347: 237-240.
- O'Brien C. P., Volkow N., Li T. K. (2006) What's in a word? Addiction versus dependence in DSM-V. *American Journal of Psychiatry* 163: 764-765.
- O'Connor P. G. (2005) Methods of detoxification and their role in treating patients with opioid dependence. *JAMA* 294: 961-963.
- Oldendorf W. H. (1992) Some relationships between addiction and drug delivery to the brain. *NIDA Research Monograph* 120: 13-25.
- Olds J. (1956) Pleasure centers in the brain. *Scientific American* 195: 105-116.
- Olds J., Milner P. (1954) Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* 47: 419-427.
- Olds J., Olds M. E. (1958) Positive reinforcement produced by stimulating hypothalamus with iproniazid and other compounds. *Science* 127: 1175-1176.
- Oleson E. B., Richardson J. M., Roberts D. C. (2011) A novel IV cocaine self-administration procedure in rats: differential effects of dopamine, serotonin, and GABA drug pre-treatments on cocaine consumption and maximal price paid. *Psychopharmacology* 214: 567-577.
- Oleson E. B., Roberts D. C. (2009) Behavioral economic assessment of price and cocaine consumption following self-administration histories that produce escalation of either final ratios or intake. *Neuropsychopharmacology* 34: 796-804.
- Olmstead M. C. (2006) Animal models of drug addiction: Where do we go from here? *Quarterly Journal of Experimental Psychology* (2006) 59: 625-653.

- Orio L., Edwards S., George O., Parsons L. H., Koob G. F. (2009) A role for the endocannabinoid system in the increased motivation for cocaine in extended-access conditions. *Journal of Neuroscience* 29: 4846-4857.
- Paly D., Van Dyke C., Jatlow P., Cabieses F., Byck R. (1979) Cocaine Plasma Concentrations in Coca Chewers. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 25: 240-240.
- Pan H. T., Menacherry S., Justice J. B., Jr. (1991) Differences in the pharmacokinetics of cocaine in naive and cocaine-experienced rats. *Journal of Neurochemistry* 56: 1299-1306.
- Panlilio L. V., Goldberg S. R., Gilman J. P., Jufer R., Cone E. J., Schindler C. W. (1998) Effects of delivery rate and non-contingent infusion of cocaine on cocaine self-administration in rhesus monkeys. *Psychopharmacology* 137: 253-258.
- Parsons L. H., Justice J. B., Jr. (1993) Serotonin and dopamine sensitization in the nucleus accumbens, ventral tegmental area, and dorsal raphe nucleus following repeated cocaine administration. *Journal of Neurochemistry* 61: 1611-1619.
- Paterson N. E., Markou A. (2003) Increased motivation for self-administered cocaine after escalated cocaine intake. *Neuroreport* 14: 2229-2232.
- Pelloux Y., Everitt B. J., Dickinson A. (2007) Compulsive drug seeking by rats under punishment: effects of drug taking history. *Psychopharmacology* 194: 127-137.
- Peltier R. L., Li D. H., Lytle D., Taylor C. M., Emmett-Oglesby M. W. (1996) Chronic d-amphetamine or methamphetamine produces cross-tolerance to the discriminative and reinforcing stimulus effects of cocaine. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 277: 212-218.
- Perez-Reyes M., Di Guiseppi S., Ondrusek G., Jeffcoat A. R., Cook C. E. (1982) Free-base cocaine smoking. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 32: 459-465.
- Peters J., Kalivas P. W. (2006) The group II metabotropic glutamate receptor agonist, LY379268, inhibits both cocaine- and food-seeking behavior in rats. *Psychopharmacology* 186: 143-149.
- Peterson G. B. (2004) A day of great illumination: B. F. Skinner's discovery of shaping. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior* 82: 317-328.
- Pettit H. O., Justice J. B., Jr. (1989) Dopamine in the nucleus accumbens during cocaine self-administration as studied by in vivo microdialysis. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 34: 899-904.

- Pettit H. O., Justice J. B., Jr. (1991) Effect of dose on cocaine self-administration behavior and dopamine levels in the nucleus accumbens. *Brain Research* 539: 94-102.
- Phillips A. G., Di Ciano P. (1996) Behavioral sensitization is induced by intravenous self-administration of cocaine by rats. *Psychopharmacology* 124: 279-281.
- Piazza P. V., Deroche-Gamonet V. (2013) A multistep general theory of transition to addiction. *Psychopharmacology* 229: 387-413.
- Pickens C. L., Airavaara M., Theberge F., Fanous S., Hope B. T., Shaham Y. (2011) Neurobiology of the incubation of drug craving. *Trends in Neurosciences* 34: 411-420.
- Pickens R. (1968) Self-administration of stimulants by rats. *The International Journal of the Addictions* 3: 215-221.
- Pickens R., Dougherty J., Thompson T. (1969) Effects of volume and duration of infusion on cocaine reinforcement with concurrent activity recording. In: NAS-NRC (ed) *Minutes of the Meeting of the Committee on Problems of Drug Dependence*, Washington, DC, USA: pp 5805-5811.
- Pickens R., Thompson T. (1968) Cocaine-reinforced behavior in rats: effects of reinforcement magnitude and fixed-ratio size. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 161: 122-129.
- Pierce R. C., Bell K., Duffy P., Kalivas P. W. (1996) Repeated cocaine augments excitatory amino acid transmission in the nucleus accumbens only in rats having developed behavioral sensitization. *Journal of Neuroscience* 16: 1550-1560.
- Pitchers K. K., Wood T. R., Skrzynski C. J., Robinson T. E., Sarter M. (2017) The ability for cocaine and cocaine-associated cues to compete for attention. *Behavioural Brain Research* 320: 302-315.
- Porrino L. J. (1993) Functional consequences of acute cocaine treatment depend on route of administration. *Psychopharmacology* 112: 343-351.
- Post R. M. (1975) Cocaine psychoses: a continuum model. *American Journal of Psychiatry* 132: 225-231.
- Post R. M. (1980) Intermittent versus continuous stimulation: effect of time interval on the development of sensitization or tolerance. *Life Sciences* 26: 1275-1282.

- Post R. M., Kopanda R. T., Black K. E. (1976) Progressive effects of cocaine on behavior and central amine metabolism in rhesus monkeys: relationship to kindling and psychosis. *Biological Psychiatry* 11: 403-419.
- Post R. M., Rose H. (1976) Increasing effects of repetitive cocaine administration in the rat. *Nature* 260: 731-732.
- Pottieger A. E., Tressell P. A., Surratt H. L., Inciardi J. A., Chitwood D. D. (1995) Drug use patterns of adult crack users in street versus residential treatment samples. *Journal of Psychoactive Drugs* 27: 27-38.
- Quinn D. I., Wodak A., Day R. O. (1997) Pharmacokinetic and pharmacodynamic principles of illicit drug use and treatment of illicit drug users. *Clinical Pharmacokinetics* 33: 344-400.
- Reid M. S., Hsu K., Jr., Berger S. P. (1997) Cocaine and amphetamine preferentially stimulate glutamate release in the limbic system: studies on the involvement of dopamine. *Synapse* 27: 95-105.
- Reith M. E., Benuck M., Lajtha A. (1987) Cocaine disposition in the brain after continuous or intermittent treatment and locomotor stimulation in mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 243: 281-287.
- Resnick R. B., Kestenbaum R. S., Schwartz L. K. (1977) Acute systemic effects of cocaine in man: a controlled study by intranasal and intravenous routes. *Science* 195: 696-698.
- Richardson N. R., Roberts D. C. (1996) Progressive ratio schedules in drug self-administration studies in rats: a method to evaluate reinforcing efficacy. *Journal of Neuroscience Methods* 66: 1-11.
- Risner M. E., Jones B. E. (1976) Characteristics of unlimited access to self-administered stimulant infusions in dogs. *Biological Psychiatry* 11: 625-634.
- Ritz M. C., Lamb R. J., Goldberg S. R., Kuhar M. J. (1987) Cocaine receptors on dopamine transporters are related to self-administration of cocaine. *Science* 237: 1219-1223.
- Roberts D. C. (1989) Breaking points on a progressive ratio schedule reinforced by intravenous apomorphine increase daily following 6-hydroxydopamine lesions of the nucleus accumbens. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 32: 43-47.
- Roberts D. C., Andrews M. M. (1997) Baclofen suppression of cocaine self-administration: demonstration using a discrete trials procedure. *Psychopharmacology* 131: 271-277.

- Roberts D. C., Bennett S. A., Vickers G. J. (1989a) The estrous cycle affects cocaine self-administration on a progressive ratio schedule in rats. *Psychopharmacology* 98: 408-411.
- Roberts D. C., Brebner K., Vincler M., Lynch W. J. (2002) Patterns of cocaine self-administration in rats produced by various access conditions under a discrete trials procedure. *Drug and Alcohol Dependence* 67: 291-299.
- Roberts D. C., Corcoran M. E., Fibiger H. C. (1977) On the role of ascending catecholaminergic systems in intravenous self-administration of cocaine. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 6: 615-620.
- Roberts D. C., Gabriele A., Zimmer B. A. (2013) Conflation of cocaine seeking and cocaine taking responses in IV self-administration experiments in rats: methodological and interpretational considerations. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 37: 2026-2036.
- Roberts D. C., Koob G. F., Klonoff P., Fibiger H. C. (1980) Extinction and recovery of cocaine self-administration following 6-hydroxydopamine lesions of the nucleus accumbens. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 12: 781-787.
- Roberts D. C., Loh E. A., Vickers G. (1989b) Self-administration of cocaine on a progressive ratio schedule in rats: dose-response relationship and effect of haloperidol pretreatment. *Psychopharmacology* 97: 535-538.
- Roberts D. C., Morgan D., Liu Y. (2007) How to make a rat addicted to cocaine. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 31: 1614-1624.
- Robinson T. E., Berridge K. C. (1993) The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Research: Brain Research Reviews* 18: 247-291.
- Robinson T. E., Berridge K. C. (2000) The psychology and neurobiology of addiction: an incentive-sensitization view. *Addiction* 95 Suppl 2: S91-117.
- Roy S. N., Bhattacharyya A. K., Pradhan S., Pradhan S. N. (1978) Behavioural and neurochemical effects of repeated administration of cocaine in rats. *Neuropharmacology* 17: 559-564.
- Rush C. R., Stoops W. W., Sevak R. J., Hays L. R. (2010) Cocaine choice in humans during D-amphetamine maintenance. *Journal of Clinical Psychopharmacology* 30: 152-159.
- Russell M. A., Feyerabend C. (1978) Cigarette smoking: a dependence on high-nicotine boli. *Drug Metabolism Reviews* 8: 29-57.

- Samaha A. N., Li Y., Robinson T. E. (2002) The rate of intravenous cocaine administration determines susceptibility to sensitization. *Journal of Neuroscience* 22: 3244-3250.
- Samaha A. N., Mallet N., Ferguson S. M., Gonon F., Robinson T. E. (2004) The rate of cocaine administration alters gene regulation and behavioral plasticity: implications for addiction. *Journal of Neuroscience* 24: 6362-6370.
- Samaha A. N., Minogianis E. A., Nachar W. (2011) Cues paired with either rapid or slower self-administered cocaine injections acquire similar conditioned rewarding properties. *PLoS One* 6: e26481.
- Samaha A. N., Robinson T. E. (2005) Why does the rapid delivery of drugs to the brain promote addiction? *Trends in Pharmacological Sciences* 26: 82-87.
- Samaha A. N., Yau W. Y., Yang P., Robinson T. E. (2005) Rapid delivery of nicotine promotes behavioral sensitization and alters its neurobiological impact. *Biological Psychiatry* 57: 351-360.
- Sams-Dodd F. (1998) Effects of continuous D-amphetamine and phencyclidine administration on social behaviour, stereotyped behaviour, and locomotor activity in rats. *Neuropsychopharmacology* 19: 18-25.
- Sanchis-Segura C., Spanagel R. (2006) Behavioural assessment of drug reinforcement and addictive features in rodents: an overview. *Addiction Biology* 11: 2-38.
- Schindler C. W., Cogan E. S., Thorndike E. B., Panlilio L. V. (2011) Rapid delivery of cocaine facilitates acquisition of self-administration in rats: an effect masked by paired stimuli. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 99: 301-306.
- Schindler C. W., Panlilio L. V., Thorndike E. B. (2009) Effect of rate of delivery of intravenous cocaine on self-administration in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 93: 375-381.
- Schoepp D. D., Jane D. E., Monn J. A. (1999) Pharmacological agents acting at subtypes of metabotropic glutamate receptors. *Neuropharmacology* 38: 1431-1476.
- Schuster C. R., Thompson T. (1969) Self administration of and behavioral dependence on drugs. *Annual Review of Pharmacology* 9: 483-502.
- Segal D. S., Mandell A. J. (1974) Long-term administration of d-amphetamine: progressive augmentation of motor activity and stereotypy. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 2: 249-255.

- Sesack S. R., Grace A. A. (2010) Cortico-Basal Ganglia reward network: microcircuitry. *Neuropsychopharmacology* 35: 27-47.
- Shaham Y., Erb S., Stewart J. (2000) Stress-induced relapse to heroin and cocaine seeking in rats: a review. *Brain Research: Brain Research Reviews* 33: 13-33.
- Shaham Y., Shalev U., Lu L., De Wit H., Stewart J. (2003) The reinstatement model of drug relapse: history, methodology and major findings. *Psychopharmacology* 168: 3-20.
- Shalev U., Grimm J. W., Shaham Y. (2002) Neurobiology of relapse to heroin and cocaine seeking: a review. *Pharmacological Reviews* 54: 1-42.
- Sharp T., Zetterstrom T., Ljungberg T., Ungerstedt U. (1987) A direct comparison of amphetamine-induced behaviours and regional brain dopamine release in the rat using intracerebral dialysis. *Brain Research* 401: 322-330.
- Shearer J., Wodak A., van Beek I., Mattick R. P., Lewis J. (2003) Pilot randomized double blind placebo-controlled study of dexamphetamine for cocaine dependence. *Addiction* 98: 1137-1141.
- Shou M., Ferrario C. R., Schultz K. N., Robinson T. E., Kennedy R. T. (2006) Monitoring dopamine in vivo by microdialysis sampling and on-line CE-laser-induced fluorescence. *Analytical Chemistry* 78: 6717-6725.
- Siciliano C. A., Fordahl S. C., Jones S. R. (2016) Cocaine Self-Administration Produces Long-Lasting Alterations in Dopamine Transporter Responses to Cocaine. *Journal of Neuroscience* 36: 7807-7816.
- Siciliano C. A., Jones S. R. (2017) Cocaine Potency at the Dopamine Transporter Tracks Discrete Motivational States During Cocaine Self-Administration. *Neuropsychopharmacology* 42: 1893-1904.
- Siciliano C. A., Saha K., Calipari E. S., Fordahl S. C., Chen R., Khoshbouei H., Jones S. R. (2018) Amphetamine reverses escalated cocaine intake via restoration of dopamine transporter conformation. *Journal of Neuroscience* 38: 484-497.
- Siegel R. K. (1977) Cocaine: recreational use and intoxication. *NIDA Research Monograph Series* 13: 119-136.
- Siegel R. K. (1982) Cocaine smoking. *Journal of Psychoactive Drugs* 14: 271-359.
- Siegel R. K. (1984a) Changing patterns of cocaine use: longitudinal observations, consequences, and treatment. *NIDA Research Monograph* 50: 92-110.

- Siegel R. K. (1984b) Cocaine abuse in the treatment of cocaine dependency. *Journal of Clinical Psychopharmacology* 4: 61-62.
- Siegel R. K. (1985) New patterns of cocaine use: changing doses and routes. *NIDA Research Monograph* 61: 204-220.
- Siegel S. (1988) Drug anticipation and the treatment of dependence. *NIDA Research Monograph* 84: 1-24.
- Simon S. L., Richardson K., Dacey J., Glynn S., Domier C. P., Rawson R. A., Ling W. (2002) A comparison of patterns of methamphetamine and cocaine use. *Journal of Addictive Diseases* 21: 35-44.
- Singer B. F., Fadanelli M., Kawa A. B., Robinson T. E. (2018) Are Cocaine-Seeking "Habits" Necessary for the Development of Addiction-Like Behavior in Rats? *Journal of Neuroscience* 38: 60-73.
- Sinha R. (2008) Chronic stress, drug use, and vulnerability to addiction. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1141: 105-130.
- Sizemore G. M., Gaspard T. M., Kim S. A., Walker L. E., Vrana S. L., Dworkin S. I. (1997) Dose-effect functions for cocaine self-administration: effects of schedule and dosing procedure. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 57: 523-531.
- Skinner B. F. (1938) *The behavior of organisms*. New York: Appleton-Century-Crofts.
- Smith J. A., Mo Q., Guo H., Kunko P. M., Robinson S. E. (1995) Cocaine increases extraneuronal levels of aspartate and glutamate in the nucleus accumbens. *Brain Research* 683: 264-269.
- Solomon R. L., Corbit J. D. (1974) An opponent-process theory of motivation. I. Temporal dynamics of affect. *Psychological Review* 81: 119-145.
- Spealman R. D., Goldberg S. R. (1978) Drug self-administration by laboratory animals: control by schedules of reinforcement. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* 18: 313-339.
- Spragg S. D. S. (1940) Morphine addiction in chimpanzees. *Comparative Psychology Monographs* 15: 1-132.
- Stead L. F., Perera R., Bullen C., Mant D., Hartmann-Boyce J., Cahill K., Lancaster T. (2012) Nicotine replacement therapy for smoking cessation. *Cochrane Database Syst Rev* 11: CD000146.

- Stefanik M. T., Moussawi K., Kupchik Y. M., Smith K. C., Miller R. L., Huff M. L., Deisseroth K., Kalivas P. W., LaLumiere R. T. (2013) Optogenetic inhibition of cocaine seeking in rats. *Addiction Biology* 18: 50-53.
- Stewart J. (2000) Pathways to relapse: the neurobiology of drug- and stress-induced relapse to drug-taking. *Journal of Psychiatry and Neuroscience* 25: 125-136.
- Stolberg V. B. (2011) The use of coca: prehistory, history, and ethnography. *Journal of Ethnicity in Substance Abuse* 10: 126-146.
- Suzuki T., George F. R., Meisch R. A. (1988) Differential establishment and maintenance of oral ethanol reinforced behavior in Lewis and Fischer 344 inbred rat strains. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 245: 164-170.
- Tatum A. L., Seevers M. H. (1929) Experimental cocaine addiction. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 36: 401-410.
- Thompson T., Schuster C. R. (1964) Morphine Self-Administration, Food-Reinforced, and Avoidance Behaviors in Rhesus Monkeys. *Psychopharmacologia* 5: 87-94.
- Thomsen M., Barrett A. C., Negus S. S., Caine S. B. (2013) Cocaine versus food choice procedure in rats: environmental manipulations and effects of amphetamine. *Journal of the Experimental Analysis of Behavior* 99: 211-233.
- Thomsen M., Hall F. S., Uhl G. R., Caine S. B. (2009) Dramatically decreased cocaine self-administration in dopamine but not serotonin transporter knock-out mice. *Journal of Neuroscience* 29: 1087-1092.
- Tornatzky W., Miczek K. A. (2000) Cocaine self-administration "binges": transition from behavioral and autonomic regulation toward homeostatic dysregulation in rats. *Psychopharmacology* 148: 289-298.
- UNODC (2017) United Nations Office on Drugs and Crime. *World Drug Report 2017*.
- Van Dyke C., Barash P. G., Jatlow P., Byck R. (1976) Cocaine: plasma concentrations after intranasal application in man. *Science* 191: 859-861.
- Van Dyke C., Byck R. (1982) Cocaine. *Scientific American* 246: 128-141.
- Vanderschuren L. J., Everitt B. J. (2004) Drug seeking becomes compulsive after prolonged cocaine self-administration. *Science* 305: 1017-1019.

- Vanderschuren L. J., Pierce R. C. (2010) Sensitization processes in drug addiction. *Current Topics in Behavioral Neurosciences* 3: 179-195.
- Verebey K., Gold M. S. (1988) From Coca Leaves to Crack - the Effects of Dose and Routes of Administration in Abuse Liability. *Psychiatric Annals* 18: 513-520.
- Vocci F., Ling W. (2005) Medications development: successes and challenges. *Pharmacology and Therapeutics* 108: 94-108.
- Volkow N. D., Wang G. J., Fischman M. W., Foltin R., Fowler J. S., Franceschi D., Franceschi M., Logan J., Gatley S. J., Wong C., Ding Y. S., Hitzemann R., Pappas N. (2000) Effects of route of administration on cocaine induced dopamine transporter blockade in the human brain. *Life Sciences* 67: 1507-1515.
- Volkow N. D., Wang G. J., Fowler J. S., Logan J., Gatley S. J., Wong C., Hitzemann R., Pappas N. R. (1999) Reinforcing effects of psychostimulants in humans are associated with increases in brain dopamine and occupancy of D(2) receptors. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 291: 409-415.
- Volkow N. D., Wang G. J., Ma Y., Fowler J. S., Wong C., Ding Y. S., Hitzemann R., Swanson J. M., Kalivas P. (2005) Activation of orbital and medial prefrontal cortex by methylphenidate in cocaine-addicted subjects but not in controls: relevance to addiction. *Journal of Neuroscience* 25: 3932-3939.
- Wagner F. A., Anthony J. C. (2002) From first drug use to drug dependence; developmental periods of risk for dependence upon marijuana, cocaine, and alcohol. *Neuropsychopharmacology* 26: 479-488.
- Wakabayashi K. T., Weiss M. J., Pickup K. N., Robinson T. E. (2010) Rats markedly escalate their intake and show a persistent susceptibility to reinstatement only when cocaine is injected rapidly. *Journal of Neuroscience* 30: 11346-11355.
- Wallace R. J. (1999) Addiction as defect of the will: Some philosophical reflections. *Law and Philosophy* 18: 621-654.
- Walsh S. L., Haberny K. A., Bigelow G. E. (2000) Modulation of intravenous cocaine effects by chronic oral cocaine in humans. *Psychopharmacology* 150: 361-373.
- Ward A. S., Haney M., Fischman M. W., Foltin R. W. (1997) Binge cocaine self-administration in humans: intravenous cocaine. *Psychopharmacology* 132: 375-381.
- Warner E. A. (1993) Cocaine abuse. *Annals of Internal Medicine* 119: 226-235.

- Warr O., Takahashi M., Attwell D. (1999) Modulation of extracellular glutamate concentration in rat brain slices by cystine-glutamate exchange. *Journal of Physiology* 514 (Pt 3): 783-793.
- Wee S., Mandyam C. D., Lekic D. M., Koob G. F. (2008) Alpha 1-noradrenergic system role in increased motivation for cocaine intake in rats with prolonged access. *European Neuropsychopharmacology* 18: 303-311.
- Wee S., Orio L., Ghirmai S., Cashman J. R., Koob G. F. (2009) Inhibition of kappa opioid receptors attenuated increased cocaine intake in rats with extended access to cocaine. *Psychopharmacology* 205: 565-575.
- Weeks J. R. (1962) Experimental morphine addiction: method for automatic intravenous injections in unrestrained rats. *Science* 138: 143-144.
- Weeks J. R., Davis J. D. (1964) Chronic Intravenous Cannulas for Rats. *Journal of Applied Physiology* 19: 540-541.
- 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. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97: 4321-4326.
- Wikler A. (1952) A psychodynamic study of a patient during experimental self-regulated re-addiction to morphine. *Psychiatric Quarterly* 26: 270-293.
- Wilkinson P., Van Dyke C., Jatlow P., Barash P., Byck R. (1980) Intranasal and oral cocaine kinetics. *Clinical Pharmacology and Therapeutics* 27: 386-394.
- Wilson M. C., Hitomi M., Schuster C. R. (1971) Psychomotor stimulant self administration as a function of dosage per injection in the rhesus monkey. *Psychopharmacologia* 22: 271-281.
- Wise R. A. (1984) Neural mechanisms of the reinforcing action of cocaine. *In National Institute on Drug Abuse (NIDA) 50*. 15-33.
- Wise R. A. (1996) Addictive drugs and brain stimulation reward. *Annual Review of Neuroscience* 19: 319-340.
- Wise R. A., Bauco P., Carlezon W. A., Jr., Trojnar W. (1992) Self-stimulation and drug reward mechanisms. *Annals of the New York Academy of Sciences* 654: 192-198.

- Wise R. A., Bozarth M. A. (1987) A psychomotor stimulant theory of addiction. *Psychological Review* 94: 469-492.
- Wise R. A., Newton P., Leeb K., Burnette B., Pocock D., Justice J. B., Jr. (1995) Fluctuations in nucleus accumbens dopamine concentration during intravenous cocaine self-administration in rats. *Psychopharmacology* 120: 10-20.
- Wolf M. E. (2010) The Bermuda Triangle of cocaine-induced neuroadaptations. *Trends in Neurosciences* 33: 391-398.
- Woolverton W. L., Wang Z. (2004) Relationship between injection duration, transporter occupancy and reinforcing strength of cocaine. *European Journal of Pharmacology* 486: 251-257.
- Xi Z. X., Baker D. A., Shen H., Carson D. S., Kalivas P. W. (2002) Group II metabotropic glutamate receptors modulate extracellular glutamate in the nucleus accumbens. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 300: 162-171.
- Xi Z. X., Kiyatkin M., Li X., Peng X. Q., Wiggins A., Spiller K., Li J., Gardner E. L. (2010) N-acetylaspartylglutamate (NAAG) inhibits intravenous cocaine self-administration and cocaine-enhanced brain-stimulation reward in rats. *Neuropharmacology* 58: 304-313.
- Yokel R. A. (1987) Intravenous self-administration: response rates, the effects of pharmacological challenges, and drug preference. *In Bozarth MA (ed). Methods of Assessing the Reinforcing Properties of Abused Drugs. Springer-Verlag: New York.:* 1-33.
- Yokel R. A., Pickens R. (1973) Self-administration of optical isomers of amphetamine and methylamphetamine by rats. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 187: 27-33.
- Zernig G. (1997) Rate of rise in brain concentration determines reinforcing strength of cocaine in only 63% of tested rats. *NIDA Res Monogr* 178, 218.
- Zernig G., Giacomuzzi S., Riemer Y., Wakonigg G., Sturm K., Saria A. (2003) Intravenous drug injection habits: drug users' self-reports versus researchers' perception. *Pharmacology* 68: 49-56.
- Zimmer B. A., Chiodo K. A., Roberts D. C. (2014) Reduction of the reinforcing effectiveness of cocaine by continuous D-amphetamine treatment in rats: importance of active self-administration during treatment period. *Psychopharmacology* 231: 949-954.

Zimmer B. A., Dobrin C. V., Roberts D. C. (2011) Brain-cocaine concentrations determine the dose self-administered by rats on a novel behaviorally dependent dosing schedule. *Neuropsychopharmacology* 36: 2741-2749.

Zimmer B. A., Oleson E. B., Roberts D. C. (2012) The motivation to self-administer is increased after a history of spiking brain levels of cocaine. *Neuropsychopharmacology* 37: 1901-1910.

Annexe

Revue

**HOW FAST AND HOW OFTEN: THE PHARMACOKINETICS OF DRUG USE ARE
DECISIVE IN ADDICTION**

Running Title: Pharmacokinetics in addiction

Florence Allain, M.Sc.^a, Ellie-Anna Minogianis, M.Sc.^a, David C. S. Roberts, PhD^b and
Anne-Noël Samaha, PhD*^{a, c}

^aDepartment of Pharmacology, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, QC, H3C 3J7, Canada; ^bDepartment of Physiology and Pharmacology, Wake Forest University Health Sciences, Winston-Salem, NC, 27157, USA ^cCNS Research Group, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montreal, QC, H3C 3J7, Canada

*Corresponding Author:
Anne-Noël Samaha
Department of Pharmacology
Université de Montréal
C.P. 6128, Succursale Centre-ville
Montreal, Quebec
H3C 3J7
Canada
Tel: 514 343 6111 x. 32788
Fax: 514 343 2291
anna.samaha@umontreal.ca

Ce manuscrit a été publié dans Neuroscience & Biobehavioral Reviews 56: 166-179, Septembre 2015.

Abstract

How much, how often and how fast a drug reaches the brain determine the behavioural and neuroplastic changes associated with the addiction process. Despite the critical nature of these variables, the drug addiction field often ignores pharmacokinetic issues, which we argue can lead to false conclusions. First, we review the clinical data demonstrating the importance of the speed of drug onset and of intermittent patterns of drug intake in psychostimulant drug addiction. This is followed by a review of the preclinical literature demonstrating that pharmacokinetic variables play a decisive role in determining behavioural and neurobiological outcomes in animal models of addiction. This literature includes recent data highlighting the importance of intermittent, 'spiking' brain levels of drug in producing an increase in the motivation to take drug over time. Rapid drug onset and intermittent drug exposure both appear to push the addiction process forward most effectively. This has significant implications for refining animal models of addiction and for better understanding the neuroadaptations that are critical for the disorder.

Keywords: Drug addiction; Pharmacokinetics; Cocaine; Route of drug intake; Speed of drug delivery; Intermittent drug exposure.

Highlights

- Drug pharmacokinetics determine neurobehavioural changes linked to addiction
- The drug addiction field often ignores pharmacokinetic issues
- Rapid drug onset and intermittent use both facilitate the transition to addiction
- This has implications for refining animal models of the process of addiction

Acknowledgements

ANS holds a salary award from the Fonds de la Recherche en Santé du Québec. EAM holds a graduate fellowship from the Fonds de la Recherche en Santé du Québec. ANS wishes to warmly thank Dr. Terry E. Robinson for inspiring her to investigate the role of kinetic factors in drug addiction.

1. Introduction

Amongst people who use drugs, some keep control over their drug use while others develop addiction. What accounts for this differential vulnerability? Like any complex disease, “*the development of addiction depends on the interaction of agent, host and environment*” (O'Brien, 2008). With this reality, it becomes clear that to identify the brain changes that are critical to addiction, it is important that we understand how agent, host and environment each influence the response to drugs of abuse. The roles of the individual and of the environment are studied extensively. Much less attention has been paid to characteristics of the ‘agent’, such as drug pharmacokinetics. In the context of drug addiction, important pharmacokinetic parameters include how much drug gets to the brain (achieved dose), how fast drug levels rise in the brain (rate of drug onset) and how often they rise and fall (intermittency).

Thirty-five years ago, Robert Post emphasized the importance of the temporal dynamics of stimulation by drugs and other stimuli in ‘...*determining the direction and magnitude of adaptive response following repeated presentation*’ (Post, 1980). When considering the response to a drug of abuse or any pharmacological agent for that matter, pharmacokinetics determine the pharmacodynamics. That is, pharmacokinetics govern the ability of drugs to interact with transporters and receptors, and to influence intra-cellular signalling cascades. The same drug can have markedly different – sometimes opposite – effects on brain and behaviour depending on whether it is injected intravenously (i.v.), or into the intraperitoneal (i.p.) cavity, administered through the skin, taken orally or given chronically in a subcutaneous (s.c.) osmotic minipump. This is because different routes of drug administration produce markedly different pharmacokinetic profiles. This is why a drug that can produce addiction when smoked or injected can be used to treat addiction when given orally (methadone) or in a patch (nicotine). Similarly, amphetamine formulated to produce slowly rising and steady-state levels of drug in the brain is currently used as pharmacotherapy for cocaine addiction (Negus and Henningfield, 2015). Methadone, nicotine and amphetamine are striking examples from the clinical literature showing that manipulation of pharmacokinetic variables can fundamentally change the

behavioural effects of drugs – rather than having abuse potential they might actually have therapeutic potential. As will be shown below, pharmacokinetics determine all drug effects that are relevant to addiction.

The influence of pharmacokinetics on the response to drugs of abuse remains largely unstudied, save for dose. This is in part because in the addiction field, it is widely assumed that the amount of drug exposure largely determines outcome (Ahmed, 2012; Benowitz and Henningfield, 1994; Jonkman et al., 2012). Some have even suggested the existence of a ‘critical level’ of drug exposure beyond which “*addiction-causing neuropathological processes could be set in motion*” (Ahmed, 2012). Drug pharmacokinetics are often regarded as secondary, simply a means to vary the amount of drug reaching the brain. This assumption is dangerous. Variation in the pharmacokinetic profile of a drug can produce different effects even when the same amount of drug reaches the brain. In other words, “how fast” and “how often” can be more important than “how much” in determining functional outcome. This principle is at the core of the present review. The general principles that will be discussed apply across drug classes. However, it is not feasible to review all drug classes. Opiates, alcohol and nicotine present their own specific pharmacokinetic issues and these deserve to be reviewed in depth. Here we will focus on cocaine. We do so for three principle reasons. First, cocaine can be snorted, smoked or injected and these different routes result in very different pharmacokinetic profiles. Second, the clinical literature emphasizes the importance of pharmacokinetics in cocaine addiction (Hatsukami and Fischman, 1996). Third, in animal studies, cocaine is most often used as a prototypical drug of abuse to investigate the contributions of pharmacokinetics to drug response. Thus, here we review the evidence showing that in addition to drug dose, the speed of drug onset and the intermittency of drug exposure both determine brain and behaviour changes that are relevant to addiction, particularly cocaine addiction.

2. Drug pharmacokinetics influence drug addiction liability

The clinical data are clear; the faster drugs reach the brain, the more likely it is that addiction will develop. Drugs of abuse are often taken by the i.v., smoked, oral or intranasal routes. The route of drug administration determines both how fast (rise time) and how much (area under the curve) drug reaches the general circulation and ultimately, the brain (see **Fig. 1**).

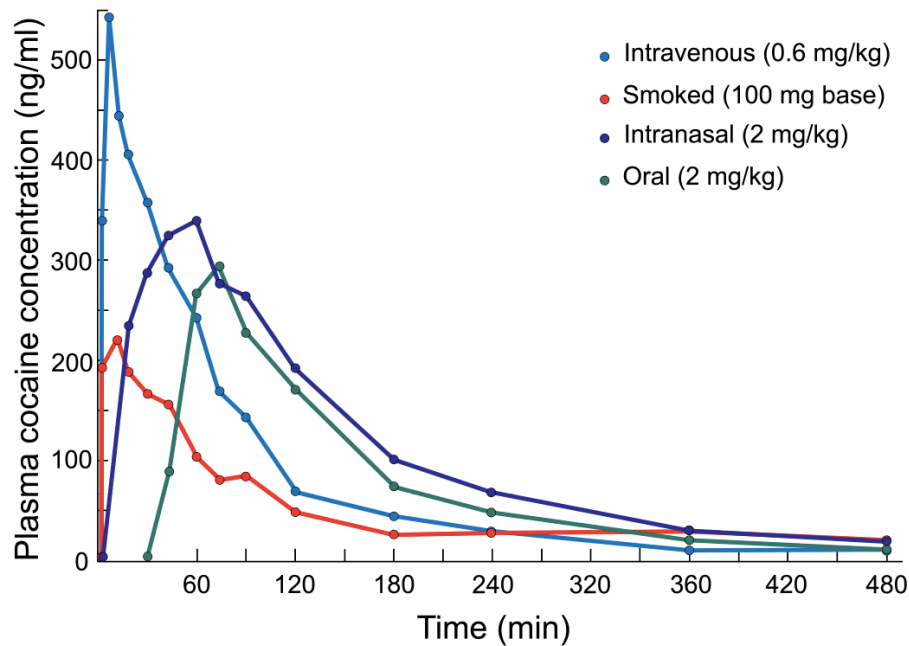


Fig. 1. The pharmacokinetic profiles of plasma cocaine levels in humans as a function of the route of drug administration. Plasma cocaine levels rise sharply and decline rapidly when cocaine is injected intravenously or smoked. In contrast, plasma cocaine levels rise and decline more slowly following intranasal or oral administration of the drug. Data represent the mean for ten human subjects in each condition. Adapted from Jones (1990).

However, rise time can be more predictive of addiction liability than other parameters such as area under the curve. Smoking and injecting are the two fastest and most efficient methods of getting drug into the bloodstream (Cone, 1995, 1998; Evans et al., 1996). Peak venous plasma levels of cocaine or radiolabelled cocaine are reached in 2-5 min following i.v. injection or smoking, and 30-60 min after intranasal administration (Cone, 1998; Javaid et al., 1978; Jeffcoat et al., 1989; Van Dyke et al., 1976). (Of note, peak *arterial* plasma levels of drug are reached earlier than peak venous plasma levels, for example time to peak arterial cocaine levels after smoking or intravenous injection is 15 s; Evans et al., 1996). The oral and intranasal routes result in slower absorption rates, which in turn result in lower blood concentrations, over

a longer period of time (Cone, 1995, 1998). Peak plasma levels of drug correlate well in time with the subjective effects of drugs. For a drug like cocaine, for example, the maximum self-reported 'high' is reached 1-5 min after intravenous injection, and 15-20 min after intranasal administration (Evans et al., 1996; Javaid et al., 1978).

Addiction is more likely and more severe in individuals who take drugs via rapid routes of drug delivery. For instance, addiction to cocaine, amphetamine, methamphetamine, nicotine or heroin is more probable in people who consume these drugs via smoking or i.v. injection than in individuals who use slower routes of drug administration (e.g., the intranasal or transdermal routes; Barrio et al., 2001; Budney et al., 1993; Carpenter et al., 1998; Ferri and Gossop, 1999; Gossop et al., 1992, 1994; Hatsukami and Fischman, 1996; Hughes, 1989; Rawson et al., 2007; Van Dyke and Byck, 1982; Volkow and Swanson, 2003; Winger et al., 1992). Compared to intranasal drug users, individuals who smoke or inject drugs i.v. also use drugs more frequently, for a longer time, spend more money on drugs, report a greater loss of control over drug taking and are more likely to overdose (Barrio et al., 2001; Carpenter et al., 1998; Ferri and Gossop, 1999; Gossop et al., 1992, 1994; Hatsukami and Fischman, 1996; Hughes, 1989; Rawson et al., 2007; Van Dyke and Byck, 1982; Volkow and Swanson, 2003; Winger et al., 1992). Finally, users who smoke or inject drugs have more health-threatening patterns of drug use (Carpenter et al., 1998; Ferri and Gossop, 1999; Gossop et al., 1992; Hatsukami and Fischman, 1996; Hughes, 1989; Rawson et al., 2007; Winger et al., 1992), and they suffer more harm, including contracting blood borne viruses such as HIV and hepatitis C, experiencing drug-induced paranoid psychosis, and dying of an overdose (Brady et al., 1991; Gossop et al., 1992; Hatsukami and Fischman, 1996; Roncero et al., 2012; Winger et al., 1992).

The oral route is much slower and therefore carries less addiction liability. However, the risk exists and drug manufacturers make efforts to reduce the speed of absorption of certain potentially addictive medications. For example, amphetamine (Adderall), methylphenidate

(Ritalin) and phenmetrazine (Preludin) are being designed to reduce the speed of brain uptake and the ability of users to smoke or inject the drugs (Connor and Steingard, 2004; Spencer et al., 2006).

The intermittency of drug use is also a recurrent theme in the addiction literature. Systematic research on the temporal pattern of drug use in humans is scarce. There are however anecdotal reports and general agreement that intermittency of intake is a defining feature of psychostimulant drug addiction. There appear to be two, possibly independent intermittency phenomena. The first is the 'abstinence period', which can last for days or weeks. The second is the inter-dosing interval within a bout of intoxication. Drug users adopt intermittent patterns of use, and this is seen both within and between a bout of intoxication. The notion of intermittent drug use in addicts, particularly for drugs like cocaine, is emphasized in classic writings on addiction (Gawin and Kleber, 1986; O'Brien, 2001), and is supported by anecdotal reports and observational studies primarily involving experienced drug users. For example, Ward et al. (1997) state "*anecdotal reports from the majority of cocaine users in our laboratory indicate that binges may last for days, with intervals of heavy cocaine use separated by brief breaks in which the user hustles in order to get enough money to buy more cocaine*". Similarly, Cohen and Sas (1994) studied patterns of cocaine use in addicts in Amsterdam, and they report that sustained and high levels of use are "*rarely maintained*" and that "*Many users lace their cocaine use career with periods of abstinence. Such periods may last from a week to several months.*" This suggests that cocaine addicts are unlikely to maintain continuously high brain levels of drug over extended periods. Addicts do engage in drug binges, where drug is taken at a high frequency during a bout lasting from hours to days. For instance, craving for cocaine is reported to be highest shortly after intake of the drug (Jaffe et al., 1989; O'Brien et al., 1992). This can favour the transition towards a binge pattern of administration and addiction (Gawin, 1991). However, even within a binge, the pattern of use appears to be intermittent. A recent study on this issue suggests that experienced users wait, on average, well over an hour between cocaine uses within a binge (Beveridge et al., 2012). Cocaine has a half-life of ~40

min (Javaid et al., 1983). This suggests that during a binge, blood levels of the drug are not maintained at continuously high levels but might rise and fall in a spiking pattern (Zimmer et al., 2012). This intermittent and spiking pattern of drug levels is thought to promote the transition to cocaine addiction (Zimmer et al., 2012). Similarly, smoking cigarettes is also thought to be particularly addictive because the puff-by-puff inhalation of cigarette smoke produces intermittent and fast-rising spikes in brain levels of nicotine (Russell and Feyerabend, 1978) and of other components of tobacco smoke thought to enhance the addictive properties of nicotine (Berlin and Anthenelli, 2001).

3. Preclinical studies show that drug pharmacokinetics determine brain and behaviour effects relevant to addiction

Clinical studies point to the very important role of pharmacokinetic variables in drug addiction liability – in particular the rapidity of drug onset and the intermittency of drug exposure. The clinical data are correlational, but they make clear predictions that can be tested empirically in animals. Animal studies provide greater opportunities to study how pharmacokinetic variables influence the response to drugs. Here we review evidence from such studies indicating the powerful influence of pharmacokinetic variables on drug effects relevant to addiction. We begin by presenting simpler models, in which pharmacokinetic variables are limited to dose and route of administration. We then lead through to self-administration studies, where there are challenging interactions to be considered.

Until recently, the great majority of animal studies on the response to drugs used experimenter-administered, i.p. injections, and much has been learned from these experiments. **Fig. 2** illustrates the pharmacokinetic profiles of an i.p. versus an i.v. injection of cocaine. Comparing **Figs. 1** and **2** suggests that an i.p. injection produces a pharmacokinetic profile closest to that produced by intranasal or oral drug administration in humans. Though drug absorption is slower from the i.p. cavity, a vast literature shows that i.p. drug injections are nonetheless powerful in producing behavioural and neurobiological effects. This literature

also highlights the importance of intermittent drug exposure followed by a withdrawal period in promoting sensitization-like changes in brain and behaviour (Vezina et al., 2007). Thus, studies using i.p. drug injections laid the groundwork for understanding how the temporal pattern of drug exposure influences the response to drug. For instance, intermittent exposure to drug achieved via experimenter-administered i.p. injections of cocaine (Downs and Eddy, 1932; Post, 1980; Post and Rose, 1976; Reith et al., 1987; Stewart and Badiani, 1993) or nicotine (Baker et al., 2013; Di Chiara, 2000) more readily induces sensitization to the psychomotor activating effect of these drugs, while continuous infusion produces tolerance to this effect.

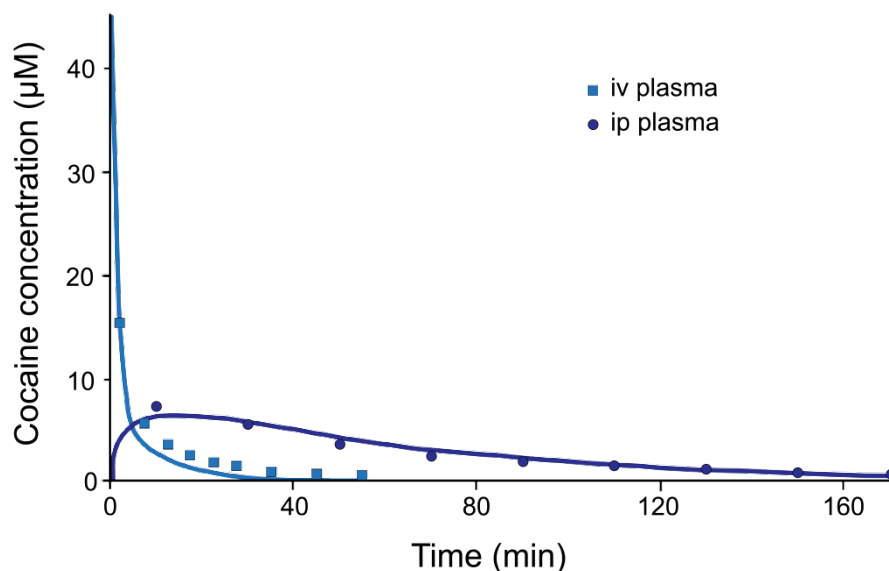


Fig. 2. The pharmacokinetic profiles of plasma cocaine levels in rats following intravenous (i.v.) and intraperitoneal (i.p.) administration. Plasma cocaine levels rise sharply and decline rapidly following an intravenous injection. In contrast, plasma cocaine levels rise and decline more slowly following an intraperitoneal injection of the drug. Note that following intravenous injection, cocaine concentrations in plasma rise rapidly and reach C_{max} within the first 5 min, which was the earliest sampling interval in this experiment. Adapted from Pan et al. (1991).

Psychomotor sensitization refers to a gradual and progressive increase in the locomotor response to the same or lower doses of a drug with repeated treatment (Eikelboom and Stewart, 1982; Kuczenski and Segal, 1988; Robinson and Becker, 1986; Siegel, 1977), and is also characterized by a faster onset of locomotor activation in response to drug administration (Carey and Gui, 1998; Segal et al., 1981). The ability of drugs to produce psychomotor sensitization might reflect their ability to sensitize reward and motivational processes, thus

promoting drug use and addiction (Robinson and Berridge, 1993, 2000; Vezina, 2004). For instance, intermittent i.p. injections of amphetamine, morphine, or cocaine produce sensitization to the rewarding effects of these drugs, as measured by the conditioned place preference test (Lett, 1989). Intermittent i.p. injections of amphetamine, cocaine or nicotine also increase the susceptibility to subsequently initiate voluntary self-administration of these drugs (Horger et al., 1990; Neugebauer et al., 2014; Piazza et al., 1990; Pierre and Vezina, 1997, 1998) and increase the work output animals will emit to obtain drug (Mendrek et al., 1998; Neugebauer et al., 2014; Vezina et al., 2002).

The intermittency of drug exposure also determines the nature and direction of cocaine-evoked neuroadaptations within the dopamine system—a system that is fundamental to the reinforcing effects of psychostimulant drugs. Intermittent, once a day i.p. cocaine injections enhance cocaine-induced inhibition of striatal dopamine reuptake (Izenwasser and Cox, 1990), while continuous infusion of the drug over a 24-h period attenuates the effects of cocaine on reuptake (Izenwasser and Cox, 1992). Intermittent cocaine administration also produces functional subsensitivity of D2 autoreceptors that modulate dopamine release, while continuous cocaine administration produces D2 autoreceptor supersensitivity (Jones et al., 1996). Within an intermittent, i.p. dosing schedule, the time interval between injections is also important. For instance, even when the total daily dose of cocaine is held constant, injecting the drug at short intervals preferentially evokes dopamine receptor upregulation within cortical and striatal brain regions (Unterwald et al., 2001). This suggests that the frequency of drug-evoked changes in extracellular dopamine levels, and by implication, the frequency of dopamine receptor activation, determines the long-term consequences of cocaine exposure (Unterwald et al., 2001).

Another model used to study drug effects relevant to addiction is the conditioned place preference paradigm. It measures the conditioned reinforcing properties of a physical environment that has been paired with the effects of a drug. In this paradigm, dose is generally

the only pharmacokinetic variable studied (and this work shows that the ability of drugs like cocaine to produce a conditioned place preference is dose-dependent; Spyraiki et al., 1982). A notable exception is work done by Nomikos and Spyraiki. They compared the i.v. and i.p. routes and report that across a range of doses, conditioned place preference to i.v. cocaine requires fewer conditioning sessions, is less susceptible to procedural factors, and is of greater magnitude than conditioning with i.p. cocaine (Nomikos and Spyraiki, 1988). The same group also reports that the dopamine D2/3 antagonist haloperidol disrupts conditioned place preference evoked by i.v. but not i.p. cocaine (Spyraiki et al., 1987). This was one of the first findings to suggest that the neurobiology mediating the reinforcing effects of cocaine varies as a function of the route of drug administration. The speed of drug onset differs markedly when cocaine is injected i.p. versus i.v. (**Fig. 2**). Thus, the work of Spyraiki and colleagues recalls what the clinical literature has taught; the speed of drug onset is critical in determining outcome.

The i.p. route cannot be used to manipulate the speed of drug onset; however, the i.v. route can. In a series of studies in rats we have used experimenter-administered i.v. drug injections to study the effects of variation in the speed of drug onset on the susceptibility to develop psychomotor sensitization. The findings concord with the clinical literature. They show that the speed of drug onset determines behavioural plasticity. These studies using experimenter-administered i.v. injections of cocaine are also important in that they bridge the gap between the literature using i.p. drug injections (the great majority of the work on psychomotor sensitization and conditioned place preference) and the literature using animal models of i.v. drug self-administration. In these studies, we varied the speed of drug onset by varying the speed of i.v. injection between 3 and 100 s. Across this range, there is no effect of injection speed on the acute locomotor response to cocaine or nicotine (Samaha et al., 2002, 2004, 2005). However, we found that increasing the speed of cocaine or nicotine delivery by as little as 20 s increases the susceptibility to psychomotor sensitization (Samaha et al., 2002, 2004, 2005). A first series of experiments showed that across a range of doses (0.5-2

mg/kg/infusion), and using both rotational behaviour in rats with a unilateral 6-hydroxydopamine lesion (a manipulation which destroys nigrostriatal dopamine neurons) and locomotor activity in neurologically intact rats as indices of psychomotor activation, rapid i.v. injections of cocaine (3-16 versus 25-100 s) promote the development of psychomotor sensitization (Samaha et al., 2002). Next, we showed that psychomotor sensitization to a single i.v. injection of cocaine developed when cocaine was injected rapidly (over 5 s) but not when it was injected more slowly (25-100 s; Samaha et al., 2004).

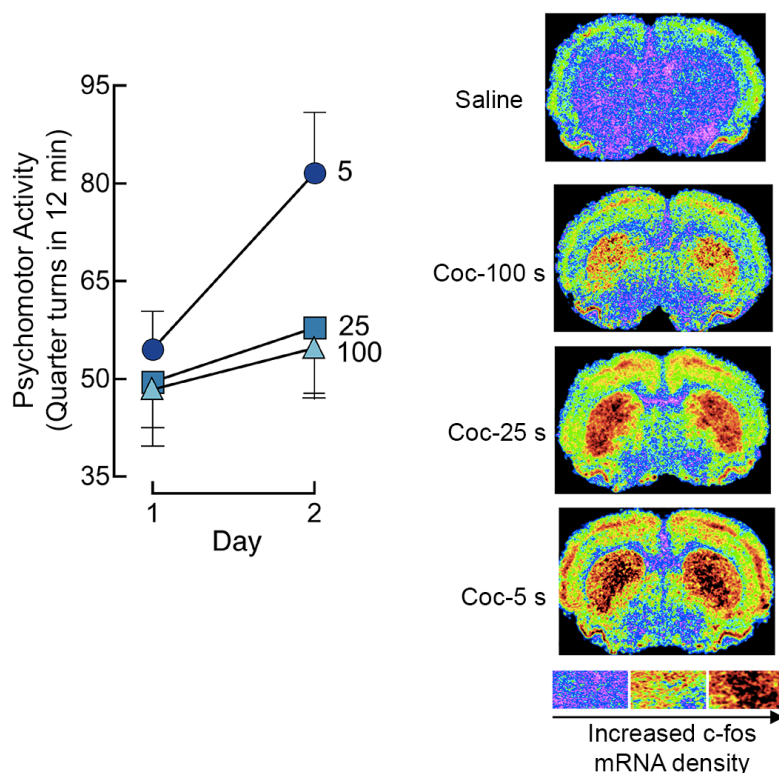


Fig. 3. Increasing the speed of intravenous cocaine delivery facilitates the development of psychomotor sensitization and promotes c-fos mRNA expression in corticolimbic regions. The panel on the left illustrates psychomotor activity averaged over the first 12 min following an intravenous injection of 2.0 mg/kg cocaine, delivered by an experimenter over 5, 25 or 100 s, on two consecutive days. Data are mean \pm SEM. Panels on the right show representative densitograms illustrating c-fos mRNA levels in the brains of rats injected with 2.0 mg/kg cocaine at different speeds. Coc, cocaine. s, second. Adapted from Samaha et al. (2004).

Fig. 3 illustrates this effect. Finally, we showed that the influence of the speed of drug onset also extends to another drug, nicotine. Rapid (5 versus 25-100 s) i.v. injection also promoted the development of psychomotor sensitization to nicotine (Samaha et al., 2005). Of course, most studies of psychomotor sensitization use i.p. injections of psychostimulant drugs.

Intraperitoneal injection would result in slower drug absorption relative to a 5-s i.v. injection (**Fig. 2**), but it is nonetheless effective in producing psychomotor sensitization. Consistent with this, we found that slower i.v. drug injections can still produce sensitization but this requires the use of higher doses and repeated exposure (Samaha et al., 2002, 2004, 2005). Thus, the faster cocaine or nicotine are administered, the more likely they are to induce behavioural sensitization. A clear implication is that even when the route of drug administration is held constant, the speed of drug delivery must influence the effects of drugs on the brain.

Small variations in the speed of cocaine or nicotine onset have large effects on the neurobiological impact of these drugs. Increasing the speed of drug onset promotes changes in cellular activity in mesocorticolimbic structures (Porrino, 1993; Samaha et al., 2004, 2005; See **Fig. 3**), greater and more immediate increases in heat-producing, metabolic activity in the ventral tegmental area and nucleus accumbens (Brown and Kiyatkin, 2005), and more immediate increases in dopamine transporter blockade (Samaha et al., 2004) and extracellular dopamine levels (Ferrario et al., 2008) in the striatum. With the exception of Porrino (1993), who compared i.p. and i.v. injections of cocaine, the speed of drug onset was varied by manipulating the speed of i.v. drug injection between 4 and 100 s. Pharmacokinetic modelling predicts that across these i.v. injection speeds, peak brain concentrations of cocaine would not vary, but the rate of rise of brain drug levels would (Samaha et al., 2002). Consistent with this prediction, this range of injection speeds produces differences in the rate of rise of striatal dopamine levels, without affecting peak dopamine overflow (Ferrario et al., 2008; Zernig, 1997). Similarly, Woolverton and Wang (2004) manipulated the speed of i.v. cocaine delivery across an even wider range (10-600 s) and found that faster i.v. cocaine injections produce a more rapid onset of dopamine transporter occupancy without altering maximum occupancy levels. These findings agree with clinical work suggesting that across a range of cocaine doses that produce similar plasma levels of drug, i.v., smoked or intranasal cocaine produce the same maximum levels of dopamine transporter occupancy, while producing different subjective effects (Volkow et al., 2000).

3.1 The effects of pharmacokinetic variables in intravenous drug self-administration models

As a model of drug-taking behaviour, i.v. drug self-administration in laboratory animals provides a strong opportunity to study how dose, speed of drug onset and intermittency of drug exposure interact to determine patterns of drug use. However, the model also offers considerable challenges. The pharmacokinetic issues can become quite complicated. Rather than dealing with a single, isolated injection, self-administration procedures result in multiple infusions, at various time intervals. The pattern of drug taking is influenced by summated brain levels, as well as how fast and how often these levels rise and fall. Understanding how pharmacokinetic variables affect cocaine intake and how cumulative cocaine exposure and the kinetics of this exposure affect cocaine seeking is critical to the design of animal models used in the study of the addiction process.

3.2 Drug taking (consummatory) versus drug seeking (appetitive) responses

Drug taking and drug seeking responses represent different categories of behaviour (i.e. consummatory and appetitive) that are likely regulated by different neural mechanisms (Roberts et al., 2013). Nonetheless, the sections below highlight that pharmacokinetic variables have parallel effects on the two response categories. The difference between appetitive and consummatory responses is rather obvious in humans; the consummatory response (smoking, drinking/swallowing, injecting, snorting) is an ingestive act that can become ritualistic. Appetitive responses involve more varied behaviours that result in gaining access to the drug (acquiring money, seeking out suppliers, paying for drug). Similarly in a typical operant experiment in which food is used as reinforcement, a lever response or nose poke would be considered an appetitive response that results, according to a defined schedule, in the delivery of a food pellet. The animal then has the option of ingesting the food. Pressing a lever and eating a food pellet are clearly different response types representing the appetitive and consummatory class. This distinction is also important in that it shapes experimental questions. For instance, identifying the processes an individual might use to regulate their

intake of free alcohol is quite different from determining how much someone might pay for a particular bottle of wine.

In experiments involving animals self-administering drug via i.v. catheters, consummatory and appetitive responses are not as clearly partitioned. As discussed elsewhere, intravenous drug self-administration studies – particularly under a fixed ratio 1 schedule of reinforcement (one operant response provides one drug infusion; FR1) – are a special case wherein the appetitive and consummatory responses are in fact necessarily conflated (Roberts et al., 2013). Since drug reinforcement is a programmed infusion delivered via a catheter, the consummatory act is entirely circumvented; there is no external stimulus to direct an ingestive behaviour toward (no smoking, drinking/swallowing, injecting, snorting). The nose poke or lever press becomes not only an appetitive response in the traditional operant sense but also a consummatory response that controls drug ingestion.

Whether the rates and patterns of responding exhibited in an intravenous drug self-administration experiment are controlled by appetitive or consummatory mechanisms will depend, to a large extent, on the schedule of reinforcement used. When using an FR1 schedule, every response leads to the intake of drug, thus every response is a consummatory act (though in light of the discussion above, the response might also reflect an appetitive process). An FR1 schedule therefore provides an opportunity to study the mechanisms that control drug intake. Such studies can presumably model specific human drug taking patterns and therefore allow the opportunity to study phenomena associated with limited versus extended drug access and “binges” for example. Below we will discuss how dose, speed of injection and intermittency of access affect the rates and patterns of cocaine consumption. Finally, we will discuss how these same pharmacokinetic variables influence appetitive responding, as measured using schedules that require an exponential increase in work demand in order to obtain each successive reinforcer, thus producing higher rates of operant behaviour prior to the delivery of the drug, in particular the progressive ratio schedule of drug

reinforcement (PR). It could well be argued that FR schedules above FR1 also measure appetitive responses because they require that several operant responses be emitted before delivery of the reinforcer. However, this raises the difficult question of how many operant responses under an FR schedule are required to convincingly tap into appetitive processes. For example, it is not clear whether an FR2 schedule measures a psychological process different from that measured by FR1. In contrast, responses under a PR schedule of reinforcement are unequivocally appetitive. Another important difference between a PR schedule and an FR1 schedule is that a PR schedule produces very high work demand. Under a PR schedule, obtaining each successive drug injection requires an increasing number of operant responses, until the subject ceases drug self-administration. The number of operant responses performed to obtain the last drug infusion is termed the breakpoint and it is used to infer the motivation to obtain drug (Hodos, 1961; Richardson and Roberts, 1996). Thus, the PR schedule queries an animal about how much physical work it is willing to emit to obtain a reinforcer, and the answer is used as an index of the motivation to procure that reinforcer. Schedules such as PR lend themselves to standard operant interpretation and can be used to assess motivational issues under conditions of very high work demand (Roberts et al., 2013). Such schedules can be used with operant theory or behavioural economics to infer changes in the motivation to seek drugs or continue a binge.

A substantial body of evidence has accumulated which shows that drug consumption and appetitive responding for drugs have partially distinct neurobiological substrates and are differentially affected by a wide variety of manipulations. For example, drug consumption under conditions of very low work demand (under an FR1 schedule) and appetitive responding for drugs under conditions of high work demand (under a PR schedule) are differentially affected by neurotoxic lesions (Loh and Roberts, 1990; Roberts, 1989; Roberts et al., 1994), pharmacological pretreatments (Brebner et al., 2000; Espana et al., 2010), the estrous cycle (Roberts et al., 1989) and diurnal rhythms (Bass et al., 2010; Fitch and Roberts, 1993). Note that while human addicts do not self-administer drug on PR schedules per se, they are willing

to suffer significant escalations in both price and work output in order to obtain drug. In addition, PR tests in animal models are essential because they provide tools to assess how various patterns of drug taking influence the motivation for further use. In the following sections, we will use the rough distinction between FR1 schedules of reinforcement versus other schedules with higher response requirements such as the PR procedure to discuss the effect of pharmacokinetic variables on drug taking versus drug seeking, respectively.

3.3 Pharmacokinetic variables influence drug-taking (consummatory) behaviour

3.3.1 Drug-taking behaviour during limited daily access to drug

Pharmacokinetic variables such as dose and speed of drug onset have minor effects on rate of drug intake in the acute stage – but in situations that would be expected to promote a change in the pattern of intake, these variables are critical.

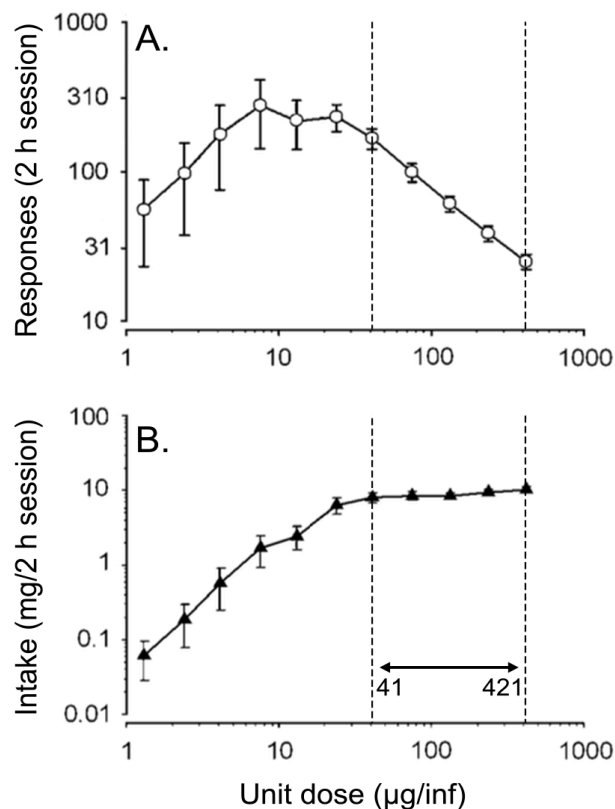


Fig. 4. The effect of manipulating dose on rate of responding (A) and total intake (B) for a group of rats self-administering intravenous injections of various unit doses of cocaine during daily two-hour sessions. Panel A illustrates an inverted 'U' shaped curve, and at the high end of this curve, responding decreases as dose increases. Panel B illustrates that over the dose range characterized by a decrease in the number of injections (41 – 421 µg/infusion, framed within dotted lines), intake is relatively constant. Data are mean \pm SEM. Adapted from Oleson and Roberts (2009).

First, it is important to recognize that cocaine self-administration can be remarkably stable. Although drug self-administration during daily 1-3h, FR1 sessions can produce psychomotor and neurochemical sensitization, and sensitization-related neuroadaptations can promote increased drug intake (Hooks et al., 1994; Lorrain et al., 2000; Phillips and Di Ciano, 1996), cocaine intake during short daily sessions is tightly regulated and changes little over time (Ahmed et al., 2002; Ahmed and Koob, 1998; Deroche-Gamonet et al., 2004; Knackstedt and Kalivas, 2007; Mantsch et al., 2004). Under these stable conditions, manipulations of dose generally have little effect on intake within or between sessions. For instance, if cocaine dose is manipulated during limited FR1 self-administration sessions, rats will self-administer lower doses more frequently than higher doses (Pickens and Thompson, 1968; Wilson et al., 1971), but hourly intake will typically remain stable both within a session and over days. **Fig. 4** shows the cocaine dose-response relationship under these conditions, depicted as the responses during a 2-h session. The figure illustrates that cocaine intake is held constant across a 10-fold range of doses (41 – 421 $\mu\text{g}/\text{infusion}$). **Fig. 5a** shows fluctuations in brain cocaine levels in an animal self-administering 500 $\mu\text{g}/\text{infusion}$ under these conditions, estimated using a mathematical model (Ahmed and Koob, 2005; Nicola and Deadwyler, 2000; Pan et al., 1991; Wise et al., 1995). The event record in **Fig. 5a** shows that there is a typical “loading phase” at the beginning of the session – a collection of several injections that produce a rapid rise in brain levels followed by an extremely regular pattern of responding that results in brain cocaine levels being maintained within a narrow range. Under these conditions, both hourly cocaine intake and intake over days remain relatively constant across a wide dose range. It is not clear why intake under these conditions generally does not change over time, or why some conditions that can produce psychomotor and neurochemical sensitization produce unchanging levels of drug intake. Just as the expression of behavioural sensitization is observed more readily following a period of drug withdrawal, it is possible that following limited daily self-administration sessions, an increase in drug intake might be observed after a sufficiently long abstinence period. However, it has been shown that in animals with a history of self-administering cocaine during short daily sessions, drug intake remains stable even

following one month of forced abstinence (Ahmed and Koob, 1998; Hollander and Carelli, 2005). Thus, escalation of drug intake is often not observed following short daily self-administration sessions, even though the same conditions can evoke psychomotor and neurochemical sensitization. Based on such evidence, some authors have concluded that psychomotor sensitization should not be used as a marker for the transition to increased drug use (Ahmed and Cador, 2006), while others maintain that psychomotor sensitization and changes in drug use are more readily linked under conditions of extended access to drug (Ferrario et al., 2005).

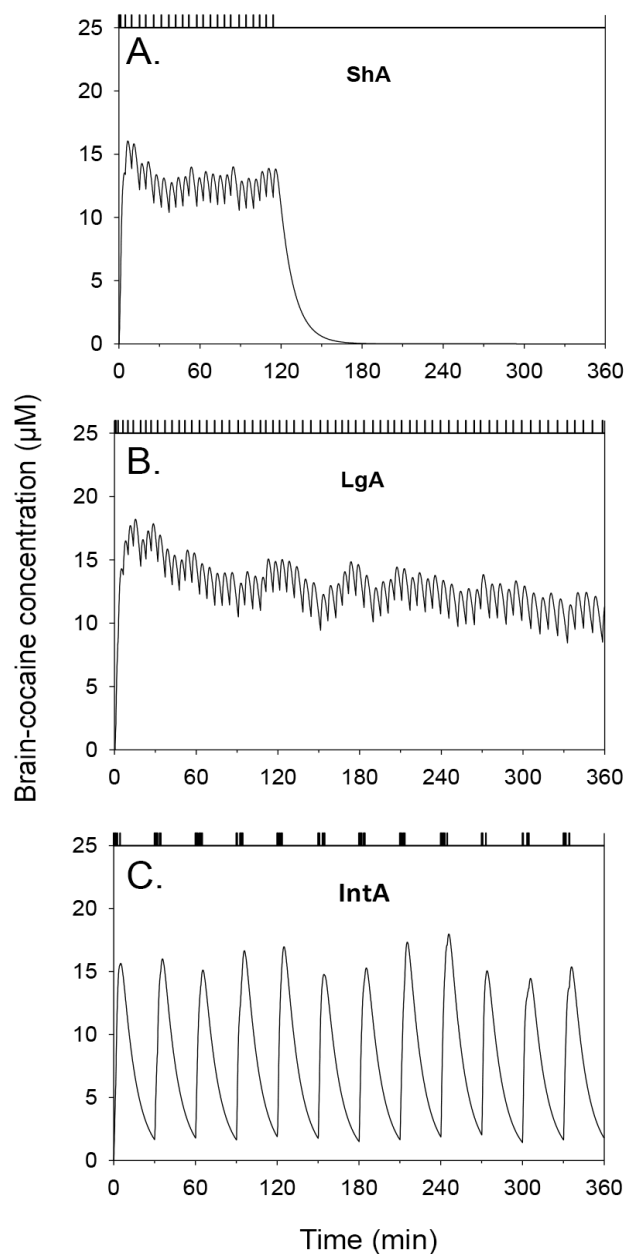


Fig. 5. The pattern of intake and modelled cocaine levels in the brain for representative animals tested during three distinct self-administration procedures. Each panel shows the modelled brain levels of cocaine corresponding to the pattern of intake indicated by the event record. Curves were generated using a model developed by Pan et al., (1991). Pan et al., (1991) used microdialysis to measure brain concentrations of cocaine injected intravenously. The relevant pharmacokinetic parameters were then estimated by fitting a two-compartment open model to the data using nonlinear regression. The equations used by the model and the parameter estimates are provided in Pan et al., (1991). ShA, 2-h, Short Access session (0.75 mg/kg/infusion, with a 20-s time out period). LgA, 6-h, Long Access session (0.75 mg/kg/infusion, with a 20-s time out period). IntA, 6-h, Intermittent Access session (12 discrete 5-min trials separated by a 25-min inter-trial-interval; 0.375 mg/kg/infusion). Note that in the intermittent access sessions, no time out was imposed, allowing animals to self-administer multiple injections within a few seconds. Adapted from Zimmer et al. (2012).

During time-limited (1-3 h), FR1 sessions, the speed of drug delivery has minor effects on drug intake acutely, but it can significantly influence change in drug use over time. Some studies show that rapid i.v. injections of cocaine or nicotine lead to greater drug intake within each time-limited session (Kato et al., 1987; Schindler et al., 2011; Schindler et al., 2009), other studies do not show this effect (Crombag et al., 2008; Minogianis et al., 2013; Sorge and Clarke, 2009; Wakabayashi et al., 2010). This suggested that the speed of drug onset might not critically influence drug intake during short, FR1 sessions. However, a more recent study suggests that this lack of effect might be restricted to the initial stages of drug self-administration (the first 3-4 sessions following acquisition of the drug self-administration task). Bouayad-Gervais et al., (2014) showed that, consistent with prior studies (Crombag et al., 2008; Minogianis et al., 2013; Wakabayashi et al., 2010), varying the speed of i.v. cocaine injection (5 or 90 s) has no effect on intake during the first 3-4 self-administration sessions. However, Bouayad-Gervais et al., (2014) bring new data to this literature by showing that beyond these initial sessions, faster i.v. cocaine injections led to greater drug intake than slower cocaine injections. Group differences emerged because the rats given access to slower cocaine injections decreased their intake over days. In contrast, the rats given access to more rapid injections maintained stable drug intake over test days. The latter finding is consistent with the great majority of studies using short daily self-administration sessions (1-3 h), where drug is delivered at speeds comparable to 5 s, and intake remains stable over time. It remains to be determined why the self-administration of sustained cocaine infusions decreases over repeated test days. As research on this issue unfolds, the findings of Bouayad-Gervais et al., (2014) support the idea that variation in the speed of drug delivery evokes neuroadaptations over time, leading to differences in drug intake with repeated drug exposure. The next section will show that the effect of pharmacokinetic variables including the speed of drug onset on drug intake over days is even more dramatic in animals given longer daily sessions (long-access sessions; LgA) – a procedure designed to promote addiction-related neuroplasticity.

3.3.2 Drug-taking behaviour during extended daily access to drug

“Escalation of drug intake” has become a major focus in the cocaine self-administration literature and this phenomenon also serves to illustrate the importance of pharmacokinetic variables in behavioural plasticity. Here we will show that the capacity for one day of cocaine intake to influence the rate of intake on the next day is facilitated by the use of large doses, intermittent drug access, and doses injected quickly. Lengthening the daily session length, a procedure termed long access (LgA), has been shown to increase the rate of within-session intake by about 40-70% over 2-3 weeks (Ahmed and Koob, 1998, 1999; Ben-Shahar et al., 2004; Knackstedt and Kalivas, 2007; Wee et al., 2008). The LgA procedure is a powerful animal model because if one wishes to model addiction in laboratory animals, one expects these animals to change their drug-taking behaviour over time. In the LgA model, escalation of drug intake is modulated by several variables. For instance, rats can show significant inter-individual variability in the propensity to escalate their cocaine intake (Deroche-Gamonet et al., 2004; Wakabayashi et al., 2010). Pharmacokinetic variables also play a role. For instance, using nicotine, it has been shown that when periods of drug self-administration are interspersed with periods of forced abstinence, this promotes an escalation in nicotine intake (Cohen et al., 2012). Furthermore, escalation might be more likely at high doses of cocaine. Dose-response curves are not widely studied in the literature on the escalation of cocaine intake. A notable exception is Mantsch et al. (2004), who showed that escalation occurs earlier at higher doses (2 versus 0.5 mg/kg/injection). This is in line with a number of studies that have failed to see escalation of cocaine intake at lower drug doses (0.25 – 0.6 mg/kg/injection) (Ferrario and Robinson, 2007; Kippin et al., 2006; Mantsch et al., 2004; Minogianis et al., 2013). Escalation is also facilitated by a rapid speed of cocaine onset. Studies showing that prolonged daily access to drug can promote the escalation of drug intake use rapid i.v. injections of drug (Ahmed and Koob, 1998, 1999; Ben-Shahar et al., 2004; Knackstedt and Kalivas, 2007; Wee et al., 2008). This prompted us and others to ask whether the speed of drug delivery plays a role in the propensity to escalate drug consumption. Work on this issue showed that when daily access to cocaine is increased from 1 to 6 h, rats given access to rapid

(5-45 s) versus slower (90 s) injections of cocaine take more drug and are also more likely to escalate their consumption over days (Bouayad-Gervais et al., 2014; Minogianis et al., 2013; Wakabayashi et al., 2010).

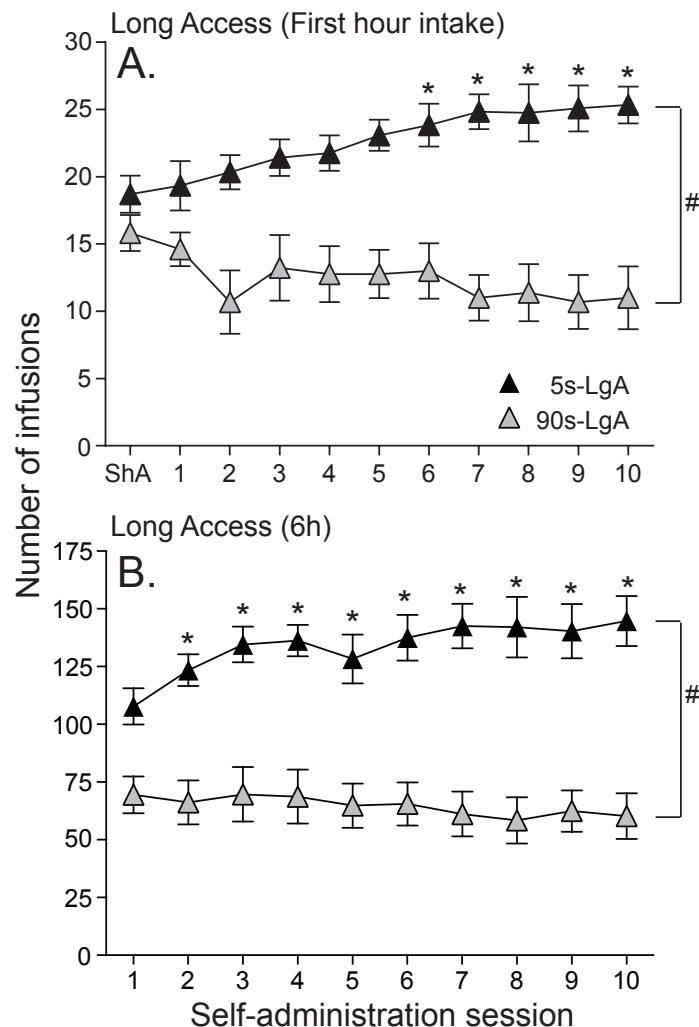


Fig. 6. In rats given extended daily access to cocaine, only those self-administering rapid cocaine injections escalate their drug intake over time. Panel A shows cocaine intake in the first hour of the 6-h session, in rats self-administering rapid intravenous cocaine injections (delivered over 5 s) and in rats self-administering slower injections (90 s). Panel B shows total cocaine intake during each 6-h session in the same animals. Rats received three short-access sessions (ShA; 1 h/session) prior to the 10 long-access sessions (LgA; 6 h/session). In (A), 'ShA' shows the average number of infusions taken over these three sessions. Data represent mean \pm SEM. $N = 12-13$ /group. s, second. # $p < 0.05$ compared to the 90-s rats. * $p < 0.05$ compared to the 1st session of LgA in 5-s rats. Adapted from Bouayad-Gervais et al. (2014).

Fig. 6 illustrates this effect. Such effects are observed in spite of the fact that in these latter studies, all rats had equal opportunity to take cocaine (one injection was available every 90 s). Thus, extended access to drug by itself is not sufficient to promote escalated drug use, and the speed of drug onset is decisive in producing this behavioural change. In summary, in

agreement with clinical observations and the literature on psychomotor sensitization, dose, the intermittency of drug use, and the speed of drug onset are key determinants of behavioural change in the LgA model of drug self-administration. This serves to highlight the role of pharmacokinetic factors in the plastic changes associated with the addiction process.

3.4 Pharmacokinetic variables influence drug-seeking (appetitive) behaviour

A key question in addiction is how specific patterns of drug taking predispose an individual to further drug use. This is a critical question to address if one wishes to understand why some drug users maintain control over their drug use, while others develop excessive and pathological patterns of drug use, and ultimately addiction. Accordingly, there is now a trend in the literature to assess how cocaine consumption affects the appetitive response – or put another way – how patterns of consumption subsequently affect an animal's motivation to seek and use drugs. In the next sections, we will review some procedures that affect appetitive responding for drug. These include the long access (LgA), discrete trials (DT), and progressive ratio training (PR) procedures. Data from these models hint at the importance of the intermittency of drug use and speed of drug onset in determining the subsequent motivation to seek and take drug. Finally, we will review findings from a new model of drug self-administration behaviour that powerfully illustrates how intermittent 'spikes' in brain levels of cocaine can be more effective than high and sustained levels in determining the subsequent motivation to seek and take the drug.

3.4.1 The long-access model

While some inconsistencies exist, there are numerous reports of drug self-administration under LgA conditions changing the susceptibility to relapse, drug seeking in spite of punishment, and, responding for drug under a PR schedule of reinforcement. For instance, compared to rats given limited daily access to cocaine, rats given LgA sessions are more vulnerable to drug-primed reinstatement of previously extinguished responding for cocaine

(Ahmed and Cador, 2006; Ahmed and Koob, 1998; Knackstedt and Kalivas, 2007; Mantsch et al., 2004). LgA rats also show greater responding for cocaine in spite of punishment (footshock) (Vanderschuren and Everitt, 2004), and also reach higher breakpoints for cocaine under progressive ratio conditions (Hao et al., 2010; Paterson and Markou, 2003; Wee et al., 2008; note however that this latter effect is not always observed, Bouayad-Gervais et al., 2014; Liu et al., 2005a; Oleson and Roberts, 2009).

While testing of pharmacokinetic variables with the LgA model has been limited, the data again support the idea that intermittent drug access, high doses and a rapid speed of drug onset are critical to the ability of extended self-administration sessions to influence appetitive responding. The data further show that there are strong parallels in the effects of pharmacokinetic variables on consummatory and appetitive behaviours. For instance, when access to cocaine is given intermittently by interspersing LgA sessions with periods of forced abstinence, this promotes the development of increased motivation for cocaine, as assessed using a progressive ratio schedule of cocaine reinforcement (Morgan and Roberts, 2004). The ability of LgA sessions to promote cocaine-primed reinstatement of drug-seeking behaviour is also facilitated by the use of high doses during the LgA phase (Mantsch et al., 2004). Finally, when the speed of i.v. drug injection is varied during LgA sessions, rats allowed to self-administer rapid cocaine injections (5 versus 90 s) subsequently show increased motivation to obtain the drug (Bouayad-Gervais et al., 2014; Minogianis et al., 2013). This effect is illustrated in **Fig. 7**. Rats with a history of taking rapid cocaine injections are also more vulnerable to drug-primed reinstatement of cocaine-seeking behaviour after a long period of forced abstinence (45 days; Wakabayashi et al., 2010). The ability of rapidly administered cocaine to increase motivation to obtain drug and the susceptibility to reinstatement is not just a consequence of the amount of drug previously consumed. Even when the rats self-administering rapid cocaine injections take the same amount as rats self-administering slower injections, the former show greater motivation for drug and a more persistent vulnerability to reinstatement (Bouayad-Gervais et al., 2014; Minogianis et al., 2013; Wakabayashi et al.,

2010). Thus, how much, how often and how fast a drug reaches the brain all determine the neuroplasticity that underlies changes in appetitive behaviours characteristic of addiction.

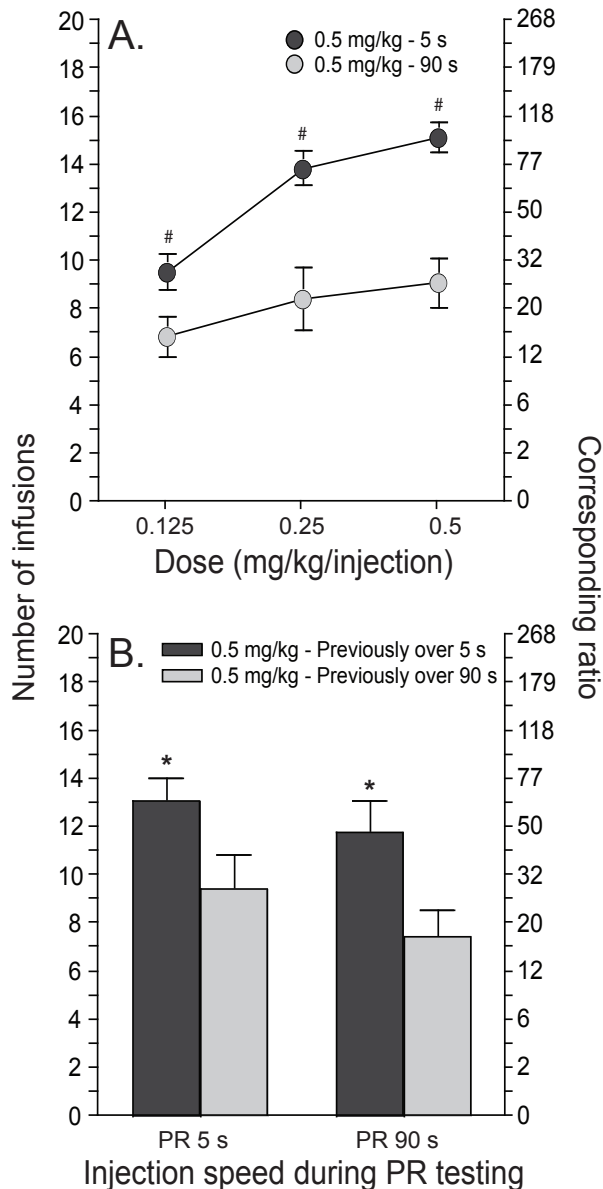


Fig. 7. The self-administration of rapid cocaine injections in the past leads to increased motivation to take the drug in the future. The figure illustrates responding for intravenous cocaine injections under a progressive ratio schedule of reinforcement in animals that have previously self-administered rapid (delivered over 5 s) or more sustained (90 s) cocaine infusions. Corresponding ratios are included. Panel A illustrates that rats in the 5-s group show an increased motivation to take cocaine, across a range of doses during progressive ratio testing. In (A), cocaine was delivered over 5 s for the 5-s group, and over 90 s for the 90-s group. Panel B shows that rats in the 5-s group also show an increased motivation to take cocaine regardless of drug injection speed during progressive ratio testing. Data represent mean \pm SEM. $N = 11-16/\text{group}$. s, second. PR 5 s, cocaine was delivered over 5 s during progressive ratio testing. PR 90 s, cocaine was delivered over 90 s during progressive ratio testing. # $p < 0.0001$ and * $p < 0.05$ compared to the 90-s rats. Adapted from Minogianis et al. (2013).

What accounts for the ability of LgA self-administration sessions to influence subsequent appetitive responding for drug? The early literature suggested that increased appetitive responding for drug results from elevated amounts of drug consumed (i.e., area under the curve). Some suggest the existence of "...a threshold level that can readily establish and sustain addiction" (Benowitz and Henningfield, 1994), and that "...below this critical level of

exposure, there would be no drug-induced neuropathological changes, and drug use would remain under control, at least in the majority of drug-exposed animals” (Ahmed, 2012). Said differently, to induce addiction, “more is better” and sustained levels are important. This is a reasonable assumption given that compared to ShA sessions, LgA sessions are much more effective in promoting future appetitive responding for drug, and an obvious difference between the two procedures is the level of prior drug exposure (modelled in **Fig. 5**). If this is correct, then elevated brain levels in the past should be sufficient to enhance the motivation to obtain drug in the future. Another possibility is that the *number* of injections is important. That is, that the frequency at which brain levels of drug rise and fall might influence future patterns of drug use. The fact that dose and speed of injection are critical factors suggests that the size and speed of the “spike” in cocaine levels may be important. However, it is difficult to test the relative contributions of area under the curve versus spiking brain levels in conventional LgA/ShA models. The length of the session and the number of injections will always be confounded. Whether ‘spikes’ are necessary and/or sufficient to drive the important behavioural and neurochemical changes associated with the addiction process needs to be tested using different experimental procedures. As will be detailed further below, recent work tests this directly.

3.4.2 The discrete trials model

Discrete trials procedures (DT) were a first attempt in determining whether an increase in the motivation to obtain drug could be seen in animals with a history of intermittent rather than continuous drug access during each self-administration session. The DT procedure allows animals to self-administer 24h a day, but manipulates hourly drug intake. Animals have the opportunity to self-administer one injection and must then wait until the next trial within the hour for another opportunity. For example, DT4 involves giving 4 opportunities to take a single drug injection per hour. Under this schedule, rats tend to take an injection during every trial for the first 24h and then settle into a regular daily pattern of intake, with drug taking restricted to the dark phase of the activity cycle (Roberts et al., 2002). Interestingly, self-administration on

a DT4 protocol for 10 days increases breakpoints under a PR schedule of reinforcement, and this increase depends on an abstinence period. If animals are tested immediately after 10 days of DT4 there are no changes in breakpoints (Morgan et al., 2002; Morgan et al., 2005). But if a seven-day abstinence period is introduced, then sensitization of breakpoints is observed (Morgan and Roberts, 2004). The DT procedure thus illustrates that high and sustained brain levels of drug (as achieved with a conventional LgA session) are not a necessary condition to enhance the subsequent motivation for drug. The DT4 model also demonstrates that intermittent drug exposure followed by an abstinence period facilitates the development of sensitization to the motivational effects of cocaine. This concurs with the literature on psychomotor sensitization, where intermittent drug exposure and a withdrawal period can be decisive (Downs and Eddy, 1932; Post, 1980; Post and Rose, 1976; Reith et al., 1987; Robinson and Becker, 1986; Stewart and Badiani, 1993). The DT model does have its limits. It can be argued that the parameters are arbitrary and restrictive, and that the daily pattern does not resemble the way human addicts take cocaine. Still, it is an important demonstration that an intermittent pattern of cocaine intake evokes sensitization of appetitive responding for cocaine.

3.4.3 Daily testing under a progressive ratio schedule of cocaine reinforcement

Daily testing on a PR schedule of drug reinforcement is another procedure illustrating that sustained brain levels of drug are not a necessary condition to augment subsequent appetitive responding for drug. With daily testing, breakpoints maintained by cocaine escalate to very high levels over time (Liu et al., 2005b). Intriguingly, very low levels of prior cocaine intake result in rapid sensitization of breakpoints, whereas high levels of prior intake suppress the development of this sensitization (Morgan et al., 2006). Daily testing under a PR schedule of drug reinforcement was not intended as a model of human drug taking. However, the observation that breakpoints escalate over time – with about the same drug exposure as ShA – suggests that something interesting is going on. One possibility is that the schedule imposes a constraint on intake. It takes time to complete the high response ratios and brain levels of

drug fall in between each injection. As such, the PR schedule would promote greater 'spiking' from lower brain levels of drug than the LgA procedure. Are these 'spikes' in brain drug levels important? Indeed they are. The susceptibility to escalate breakpoints for cocaine is determined by dose and the speed of drug onset (Liu et al., 2005b). When rats were given access to cocaine injections delivered i.v. over 5, 25 or 50 s, only rats taking 5-s injections showed an escalation in breakpoints. Similarly, only larger unit injection doses produced escalation of breakpoints (Liu et al., 2005b). These findings suggest that a rapid rise from low to high brain levels of drug is an important determinant of the future motivation to seek and take cocaine.

3.4.4 A new model: Intermittent access to drug during a long-access session

The protocols reviewed above suggest that rapidly rising and intermittent spikes in brain levels of cocaine might be decisive in predicting subsequent appetitive responding for drug, but this awaited formal investigation. Recently, one of the authors of the present review (D.C.S.R.) set about testing whether fast, "spiking" levels might drive the change in appetitive responding. To this end, a new model of cocaine self-administration was developed involving intermittent, within-session access to drug (Zimmer et al., 2012). The recent survey data in experienced cocaine users that we described above provided additional impetus to develop this model. These survey data suggested that experienced cocaine users likely do not maintain high brain levels of the drug, but might instead voluntarily achieve marked reductions in brain levels, which then rapidly rise with each drug self-administration (Beveridge et al., 2012). The intermittent access (IntA) procedure models this by limiting cocaine availability during a 6-h session to twelve 5-min discrete trials separated with 25-min timeout periods. Brain cocaine levels cannot be maintained; instead the animals experience twelve rapidly rising spikes in cocaine levels during each session. Thus the IntA protocol tests the effect of a history of cocaine 'spikes' on the motivation to self-administer the drug later on, and it also allows for a direct test of the importance of 'spiking' versus sustained cocaine levels (Zimmer et al., 2012). To this end, IntA rats were compared to LgA rats. Predictably, the LgA group took much more

cocaine than the IntA group. In addition, pharmacokinetic modelling suggested that LgA sessions would produce continuously high brain cocaine levels while IntA sessions would produce repeated, fast-rising spikes in brain cocaine levels (modelled in **Fig. 5**). Remarkably, in spite of being exposed to significantly less cocaine, the IntA rats were more motivated to self-administer the drug in the future (Zimmer et al., 2012). This is consistent with other findings showing that even extremely high levels of cocaine intake are not sufficient on their own to increase the subsequent motivation to take the drug (Roberts et al., 2002). Such findings are a challenge to the belief that simply maintaining high levels of drug intake is sufficient to develop an addicted phenotype. Instead, it appears that when it comes to producing an increase in the motivation to obtain drug, 'how often' drug is taken can be more important than 'how much'. In support of this idea, recent work in rats shows that the early occurrence of a burst-like pattern of cocaine intake is a behavioural marker of vulnerability to compulsive drug use (Belin et al., 2009). Amongst a group of rats allowed to self-administer cocaine, the subset that spontaneously and rapidly developed a high-frequency pattern of intake (spontaneous intake of >5 infusions in less than 5 min) was particularly vulnerable to develop addiction-like symptoms. These symptoms included increased motivation to obtain drug, persistence of drug-seeking behaviour in spite of signalled unavailability of cocaine and self-administration in spite of physical punishment. Importantly, the rats that developed a burst-like pattern of cocaine use did not differ from the other rats with respect to cumulative cocaine intake. Similarly, by dividing rats into two groups based on their spontaneous, self-imposed interval between cocaine infusions, Martin-Garcia et al. (2014) found that rats showing high-frequency cocaine self-administration are more vulnerable to cocaine-primed reinstatement of drug-seeking behaviour relative to rats with low-frequency cocaine intake – in spite of equivalent levels of prior drug intake. Together, these findings suggest that an intermittent pattern of use, more than the amount of drug used, governs the susceptibility to increased drug use.

A key question is how the IntA procedure maps onto what we know about human cocaine intake. As discussed, new work suggests that experienced cocaine users take cocaine in a

pattern different than previously thought, achieving intermittent and rapidly rising brain levels of the drug, rather than maintaining high and sustained levels (Beveridge et al., 2012). Even in between bouts of drug self-administration, human addicts likely do not have relatively continuous access to drug, several hours a day, for weeks/months on end (as modelled by the LgA procedure). Due to the interaction of several factors, some willed by the user, others not (jail time, lack of money, etc) drug intake, particularly cocaine intake, is intermittent, both within and between bouts of intoxication. Given this, understanding what happens to the brain when cocaine intake is intermittent is important. By modelling this in laboratory animals, the IntA procedure clearly shows that in producing change in the motivation to take drug over time, sustained brain levels of drug are not necessary, and spiking levels look to be the prime determinant. This is consistent with clinical observations, and also corroborated by evidence from studies using the more traditional LgA, DT and daily PR testing procedures, where a rapid speed of drug onset and high doses are critical for the development of behavioural change.

3.5 Pharmacokinetics determine the neuroplasticity evoked by drugs

Pharmacokinetic variables determine the impact drugs have on the brain. Everything that we have described for behaviour above has important parallels with neurochemical and neurobiological findings. A first series of studies showed that the speed of drug onset determines drug-induced effects on gene regulation. Rats with a history of taking rapid cocaine injections during LgA sessions show desensitization of cocaine-evoked Fos expression in the nucleus accumbens, while rats exposed to slower injections do not (Wakabayashi et al., 2010). This is reminiscent of findings using experimenter-administered nicotine, showing that rats that were previously treated with rapid i.v. injections of the drug (5 versus 90 s) show greater desensitization of nicotine-evoked *c-fos* and *arc* mRNA expression in the nucleus accumbens shell and caudate-putamen (Samaha et al., 2005). The functional significance of these changes is unknown. However, an interesting hypothesis is that the time-course of drug-induced plasticity in gene regulation might vary as a function of the speed of drug onset (Samaha et al., 2005). Variation in the speed of i.v. cocaine delivery also alters the brain

expression of the neurotrophin, brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and of its receptor, tropomyosin receptor kinase B (TrkB) (Bouayad-Gervais et al., 2014). Chronic exposure to cocaine and other psychostimulant drugs regulates brain BDNF mRNA and protein levels (Asan, 1997; Fumagalli et al., 2007; Grimm et al., 2003; Im et al., 2010), and BDNF-mediated signalling specifically in midbrain and corticostriatal regions mediates drug-seeking and drug-taking behaviours (Graham et al., 2007; Graham et al., 2009; Im et al., 2010; Unterwald et al., 2001). In rats given LgA session, only those taking rapid cocaine injections (5 versus 90 s) show altered BDNF and TrkB mRNA levels in corticostriatal structures (caudate-putamen, orbitofrontal, frontal and parietal cortices, but not the nucleus accumbens or medial prefrontal cortex) (Bouayad-Gervais et al., 2014). At present, it remains unknown how the mRNA changes might translate to protein changes and whether increased regulation of BDNF and TrkB in corticostriatal nuclei plays a causal role in the behavioural effects of rapid cocaine delivery. Dopamine D2 receptor changes have also been reported in rats with a history of self-administering rapid versus more sustained cocaine injections during LgA sessions. Following 2 weeks of withdrawal from cocaine, rats with a history of taking slow cocaine injections have decreased D2 receptor levels in the caudate-putamen, and D2 receptors with greater agonist affinity (Minogianis et al., 2013). As with the BDNF-TrkB mRNA findings, additional work is needed to determine how the observed D2 receptor changes might contribute to the behavioural effects of the speed of cocaine delivery. Future studies can determine whether the D2-receptor related changes modify striatal signalling in ways that protect from excessive motivation to take cocaine (Minogianis et al., 2013).

How often drug levels rise and fall within a bout of drug self-administration is also a prime determinant of drug effects on the brain. The intake of cocaine at short (2 min) rather than longer (6 min) intervals within each self-administration session preferentially increases c-Fos protein levels in the prelimbic and infralimbic cortices, the nucleus accumbens shell and core and the basolateral nucleus of the amygdala (Martin-Garcia et al., 2014). Optogenetic manipulations also show that neuronal activity within the prelimbic cortex regulates cocaine-

seeking and -taking behaviours only in animals allowed to self-administer cocaine at short inter-infusion intervals (Martin-Garcia et al., 2014). This suggests that cocaine intake at short inter-infusion intervals promotes the ability of the prelimbic cortex to control drug use. Finally, Calipari et al. (2013, 2014) have assessed the influence of intermittent spikes in brain cocaine levels on the dopamine transporter (DAT). They compared LgA rats to IntA rats. IntA rats developed sensitization to the ability of cocaine, methylphenidate and methamphetamine to inhibit the DAT within the nucleus accumbens, while LgA rats developed tolerance to cocaine's effects at the transporter (Calipari et al., 2013, 2014). This is in agreement with studies using experimenter-administered drug and showing that intermittent access promotes sensitization of cocaine's effects on dopamine reuptake, while continuous access promotes tolerance (Izenwasser and Cox, 1990, 1992). The findings of Calipari et al. (2013, 2014) also concord with recent work showing that LgA rats show decreased phasic dopamine levels in the nucleus accumbens core (Willuhn et al., 2014).

4. Why is it useful to study the temporal dynamics of drug delivery as an active principle in addiction?

In attempting to reduce the enormous impact of drug addiction on health and society, the first step is to understand the factors that can modulate the development of the disorder. As the literature reviewed above demonstrates, in determining the effects of drugs on brain and behaviour, the dynamics of drug delivery are not just secondary to achieved dose or to the crossing of certain threshold levels of drug exposure. Instead, they determine brain and behaviour changes that are relevant to the addiction process. A growing literature suggests that, in keeping with clinical observations, animals that take drugs like cocaine in a pattern that produces rapidly rising and intermittent 'spikes' in brain levels of drug more readily develop an addiction phenotype. Thus, evidence is emerging to help us better understand what routes and patterns of drug administration are the most addictive. This information has tremendous implications. First, it can be used to identify vulnerable drug users most susceptible to progress towards addiction, allowing early intervention strategies to be implemented. Second, this work

has implications for new treatment avenues. Pharmacokinetic principles are already exploited to treat addiction to some drugs (nicotine patch/gum versus smoking a cigarette; methadone versus heroin). Pharmacokinetic principles might also be used in the development of agents to treat addiction to drugs like cocaine. If spiking brain levels of drug do indeed contribute to addiction, pharmacological ways of flattening these spikes can be envisioned. Finally, upstream of this, data from the basic science literature can be used to educate the public and influence choices not only about whether to take drugs, but how. Scientists have long known that pharmacokinetics matter, the layperson might not. The public would benefit from education about the consequences of using certain routes, patterns of drug use and drug formulations.

5. Where do we go from here?

Great strides have been made in understanding the importance of pharmacokinetic factors in drug addiction, but important data are still missing. It is known that pharmacokinetics influence the behavioural response to drugs and some neurobiological correlates have been reported. However, the neurobiological findings remain largely correlational. There is little evidence on how specific brain changes might play a causal role in the ability of the speed of drug onset or the intermittency of drug use to influence behaviour. In parallel, we know little about what brain levels of drug look like when experienced drug users are given control over drug pharmacokinetics (e.g., dose, intermittency of dosing, speed of drug onset). Such information would be critical for the design of both representative brain imaging studies in humans and drug self-administration experiments in laboratory animals.

6. Concluding remarks

If we as drug addiction researchers ignore pharmacokinetics, we do so at our peril. There is strong evidence that chronic exposure to intermittent and rapidly rising brain levels of drug (cocaine in particular) promote an escalation in consummatory and appetitive responding for drug. This has notable parallels with extensive literature on psychomotor sensitization, where

there is agreement that intermittency of drug exposure and abstinence periods are key (Post, 1980; Robinson and Becker, 1986). The ability of rapidly rising brain levels of drug to facilitate excessive patterns of drug use is associated with changes in gene regulation, dopamine neurochemistry and cell function that are thought to be important in the addiction process. In several instances, such rapidly spiking brain levels of drug were directly compared with high and sustained brain levels (e.g., IntA versus LgA). This work reveals that the two pharmacokinetic profiles produce different outcomes and that out of the two, drug 'spikes' appears to push the addiction process forward more effectively. This has profound implications for better understanding the neuroadaptations that are critical for addiction. There is a great amount of data on the ability of LgA procedures to promote changes in brain and behaviour. This model is currently dominating the literature on drug self-administration in animals (even in our own past work, Bouayad-Gervais et al., 2014; Minogianis et al., 2013), and it has shed important new light on how extensive exposure to sustained and high levels of drug change brain and behaviour. LgA is widely used because many would say that it has face validity since it produces escalation from more modest drug intake to binge use. However, as argued above, it is unlikely that human cocaine addicts have relatively free access to cocaine several hours a day, for days on end, enabling them to maintain high and sustained brain levels of drug. Rather, they might voluntarily achieve intermittently rising brain levels of drug during a bout of intoxication (Beveridge et al., 2012), and also use intermittently over time (Cohen and Sas, 1994; O'Brien, 2001). Moreover, work in animals shows that continuously high versus intermittently high brain levels of cocaine can produce opposite effects on DA system function for example (Calipari et al., 2013, 2014). This deserves research attention, as we want to be sure which model more closely captures the way humans take drugs. The temporal pattern of drug use is of tremendous importance in addiction, particularly cocaine addiction, and this should be reflected in the animal models we use to study addiction in the laboratory.

RÉFÉRENCES ANNEXE

- Ahmed S. H. (2012) The science of making drug-addicted animals. *Neuroscience* 211: 107-125.
- Ahmed S. H., Cador M. (2006) Dissociation of psychomotor sensitization from compulsive cocaine consumption. *Neuropsychopharmacology* 31: 563-571.
- Ahmed S. H., Kenny P. J., Koob G. F., Markou A. (2002) Neurobiological evidence for hedonic allostasis associated with escalating cocaine use. *Nature Neuroscience* 5: 625-626.
- Ahmed S. H., Koob G. F. (1998) Transition from moderate to excessive drug intake: change in hedonic set point. *Science* 282: 298-300.
- Ahmed S. H., Koob G. F. (1999) Long-lasting increase in the set point for cocaine self-administration after escalation in rats. *Psychopharmacology* 146: 303-312.
- Ahmed S. H., Koob G. F. (2005) Transition to drug addiction: a negative reinforcement model based on an allostatic decrease in reward function. *Psychopharmacology (Berl)* 180: 473-490.
- Asan E. (1997) Ultrastructural features of tyrosine-hydroxylase-immunoreactive afferents and their targets in the rat amygdala. *Cell and tissue research* 288: 449-469.
- Baker L. K., Mao D., Chi H., Govind A. P., Vallejo Y. F., Iacoviello M., Herrera S., Cortright J. J., Green W. N., McGehee D. S., Vezina P. (2013) Intermittent nicotine exposure upregulates nAChRs in VTA dopamine neurons and sensitises locomotor responding to the drug. *European Journal of Neuroscience* 37: 1004-1011.
- Barrio G., De La Fuente L., Lew C., Royuela L., Bravo M. J., Torrens M. (2001) Differences in severity of heroin dependence by route of administration: the importance of length of heroin use. *Drug and Alcohol Dependence* 63: 169-177.
- Bass C. E., Jansen H. T., Roberts D. C. (2010) Free-running rhythms of cocaine self-administration in rats held under constant lighting conditions. *Chronobiology International* 27: 535-548.
- Belin D., Balado E., Piazza P. V., Deroche-Gamonet V. (2009) Pattern of intake and drug craving predict the development of cocaine addiction-like behavior in rats. *Biological Psychiatry* 65: 863-868.
- Ben-Shahar O., Ahmed S. H., Koob G. F., Ettenberg A. (2004) The transition from controlled to compulsive drug use is associated with a loss of sensitization. *Brain Research* 995: 46-54.

- Benowitz N. L., Henningfield J. E. (1994) Establishing a nicotine threshold for addiction. The implications for tobacco regulation. *New England Journal of Medicine* 331: 123-125.
- Berlin I., Anthenelli R. M. (2001) Monoamine oxidases and tobacco smoking. *Int J Neuropsychopharmacology* 4: 33-42.
- Beveridge T. J. R., Wray P., Brewer A., Shapiro B., Mahoney J. J., Newton T. F., Haile C. N., De La Garza II R. (2012) Analyzing human cocaine use patterns to inform animal addiction model development College on Problems of Drug Dependence, Palm Springs, CA
- Bouayad-Gervais K., Minogianis E. A., Levesque D., Samaha A. N. (2014) The self-administration of rapidly delivered cocaine promotes increased motivation to take the drug: contributions of prior levels of operant responding and cocaine intake. *Psychopharmacology* 231: 4241-4252.
- Brady K. T., Lydiard R. B., Malcolm R., Ballenger J. C. (1991) Cocaine-induced psychosis. *Journal of Clinical Psychiatry* 52: 509-512.
- Brebner K., Phelan R., Roberts D. C. (2000) Effect of baclofen on cocaine self-administration in rats reinforced under fixed-ratio 1 and progressive-ratio schedules. *Psychopharmacology (Berl)* 148: 314-321.
- Brown P. L., Kiyatkin E. A. (2005) Brain temperature change and movement activation induced by intravenous cocaine delivered at various injection speeds in rats. *Psychopharmacology* 181: 299-308.
- Budney A. J., Higgins S. T., Bickel W., Kent L. (1993) Relationship between intravenous use and achieving initial cocaine abstinence. *Drug and Alcohol Dependence* 32: 133-142.
- Calipari E. S., Ferris M. J., Siciliano C. A., Zimmer B. A., Jones S. R. (2014) Intermittent cocaine self-administration produces sensitization of stimulant effects at the dopamine transporter. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 349: 192-198.
- Calipari E. S., Ferris M. J., Zimmer B. A., Roberts D. C., Jones S. R. (2013) Temporal pattern of cocaine intake determines tolerance vs sensitization of cocaine effects at the dopamine transporter. *Neuropsychopharmacology* 38: 2385-2392.
- Carey R., Gui J. (1998) Cocaine sensitization can accelerate the onset of peak cocaine behavioral effects. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 60: 395-405.

- Carpenter M. J., Chutuape M. A., Stitzer M. L. (1998) Heroin snorters versus injectors: comparison on drug use and treatment outcome in age-matched samples. *Drug and Alcohol Dependence* 53: 11-15.
- Cohen A., Koob G. F., George O. (2012) Robust escalation of nicotine intake with extended access to nicotine self-administration and intermittent periods of abstinence. *Neuropsychopharmacology* 37: 2153-2160.
- Cohen P., Sas A. (1994) Cocaine use in amsterdam in non deviant subcultures. *Addiction Research* 2: 71-94.
- Cone E. J. (1995) Pharmacokinetics and pharmacodynamics of cocaine. *Journal of Analytical Toxicology* 19: 459-478.
- Cone E. J. (1998) Recent discoveries in pharmacokinetics of drugs of abuse. *Toxicology Letters* 102-103: 97-101.
- Connor D. F., Steingard R. J. (2004) New formulations of stimulants for attention-deficit hyperactivity disorder: therapeutic potential. *CNS Drugs* 18: 1011-1030.
- Crombag H. S., Ferrario C. R., Robinson T. E. (2008) The rate of intravenous cocaine or amphetamine delivery does not influence drug-taking and drug-seeking behavior in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 90: 797-804.
- Deroche-Gamonet V., Belin D., Piazza P. V. (2004) Evidence for addiction-like behavior in the rat. *Science* 305: 1014-1017.
- Di Chiara G. (2000) Behavioural pharmacology and neurobiology of nicotine reward and dependence. In: *Clementi F, Fornasari D, Gotti C (eds) Handbook of Experimental Pharmacology. Springer, Heidelberg.*
- Downs A. W., Eddy N. B. (1932) The effect of repeated doses of cocaine on the rat. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 46: 199-200.
- Eikelboom R., Stewart J. (1982) Conditioning of drug-induced physiological responses. *Psychological Reviews* 89: 507-528.
- Espana R. A., Oleson E. B., Locke J. L., Brookshire B. R., Roberts D. C., Jones S. R. (2010) The hypocretin-orexin system regulates cocaine self-administration via actions on the mesolimbic dopamine system. *European Journal of Neuroscience* 31: 336-348.
- Evans S. M., Cone E. J., Henningfield J. E. (1996) Arterial and venous cocaine plasma concentrations in humans: relationship to route of administration, cardiovascular

- effects and subjective effects. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 279: 1345-1356.
- Ferrario C. R., Gorny G., Crombag H. S., Li Y., Kolb B., Robinson T. E. (2005) Neural and behavioral plasticity associated with the transition from controlled to escalated cocaine use. *Biological Psychiatry* 58: 751-759.
- Ferrario C. R., Robinson T. E. (2007) Amphetamine pretreatment accelerates the subsequent escalation of cocaine self-administration behavior. *European Neuropsychopharmacology* 17: 352-357.
- Ferrario C. R., Shou M., Samaha A. N., Watson C. J., Kennedy R. T., Robinson T. E. (2008) The rate of intravenous cocaine administration alters c-fos mRNA expression and the temporal dynamics of dopamine, but not glutamate, overflow in the striatum. *Brain Research* 1209: 151-156.
- Ferri C. P., Gossop M. (1999) Route of cocaine administration: patterns of use and problems among a Brazilian sample. *Addictive Behaviors* 24: 815-821.
- Fitch T. E., Roberts D. C. (1993) The effects of dose and access restrictions on the periodicity of cocaine self-administration in the rat. *Drug and Alcohol Dependence* 33: 119-128.
- Fumagalli F., Di Pasquale L., Caffino L., Racagni G., Riva M. A. (2007) Repeated exposure to cocaine differently modulates BDNF mRNA and protein levels in rat striatum and prefrontal cortex. *European Journal of Neuroscience* 26: 2756-2763.
- Gawin F. H. (1991) Cocaine addiction: psychology and neurophysiology. *Science* 251: 1580-1586.
- Gawin F. H., Kleber H. D. (1986) Abstinence symptomatology and psychiatric diagnosis in cocaine abusers. Clinical observations. *Archives of General Psychiatry* 43: 107-113.
- Gossop M., Griffiths P., Powis B., Strang J. (1992) Severity of dependence and route of administration of heroin, cocaine and amphetamines. *British Journal of Addiction* 87: 1527-1536.
- Gossop M., Griffiths P., Powis B., Strang J. (1994) Cocaine: patterns of use, route of administration, and severity of dependence. *British Journal of Psychiatry* 164: 660-664.
- Graham D. L., Edwards S., Bachtell R. K., DiLeone R. J., Rios M., Self D. W. (2007) Dynamic BDNF activity in nucleus accumbens with cocaine use increases self-administration and relapse. *Nature Neuroscience* 10: 1029-1037.

- Graham D. L., Krishnan V., Larson E. B., Graham A., Edwards S., Bachtell R. K., Simmons D., Gent L. M., Berton O., Bolanos C. A., DiLeone R. J., Parada L. F., Nestler E. J., Self D. W. (2009) Tropomyosin-related kinase B in the mesolimbic dopamine system: region-specific effects on cocaine reward. *Biological Psychiatry* 65: 696-701.
- Grimm J. W., Lu L., Hayashi T., Hope B. T., Su T. P., Shaham Y. (2003) Time-dependent increases in brain-derived neurotrophic factor protein levels within the mesolimbic dopamine system after withdrawal from cocaine: implications for incubation of cocaine craving. *Journal of Neuroscience* 23: 742-747.
- Hao Y., Martin-Fardon R., Weiss F. (2010) Behavioral and functional evidence of metabotropic glutamate receptor 2/3 and metabotropic glutamate receptor 5 dysregulation in cocaine-escalated rats: factor in the transition to dependence. *Biological Psychiatry* 68: 240-248.
- Hatsukami D. K., Fischman M. W. (1996) Crack cocaine and cocaine hydrochloride. Are the differences myth or reality? *JAMA* 276: 1580-1588.
- Hodos W. (1961) Progressive ratio as a measure of reward strength. *Science* 134: 943-944.
- Hollander J. A., Carelli R. M. (2005) Abstinence from cocaine self-administration heightens neural encoding of goal-directed behaviors in the accumbens. *Neuropsychopharmacology* 30: 1464-1474.
- Hooks M. S., Duffy P., Striplin C., Kalivas P. W. (1994) Behavioral and neurochemical sensitization following cocaine self-administration. *Psychopharmacology* 115: 265-272.
- Horger B. A., Shelton K., Schenk S. (1990) Preexposure sensitizes rats to the rewarding effects of cocaine. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 37: 707-711.
- Hughes J. R. (1989) Dependence potential and abuse liability of nicotine replacement therapies. *Biomedicine and Pharmacotherapy* 43: 11-17.
- Im H. I., Hollander J. A., Bali P., Kenny P. J. (2010) MeCP2 controls BDNF expression and cocaine intake through homeostatic interactions with microRNA-212. *Nature Neuroscience* 13: 1120-1127.
- Izenwasser S., Cox B. M. (1990) Daily cocaine treatment produces a persistent reduction of [3H]dopamine uptake in vitro in rat nucleus accumbens but not in striatum. *Brain Research* 531: 338-341.
- Izenwasser S., Cox B. M. (1992) Inhibition of dopamine uptake by cocaine and nicotine: tolerance to chronic treatments. *Brain Research* 573: 119-125.

- Jaffe J. H., Cascella N. G., Kumor K. M., Sherer M. A. (1989) Cocaine-induced cocaine craving. *Psychopharmacology (Berl)* 97: 59-64.
- Javaid J. I., Fischman M. W., Schuster C. R., Dekirmenjian H., Davis J. M. (1978) Cocaine plasma concentration: relation to physiological and subjective effects in humans. *Science* 202: 227-228.
- Javaid J. I., Musa M. N., Fischman M., Schuster C. R., Davis J. M. (1983) Kinetics of cocaine in humans after intravenous and intranasal administration. *Biopharmaceutics and Drug Disposition* 4: 9-18.
- Jeffcoat A. R., Perez-Reyes M., Hill J. M., Sadler B. M., Cook C. E. (1989) Cocaine disposition in humans after intravenous injection, nasal insufflation (snorting), or smoking. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals* 17: 153-159.
- Jones R. T. (1990) The pharmacology of cocaine smoking in humans. *NIDA Research Monograph* 99: 30-41.
- Jones S. R., Lee T. H., Wightman R. M., Ellinwood E. H. (1996) Effects of intermittent and continuous cocaine administration on dopamine release and uptake regulation in the striatum: in vitro voltammetric assessment. *Psychopharmacology (Berl)* 126: 331-338.
- Jonkman S., Pelloux Y., Everitt B. J. (2012) Drug intake is sufficient, but conditioning is not necessary for the emergence of compulsive cocaine seeking after extended self-administration. *Neuropsychopharmacology* 37: 1612-1619.
- Kato S., Wakasa Y., Yanagita T. (1987) Relationship between minimum reinforcing doses and injection speed in cocaine and pentobarbital self-administration in crab-eating monkeys. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 28: 407-410.
- Kippin T. E., Fuchs R. A., See R. E. (2006) Contributions of prolonged contingent and noncontingent cocaine exposure to enhanced reinstatement of cocaine seeking in rats. *Psychopharmacology* 187: 60-67.
- Knackstedt L. A., Kalivas P. W. (2007) Extended access to cocaine self-administration enhances drug-primed reinstatement but not behavioral sensitization. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 322: 1103-1109.
- Kuczenski R., Segal D. S. (1988) Psychomotor stimulant-induced sensitization: behavioral and neurochemical correlates. In: *Kalivas PW, Barnes CD (eds) Sensitization in the Nervous System. Telford Press, Caldwell, NJ*, pp 175-205.
- Lett B. T. (1989) Repeated exposures intensify rather than diminish the rewarding effects of amphetamine, morphine, and cocaine. *Psychopharmacology (Berlin)* 98: 357-362.

- Liu Y., Roberts D. C., Morgan D. (2005a) Effects of extended-access self-administration and deprivation on breakpoints maintained by cocaine in rats. *Psychopharmacology* 179: 644-651.
- Liu Y., Roberts D. C., Morgan D. (2005b) Sensitization of the reinforcing effects of self-administered cocaine in rats: effects of dose and intravenous injection speed. *European Journal of Neuroscience* 22: 195-200.
- Loh E. A., Roberts D. C. (1990) Break-points on a progressive ratio schedule reinforced by intravenous cocaine increase following depletion of forebrain serotonin. *Psychopharmacology (Berl)* 101: 262-266.
- Lorrain D. S., Arnold G. M., Vezina P. (2000) Previous exposure to amphetamine increases incentive to obtain the drug: long-lasting effects revealed by the progressive ratio schedule. *Behavioural Brain Research* 107: 9-19.
- Mantsch J. R., Yuferov V., Mathieu-Kia A. M., Ho A., Kreek M. J. (2004) Effects of extended access to high versus low cocaine doses on self-administration, cocaine-induced reinstatement and brain mRNA levels in rats. *Psychopharmacology* 175: 26-36.
- Martin-Garcia E., Courtin J., Renault P., Fiancette J. F., Wurtz H., Simonnet A., Levet F., Herry C., Deroche-Gamonet V. (2014) Frequency of cocaine self-administration influences drug seeking in the rat: optogenetic evidence for a role of the prelimbic cortex. *Neuropsychopharmacology* 39: 2317-2330.
- Mendrek A., Blaha C. D., Phillips A. G. (1998) Pre-exposure of rats to amphetamine sensitizes self-administration of this drug under a progressive ratio schedule. *Psychopharmacology* 135: 416-422.
- Minogianis E. A., Levesque D., Samaha A. N. (2013) The speed of cocaine delivery determines the subsequent motivation to self-administer the drug. *Neuropsychopharmacology* 38: 2644-2656.
- Morgan D., Brebner K., Lynch W. J., Roberts D. C. (2002) Increases in the reinforcing efficacy of cocaine after particular histories of reinforcement. *Behavioural Pharmacology* 13: 389-396.
- Morgan D., Liu Y., Roberts D. C. (2006) Rapid and persistent sensitization to the reinforcing effects of cocaine. *Neuropsychopharmacology* 31: 121-128.
- Morgan D., Roberts D. C. (2004) Sensitization to the reinforcing effects of cocaine following binge-abstinent self-administration. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 27: 803-812.

- Morgan D., Smith M. A., Roberts D. C. (2005) Binge self-administration and deprivation produces sensitization to the reinforcing effects of cocaine in rats. *Psychopharmacology* 178: 309-316.
- Negus S. S., Henningfield J. (2015) Agonist medications for the treatment of cocaine use disorder. *Neuropsychopharmacology* 40: 1815-1825.
- Neugebauer N. M., Cortright J. J., Sampedro G. R., Vezina P. (2014) Exposure to nicotine enhances its subsequent self-administration: contribution of nicotine-associated contextual stimuli. *Behavioural Brain Research* 260: 155-161.
- Nicola S. M., Deadwyler S. A. (2000) Firing rate of nucleus accumbens neurons is dopamine-dependent and reflects the timing of cocaine-seeking behavior in rats on a progressive ratio schedule of reinforcement. *Journal of Neuroscience* 20: 5526-5537.
- Nomikos G. G., Spyraiki C. (1988) Cocaine-induced place conditioning: importance of route of administration and other procedural variables. *Psychopharmacology (Berl)* 94: 119-125.
- O'Brien C. (2001) Drug addiction and drug dependence Goodman and Gilman's: the pharmacological basis of therapeutics. McGraw-Hill, New York.
- O'Brien C. P. (2008) Review. Evidence-based treatments of addiction. *Philosophical Transactions of the Royal Society B Biological Sciences* 363: 3277-3286.
- O'Brien C. P., Childress A. R., McLellan A. T., Ehrman R. (1992) Classical conditioning in drug-dependent humans. *Annals of the New York Academy of Sciences* 654: 400-415.
- Oleson E. B., Roberts D. C. (2009) Behavioral economic assessment of price and cocaine consumption following self-administration histories that produce escalation of either final ratios or intake. *Neuropsychopharmacology* 34: 796-804.
- Pan H. T., Menacherry S., Justice J. B., Jr. (1991) Differences in the pharmacokinetics of cocaine in naive and cocaine-experienced rats. *Journal of Neurochemistry* 56: 1299-1306.
- Paterson N. E., Markou A. (2003) Increased motivation for self-administered cocaine after escalated cocaine intake. *Neuroreport* 14: 2229-2232.
- Phillips A. G., Di Ciano P. (1996) Behavioral sensitization is induced by intravenous self-administration of cocaine by rats. *Psychopharmacology* 124: 279-281.

- Piazza P. V., Deminière J. M., Le Moal M., Simon H. (1990) Stress- and pharmacologically-induced behavioral sensitization increases vulnerability to acquisition of amphetamine self-administration. *Brain Research* 514: 22-26.
- Pickens R., Thompson T. (1968) Cocaine-reinforced behavior in rats: effects of reinforcement magnitude and fixed-ratio size. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 161: 122-129.
- Pierre P. J., Vezina P. (1997) Predisposition to self-administer amphetamine: the contribution of response to novelty and prior exposure to the drug. *Psychopharmacology (Berl)* 129: 277-284.
- Pierre P. J., Vezina P. (1998) D1 dopamine receptor blockade prevents the facilitation of amphetamine self-administration induced by prior exposure to the drug. *Psychopharmacology (Berl)* 138: 159-166.
- Porrino L. J. (1993) Functional consequences of acute cocaine treatment depend on route of administration. *Psychopharmacology* 112: 343-351.
- Post R. M. (1980) Intermittent versus continuous stimulation: effect of time interval on the development of sensitization or tolerance. *Life Sciences* 26: 1275-1282.
- Post R. M., Rose H. (1976) Increasing effects of repetitive cocaine administration in the rat. *Nature* 260: 731-732.
- Rawson R. A., Gonzales R., Marinelli-Casey P., Ang A. (2007) Methamphetamine dependence: a closer look at treatment response and clinical characteristics associated with route of administration in outpatient treatment. *American Journal on Addictions* 16: 291-299.
- Reith M. E., Benuck M., Lajtha A. (1987) Cocaine disposition in the brain after continuous or intermittent treatment and locomotor stimulation in mice. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 243: 281-287.
- Richardson N. R., Roberts D. C. (1996) Progressive ratio schedules in drug self-administration studies in rats: a method to evaluate reinforcing efficacy. *Journal of Neuroscience Methods* 66: 1-11.
- Roberts D. C. (1989) Breaking points on a progressive ratio schedule reinforced by intravenous apomorphine increase daily following 6-hydroxydopamine lesions of the nucleus accumbens. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 32: 43-47.
- Roberts D. C., Bennett S. A., Vickers G. J. (1989) The estrous cycle affects cocaine self-administration on a progressive ratio schedule in rats. *Psychopharmacology (Berl)* 98: 408-411.

- Roberts D. C., Brebner K., Vincler M., Lynch W. J. (2002) Patterns of cocaine self-administration in rats produced by various access conditions under a discrete trials procedure. *Drug and Alcohol Dependence* 67: 291-299.
- Roberts D. C., Gabriele A., Zimmer B. A. (2013) Conflation of cocaine seeking and cocaine taking responses in IV self-administration experiments in rats: methodological and interpretational considerations. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 37: 2026-2036.
- Roberts D. C., Loh E. A., Baker G. B., Vickers G. (1994) Lesions of central serotonin systems affect responding on a progressive ratio schedule reinforced either by intravenous cocaine or by food. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 49: 177-182.
- Robinson T. E., Becker J. B. (1986) Enduring changes in brain and behavior produced by chronic amphetamine administration: a review and evaluation of animal models of amphetamine psychosis. *Brain Research Reviews* 396: 157-198.
- Robinson T. E., Berridge K. C. (1993) The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Research Reviews* 18: 247-291.
- Robinson T. E., Berridge K. C. (2000) The psychology and neurobiology of addiction: an incentive-sensitization view. *Addiction* 95 (Suppl. 2): S91-S117.
- Roncero C., Ros-Cucurull E., Daigre C., Casas M. (2012) Prevalence and risk factors of psychotic symptoms in cocaine-dependent patients. *Actas Espanolas Psiquiatria* 40: 187-197.
- Russell M. A., Feyerabend C. (1978) Cigarette smoking: a dependence on high-nicotine boli. *Drug Metabolism Reviews* 8: 29-57.
- Samaha A. N., Li Y., Robinson T. E. (2002) The rate of intravenous cocaine administration determines susceptibility to sensitization. *Journal of Neuroscience* 22: 3244-3250.
- Samaha A. N., Mallet N., Ferguson S. M., Gonon F., Robinson T. E. (2004) The rate of cocaine administration alters gene regulation and behavioral plasticity: implications for addiction. *Journal of Neuroscience* 24: 6362-6370.
- Samaha A. N., Yau W. Y., Yang P., Robinson T. E. (2005) Rapid delivery of nicotine promotes behavioral sensitization and alters its neurobiological impact. *Biological Psychiatry* 57: 351-360.
- Schindler C. W., Cogan E. S., Thorndike E. B., Panlilio L. V. (2011) Rapid delivery of cocaine facilitates acquisition of self-administration in rats: an effect masked by paired stimuli. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 99: 301-306.

- Schindler C. W., Panlilio L. V., Thorndike E. B. (2009) Effect of rate of delivery of intravenous cocaine on self-administration in rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 93: 375-381.
- Segal D. S., Geyer M. A., Schuckit M. A. (1981) Stimulant-induced psychosis: an evaluation of animal models. *Essays in Neurochemistry and Neuropharmacology* 5: 95-129.
- Siegel S. (1977) Learning and psychopharmacology. *In: Jarvik ME (ed) Psychopharmacology in the Practice of Medicine. Appleton-Century-Crofts, New York.*
- Sorge R. E., Clarke P. B. (2009) Rats self-administer intravenous nicotine delivered in a novel smoking-relevant procedure: effects of dopamine antagonists. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 330: 633-640.
- Spencer T. J., Biederman J., Ciccone P. E., Madras B. K., Dougherty D. D., Bonab A. A., Livni E., Parasrampur D. A., Fischman A. J. (2006) PET study examining pharmacokinetics, detection and likeability, and dopamine transporter receptor occupancy of short- and long-acting oral methylphenidate. *American Journal of Psychiatry* 163: 387-395.
- Spyraki C., Fibiger H. C., Phillips A. G. (1982) Cocaine-induced place preference conditioning: lack of effects of neuroleptics and 6-hydroxydopamine lesions. *Brain Research* 253: 195-203.
- Spyraki C., Nomikos G. G., Varonos D. D. (1987) Intravenous cocaine-induced place preference: attenuation by haloperidol. *Behavioural Brain Research* 26: 57-62.
- Stewart J., Badiani A. (1993) Tolerance and sensitization to the behavioral effects of drugs. *Behavioural Pharmacology* 4: 289-312.
- Unterwald E. M., Kreek M. J., Cuntapay M. (2001) The frequency of cocaine administration impacts cocaine-induced receptor alterations. *Brain Research* 900: 103-109.
- Van Dyke C., Barash P. G., Jatlow P., Byck R. (1976) Cocaine: plasma concentrations after intranasal application in man. *Science* 191: 859-861.
- Van Dyke C., Byck R. (1982) Cocaine. *Scientific American* 246: 128-141.
- Vanderschuren L. J., Everitt B. J. (2004) Drug seeking becomes compulsive after prolonged cocaine self-administration. *Science* 305: 1017-1019.
- Vezina P. (2004) Sensitization of midbrain dopamine neuron reactivity and the self-administration of psychomotor stimulant drugs. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 27: 827-839.

- Vezina P., Lorrain D. S., Arnold G. M., Austin J. D., Suto N. (2002) Sensitization of midbrain dopamine neuron reactivity promotes the pursuit of amphetamine. *Journal of Neuroscience* 22: 4654-4662.
- Vezina P., McGehee D. S., Green W. N. (2007) Exposure to nicotine and sensitization of nicotine-induced behaviors. *Progress in Neuropsychopharmacology and Biological Psychiatry* 31: 1625-1638.
- Volkow N. D., Swanson J. M. (2003) Variables that affect the clinical use and abuse of methylphenidate in the treatment of ADHD. *American Journal of Psychiatry* 160: 1909-1918.
- Volkow N. D., Wang G. J., Fischman M. W., Foltin R., Fowler J. S., Franceschi D., Franceschi M., Logan J., Gatley S. J., Wong C., Ding Y. S., Hitzemann R., Pappas N. (2000) Effects of route of administration on cocaine induced dopamine transporter blockade in the human brain. *Life Sciences* 67: 1507-1515.
- Wakabayashi K. T., Weiss M. J., Pickup K. N., Robinson T. E. (2010) Rats markedly escalate their intake and show a persistent susceptibility to reinstatement only when cocaine is injected rapidly. *Journal of Neuroscience* 30: 11346-11355.
- Ward A. S., Haney M., Fischman M. W., Foltin R. W. (1997) Binge cocaine self-administration in humans: intravenous cocaine. *Psychopharmacology* 132: 375-381.
- Wee S., Mandyam C. D., Lekic D. M., Koob G. F. (2008) Alpha 1-noradrenergic system role in increased motivation for cocaine intake in rats with prolonged access. *European Neuropsychopharmacology* 18: 303-311.
- Willuhn I., Burgeno L. M., Groblewski P. A., Phillips P. E. (2014) Excessive cocaine use results from decreased phasic dopamine signaling in the striatum. *Nature Neuroscience* 17: 704-709.
- Wilson M. C., Hitomi M., Schuster C. R. (1971) Psychomotor stimulant self administration as a function of dosage per injection in the rhesus monkey. *Psychopharmacologia* 22: 271-281.
- Winger G., Hofmann G. G., Woods J. H. (1992) *A handbook on drug and alcohol abuse: the biomedical aspects*. Oxford UP, New York
- Wise R. A., Newton P., Leeb K., Burnette B., Pocock D., Justice J. B., Jr. (1995) Fluctuations in nucleus accumbens dopamine concentration during intravenous cocaine self-administration in rats. *Psychopharmacology* 120: 10-20.

Woolverton W. L., Wang Z. (2004) Relationship between injection duration, transporter occupancy and reinforcing strength of cocaine. *European Journal of Pharmacology* 486: 251-257.

Zernig G. (1997) Rate of rise in brain concentration determines reinforcing strength of cocaine in only 63% of tested rats. *NIDA Research Monograph* 178, 218.

Zimmer B. A., Oleson E. B., Roberts D. C. (2012) The motivation to self-administer is increased after a history of spiking brain levels of cocaine. *Neuropsychopharmacology* 37: 1901-1910.