



HAL
open science

Impact du binge drinking sur les capacités de prise de décision chez le rat : rôle du sexe, du paradigme d'exposition à l'alcool et de la transmission dopaminergique dans le noyau accumbens

Pierre Sauton

► To cite this version:

Pierre Sauton. Impact du binge drinking sur les capacités de prise de décision chez le rat : rôle du sexe, du paradigme d'exposition à l'alcool et de la transmission dopaminergique dans le noyau accumbens. Neurosciences. Université de Picardie Jules Verne, 2020. Français. NNT : 2020AMIE0033 . tel-03626249

HAL Id: tel-03626249

<https://theses.hal.science/tel-03626249>

Submitted on 31 Mar 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Thèse de Doctorat

*Mention Biologie et santé
Spécialité Neurosciences*

Présentée à *l'Ecole Doctorale en Sciences Technologie et Santé (ED 585)*

De l'Université de Picardie Jules Verne

Par

Pierre Sauton

Pour obtenir le grade de Docteur de l'Université de Picardie Jules Verne

Impact du binge drinking sur les capacités de prise de décision chez le rat : rôle du sexe, du paradigme d'exposition à l'alcool et de la transmission dopaminergique dans le noyau accumbens

Soutenue le 07 octobre 2020 après avis des rapporteurs, devant le jury d'examen :

M^{me} Florence NOBLE, Directrice de Recherche
M. Serge AHMED, Directeur de Recherche
M. Philippe FAURE, Directeur de Recherche
M. Sébastien CARNICELLA, Directeur de Recherche
M^{me} Hélène BEAUNIEUX, Professeur des Universités
M. William SZURHAJ, PU-PH
M. Fabien GIERSKI, Neuropsychologue
M. Mickael NAASSILA, Professeur des Universités
M. Jérôme JEANBLANC, Ingénieur de Recherche

Rapporteur et président du jury
Rapporteur
Examineur
Examineur
Examineur
Examineur
Membre invité
Directeur de thèse
Co-encadrant et co-directeur





Thèse de Doctorat

*Mention Biologie et santé
Spécialité Neurosciences*

Présentée à *l'Ecole Doctorale en Sciences Technologie et Santé (ED 585)*

De l'Université de Picardie Jules Verne

Par

Pierre Sauton

Pour obtenir le grade de Docteur de l'Université de Picardie Jules Verne

Impact du binge drinking sur les capacités de prise de décision chez le rat : rôle du sexe, du paradigme d'exposition à l'alcool et de la transmission dopaminergique dans le noyau accumbens

Soutenue le 07 octobre 2020 après avis des rapporteurs, devant le jury d'examen :

M^{me} Florence NOBLE, Directrice de Recherche
M. Serge AHMED, Directeur de Recherche
M. Philippe FAURE, Directeur de Recherche
M. Sébastien CARNICELLA, Directeur de Recherche
M^{me} Hélène BEAUNIEUX, Professeur des Universités
M. William SZURHAJ, PU-PH
M. Fabien GIERSKI, Neuropsychologue
M. Mickael NAASSILA, Professeur des Universités
M. Jérôme JEANBLANC, Ingénieur de Recherche

Rapporteur et président du jury
Rapporteur
Examineur
Examineur
Examineur
Examineur
Membre invité
Directeur de thèse
Co-encadrant et co-directeur





Les travaux de cette thèse ont été réalisés au sein du Groupe de Recherche sur l'Alcool et les Pharmacodépendances (GRAP INSERM UMR-1247)



Les travaux de cette thèse ont été financés par l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM), et l'Université de Picardie Jules Verne (UPJV).

Je tiens à remercier tout particulièrement ces institutions pour leur soutien.

Remerciements

Tout d'abord, je tiens à remercier sincèrement les membres de mon jury :

Le **Pr. Serge Ahmed**, directeur de recherche CNRS à l'Université de Bordeaux.

Le **Pr. Florence Noble**, directrice de recherche CNRS à l'Université Paris Descartes.

Je vous remercie chaleureusement d'avoir accepté d'être rapporteurs de ce manuscrit et de me faire l'honneur de siéger dans ce jury.

Le **Pr. Philippe Faure**, directeur de recherche CNRS à l'Université de Pierre et Marie Curie.

Le **Pr. Sébastien Carnicella**, directeur de recherche INSERM à l'Institut des Neurosciences de Grenoble.

Le **Pr. William Szurhaj**, chef de service au CHU d'Amiens Picardie.

Le **Dr. Fabien Gierski**, maître de conférences et neuropsychologue au CHU de Reims.

Je vous remercie sincèrement d'avoir répondu à mon invitation en temps qu'examinateurs de mon travail de thèse ou membre invité. Merci pour l'intérêt que vous portez à mes recherches.

Le **Pr. Hélène Beaunieux**, professeur à l'Université de Caen Normandie. Merci d'avoir accepté d'être examinateur de cette thèse. Je tiens à vous remercier tout particulièrement pour vos précieux conseils lors de mes comités de suivi de thèse, et pour la bienveillance dont vous avez à chaque fois fait preuve à mon égard.

Dans un second temps, je tiens à remercier tout particulièrement mes encadrants :

Le **Pr. Mickaël Naassila**, professeur à l'Université de Picardie Jules Vernes et directeur du Groupe de Recherche sur l'Alcool et les Pharmacodépendances. Merci d'avoir soutenu ma candidature et d'avoir rendu tout ce travail possible. Je vous suis profondément reconnaissant pour l'attention que vous m'avez portée, la confiance que vous m'avez accordée, vos précieux conseils à tous les niveaux, et pour m'avoir toujours encouragé depuis le début.

Le **Dr. Jérôme Jeanblanc**, ingénieur de recherche à l'Université Picardie Jules Verne. Merci de m'avoir encadré au cours de toutes ces années, pour tout ce que tu m'as apporté, et tout le temps que tu m'as accordé. Je retiendrai toujours cette bonne humeur permanente et ton optimisme qui a pu trancher quand c'était nécessaire avec mes tendances pessimistes ! Je sais que ce projet est entre de bonnes mains avec toi pour la suite.

J'aimerais plus particulièrement remercier mes deux collègues de bureau et compagnons de « choc » au sein du laboratoire :

Kevin Rabiant, futur Dr., futur marié et meilleur ami. Merci pour tout ce que nous avons traversé ensemble et pour m'avoir permis de supporter le poids de la thèse. C'est un plaisir de pouvoir conclure mes études avec toi. Merci d'avoir toujours été là dans les bons moments comme dans les moments difficiles, pour les fous rires, pour les conseils (même les plus improbables), pour toutes ces heures passées dos à dos à taper sur nos claviers... surtout reste le même. Et puisque je te l'avais promis, prête bien attention aux dernières lignes un peu plus bas!

Cédric Bertrand, mon second collègue de bureau et le petit dernier de la pièce. Merci pour toutes ces petites discussions sur tout et n'importe quoi et les bonnes tranches de rigolade. Bon courage à toi pour cette dernière ligne droite et pour tes futurs projets de vie.

Mes remerciements vont également aux deux stagiaires que j'ai encadrés, Elizaveta et Charles, qui ont aussi participé au bon déroulement des travaux réalisés au cours de cette thèse. Je vous souhaite toute la réussite possible pour la suite de votre parcours.

Je tiens à remercier tous les membres présents et passés que j'ai pu côtoyer au laboratoire, et qui ont assuré en permanence une ambiance agréable qui m'a aussi permis de m'épanouir dans mon travail : Le Dr. Rémi Legastelois (pour son encadrement et mes premiers pas avec les rats), le Pr. Olivier Pierrefiche (pour tous ces bons moments durant les repas et son sens de l'humour), le Dr. Catherine Vilpoux (pour sa gentillesse et sa bonne humeur), le Dr. Hakim Houchi (pour s'être assuré que l'on ne fasse jamais d'hypoglycémie), Élodie (notre secrétaire

indispensable du laboratoire), Carmen (pour sa joie de vivre et le bon goût d'apprécier Federer), Sophie (pour m'avoir toujours épaulé dans l'animalerie et donné goût au comportement), mais aussi Stéphane, Chloé, Constance, Charles-Antoine, Greg, Ichrak, Ingrid, Hicham, Véronique, Johann... et, au cas où j'en oublie, je remercie toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'aboutissement de ma thèse et à mon bien-être.

Je tiens aussi à adresser mes remerciements à tout le personnel de l'animalerie : Virginie, Anaïs et Julie, qui m'ont permis de travailler dans les meilleures conditions et d'assurer mes expériences sereinement. Et parce que ce n'est pas assez fait, merci à tous les rats que j'ai utilisés, et qui ont fait tout leur possible pour m'apporter des résultats et un contenu satisfaisants à cette thèse!

Mes pensées vont également à mes amis les plus proches, qui m'ont soutenu et qui ont aussi dû supporter les inconvénients de la thèse : Seb, Marine, Paulo, Tuteur, Charline et tous les bisounours.

Des remerciements du fond du coeur s'adressent tout naturellement à ma famille. Merci à mes parents, pour leur soutien indéfectible depuis toujours et pour avoir toujours cru en moi. Mon parcours n'aura pas été des plus faciles mais il arrive enfin au bout! Merci à mon frère, à ma sœur et à mes grands-parents (tu vas enfin pouvoir assister à ma soutenance mamie). Parce que je ne vous le dis pas assez mais que je n'en pense pas moins : je vous aime.

Enfin, mes derniers remerciements s'adressent à la personne qui compte le plus pour moi et qui partage ma vie, Laurène. Ces quelques lignes ne seront pas suffisantes pour exprimer tout ce que je ressens pour toi, merci pour tout. Nous terminons nos études ensemble et nous avons désormais toute la vie devant nous. Je t'aime.

Pour terminer, un petit mot qui n'aura de sens que pour peu de personnes... LAMASTICOT.

Liste des publications

Jeanblanc, J., **Sauton, P.**, Jeanblanc, V., Legastelois, R., Echeverry-alzate, V., Lebourgeois, S., Del Carmen, Gonzalez-Marin, Maria Carmen Naassila, M. (2019) "Face validity of a pre-clinical model of operant binge drinking : just a question of speed". *Addiction Biology*, 24(4), 664. <https://doi.org/10.1111/adb.12631>

Echeverry-Alzate, V., Jeanblanc, J., **Sauton, P.**, Bloch, V., Labat, L., Soichot, M., Vorspan, V., Naassila, M. (2020). "Is R(+)-Baclofen the best option for the future of Baclofen in alcohol dependence pharmacotherapy? Insights from the preclinical side". *Addiction Biology*, (February). <https://doi.org/10.1111/adb.12892>

Sauton, P., Deschamps, C., Jeanblanc, V., Pierrefiche, O., Jeanblanc, J., Naassila, M. (2020) "Interstrain differences in voluntary binge drinking behavior and in two acute ethanol injection-induced synaptic plasticity deficits in rats" (soumis dans *Addiction Biology*).

Sauton, P., Jeanblanc, J. Naassila, M. (2020) "Acute alcohol promotes immediate reward seeking in rats with a prior history of voluntary binge drinking" (soumis dans *ACER*).

Sauton, P., Jeanblanc, J. Negria, E., Naassila, M. (2020) "Longitudinal study of the effects of binge drinking on decision making and dopamine transmission in the nucleus accumbens core depending on sex" (en cours de preparation pour soumission dans *PNAS*).

Liste des abréviations

AA : Auto-administration

AAC : *Aromatic amino acid decarboxylase*

AC : Adénylate cyclase

Ach : Acétylcholine

AIE : *Adolescent intermittent ethanol exposure*

AMPA : Acide 2-amino-3-(5-méthyl-3-hydroxy-1,2-oxazol-4-yl) propanoïque

AMPC : Adénosine monophosphate cyclique

API : Alcoolisation ponctuelle importante

ATV : Aire tegmentale ventrale

AUD : *Alcohol use disorders*

BD : *Binge drinking*

CLi : Noyau caudé linéaire

COMT : Catéchol-O-méthyl-transférase

DA : Dopamine

DAT : Transporteur de la dopamine

DDC : DOPA décarboxylase

DDT : *Delay-discounting task*

DID : *Drinking-in-the dark*

DLT : Dépression à long-terme

DOPAC : Acide dihydroxyphénylacétique

DSM : Manuel diagnostique et statistiques des troubles mentaux

DTI : Imagerie par tenseur de diffusion

EEG : Électroencephalographie

EtOH : Ethanol

FSCV : *Fast-scan cyclic voltammetry*

GABA : Acide γ -aminobutyrique

GluN : Sous-unité du récepteur NMDA

IA2BC : *Intermittent access 2-bottle choice*

IF: Noyau interfasciculaire

IGT : *Iowa gambling task*

IRMf : Imagerie par résonance magnétique fonctionnelle

L-DOPA : Lévygyre-dihydroxyphénylalanine

LE : Long Evans

MAO : Monoamine-oxydase

MSN : *Medium spiny neurons*

NAcc : Noyau accumbens

NLT : Noyau latérodorsal du tegmentum

NMDA : N-méthyl-D-aspartate

NPPT : Noyau pédonculopontin du tegmentum

PBP : Noyau parabrachial pigmentaire

PdD : Prise de décision

PN : Noyau paranigral

RDT : *Risky decision making task*

RGT : *Rat gambling task*

Rli : Noyau rostral linéaire du raphé

SD : Sprague-Dawley

TDAH : Troubles d'hyperactivité et déficit attentionnel

TEP : Tomographie par émission de positons

TH : Tyrosine hydroxylase

TUA : Troubles de l'usage d'alcool

VMAT2 : Transporteur vésiculaire monoamine 2

W : Wistar

5-CSRTT : *5-choice serial reaction time task*

5-HT : Sérotonine

Index des figures et tableaux

Figure 1 : *Pyramide de Skinner représentant les différentes formes d'usage de l'alcool.*

Figure 2 : *Pourcentage de la population française des 18-75 ans ayant déclaré avoir consommé six verres en une même occasion (API, Alcoolisation Ponctuelle Importante) depuis 2005.*

Figure 3 : *Résumé schématique des principaux résultats obtenus dans les études sur les conséquences morphologiques et fonctionnelles du BD.*

Figure 4 : *Principaux systèmes de neurotransmission / neuromodulation et molécules ciblées par l'EtOH.*

Figure 5 : *Principe général de l'IGT.*

Figure 6 : *Exemple d'un essai au cours du Cambridge Gambling Task (A) et du Game of Dice Task (B).*

Figure 7 : *Progression cumulative des performances chez l'homme et la femme en IGT.*

Figure 8 : *Schéma représentatif des étapes théoriques du processus de PdD.*

Figure 9 : *Modèle hypothétique des processus et structures impliqués dans les différentes étapes de la PdD (gauche), et plus spécifiquement dans l'IGT (droite).*

Figure 10 : *Schéma récapitulatif simplifié du métabolisme et de la signalisation DAergique.*

Figure 11 : *Expérience d'Olds et Milner (1954).*

Figure 12 : *Schéma simplifié du circuit cérébral de la récompense chez le rongeur.*

Figure 13 : *Organisation anatomique de l'ATV.*

Figure 14 : *Schéma récapitulatif simplifié de la régulation de l'axe ATV-NAcc.*

Figure 15 : *Théorie de « l'erreur de prédiction » (EPR) des neurones DAergiques de la VTA.*

Figure 16 : *Mécanismes d'action par lesquels l'EtOH augmente la transmission DAergique mésolimbique.*

Figure 17 : *Changements théoriques induits par la prise de drogue dans les transmissions DAergique tonique et phasique dans le NAcc.*

Figure 18 : *Chambre d'AA opérante utilisée au laboratoire.*

Figure 19 : *La RGT en labyrinthe à quatre bras parallèles.*

Figure 20 : *La RGT en chambre opérante à deux leviers.*

Figure 21 : *La RGT en chambre opérante à orifices.*

Figure 22 : *Principe de la microdialyse cérébrale.*

Figure 23 : *Principe de la FSCV.*

Figure 24 : *Principe (A) et modalités (B) du protocole RGT de Rivalan et al.*

Figure 25 : *Principe et modalités du protocole RGT de Zeeb et al.*

Figure 26 : *Représentation schématique du test de la LDB.*

Figure 27 : *Principe du test de NOR.*

Figure 28 : *Représentation schématique du placement des électrodes au cours des enregistrements en FSCV dans le NAcc core.*

Figure 29 : *Interface du logiciel Tarheel CV lors des enregistrements en FSCV dans le NAcc core.*

Figure 30 : *Interface du logiciel Lvit.*

Figure 31 : *Schéma bilan des principales hypothèses à l'issue de la thèse.*

Tableau 1 : *Concentrations (mM) des différents constituants des ACSF de coupe et d'enregistrement utilisés pour les expériences de FSCV.*

Tableau 2 : *Tableau récapitulatif des résultats comportementaux obtenus au cours des études sur la relation entre BD et PdD.*

Tableau 3 : *Tableaux récapitulatifs des études de pharmacologie réalisées en FSCV chez les mâles (bleu) et les femelles (orange), dans le cadre des effets du BD sur la transmission DAergique mésolimbique.*

Table des matières

CONTEXTE SCIENTIFIQUE.....	21
Introduction générale.....	23
Chapitre 1 : Alcool et <i>Binge Drinking</i> , problèmes de santé publique majeurs.....	25
A. La problématique globale de l'alcool en France	25
1. Une drogue ancrée dans la culture et la tradition française.....	25
2. Les différentes formes d'usage et la notion de troubles liés à l'usage d'alcool.....	26
3. Épidémiologie de l'usage d'alcool en France	28
B. Le <i>Binge Drinking</i>, nouvelle problématique de santé	29
1. Épidémiologie du <i>Binge Drinking</i> en France.....	29
2. Le problème du manque d'une définition précise et complète.....	31
C. <i>Binge Drinking</i> : conséquences, neurobiologie et vulnérabilité	32
1. Conséquences du <i>Binge Drinking</i>	32
a. <i>Conséquences à court et moyen terme</i>	33
b. <i>Conséquences à long terme</i>	34
2. Neurobiologie générale du <i>Binge Drinking</i>	38
3. Facteurs de vulnérabilité au <i>Binge Drinking</i>	40
a. <i>Facteurs psychologiques et de personnalité</i>	41
b. <i>Différences et vulnérabilité liées au sexe</i>	43
Chapitre 2 : La prise de décision, fonction d'adaptation indispensable	47
A. Une fonction cognitive fondamentale à notre adaptation face à l'environnement	47
B. Mesure expérimentale de la prise de décision	48
1. Chez l'Homme	48
a. <i>Iowa Gambling Task</i>	48
b. <i>Autres tests de la prise de décision</i>	51
2. Chez l'animal	53

C. Facteurs de variabilité inter-individuelle et processus neuropsychologiques impliqués dans la prise de décision.....	54
1. Influence de l'âge et du sexe	54
2. Influence des traits de personnalité et rôle des émotions.....	57
3. Rôle des fonctions exécutives et processus motivationnels	59
D. Neurobiologie de la prise de décision : étapes du processus et structures impliquées	60
Chapitre 3 : Implication du système dopaminergique mésolimbique dans la prise de décision et dans les effets de l'alcool et du <i>Binge Drinking</i>.....	65
A. Le système dopaminergique mésolimbique, axe fondamental du circuit de la récompense	65
1. Généralités sur le métabolisme de la dopamine.....	65
a. <i>Biosynthèse de la dopamine</i>	65
b. <i>Libération de la dopamine</i>	66
c. <i>Récepteurs dopaminergiques et signalisation</i>	67
d. <i>Recapture et dégradation de la dopamine</i>	68
2. Le circuit de la récompense.....	70
3. Organisation anatomo-fonctionnelle de la voie mésolimbique dopaminergique	73
a. <i>L'Aire Tegmentale Ventrale</i>	73
b. <i>Le Noyau Accumbens</i>	74
c. <i>Régulation de l'axe Aire Tegmentale Ventrale – Noyau Accumbens</i>	76
B. Implication du système dopaminergique mésolimbique dans la neurobiologie de la prise de décision	79
1. Le système dopaminergique comme neuromodulateur de la prise de décision	79
2. Le système dopaminergique mésolimbique au centre du processus de récompense et du comportement dirigé vers un but	81
C. Neurobiologie des effets de l'alcool et du <i>Binge Drinking</i> sur le système dopaminergique mésolimbique	85
1. Implication du système dopaminergique mésolimbique dans les effets renforçants de l'alcool	85
2. Effets de l'administration aiguë et chronique d'éthanol sur le système dopaminergique mésolimbique, et application aux effets renforçants de l'alcool	86
a. <i>Effets de l'administration aiguë d'éthanol</i>	86
b. <i>Effets de l'administration chronique d'éthanol</i>	90
c. <i>Application aux effets renforçants de l'alcool : la « théorie dopaminergique » de l'addiction</i>	92

d. Effets du <i>Binge Drinking</i> sur le système dopaminergique mésolimbique.....	95
Chapitre 4 : Capacités de prise de décision dans l'addiction à l'alcool et le <i>Binge Drinking</i>	99
A. Capacités de prise de décision dans le cadre de l'addiction à l'alcool.....	99
B. Capacités de prise de décision dans le cadre du <i>Binge Drinking</i>	101
C. Atteintes de la prise de décision : causes ou conséquences de la consommation d'alcool ?	103
Objectifs	107
MATÉRIELS ET METHODES.....	109
Chapitre 1 : Modélisation animale du <i>Binge Drinking</i> et de la prise de décision, et mesure expérimentale de la transmission dopaminergique.....	111
A. Intérêts et nécessité de la modélisation animale	111
B. Modélisation animale du <i>Binge Drinking</i>	112
1. Modèles d'administration forcée / passive.....	113
2. Modèles d'administration volontaire / active.....	115
a. Modèle d'accès intermittent à l'éthanol avec choix de deux bouteilles (« two-bottle choice intermittent access model », IA2BC)	116
b. Modèle de « drinking-in-the-dark » (DID)	117
c. Auto-administration opérante d'éthanol	119
d. Critères proposés pour un modèle animal pertinent de <i>Binge Drinking</i>	122
C. Modélisation animale de la prise de décision: le « <i>Rat Gambling Task</i> ».....	124
1. Le modèle de labyrinthe à quatre bras parallèles.....	124
2. Le modèle de chambre opérante à deux leviers	125
3. Les modèles de chambre opérante à orifices.....	127
D. Mesure expérimentale de la transmission dopaminergique	129
1. Mesure expérimentale chez l'Homme	129
2. Mesure expérimentale chez l'animal	129
a. Technique de microdialyse	129
b. Techniques électrochimiques : focus sur la voltamétrie cyclique rapide.....	131
Chapitre 2 : Modèles et techniques utilisés au cours de la thèse	133

A. Animaux et conditions d'élevage.....	133
B. Agents pharmacologiques.....	134
C. Exposition à l'alcool.....	134
1. Accès intermittent à l'EtOH avec choix de deux bouteilles (« <i>two-bottle choice intermittent access model</i> », IA2BC)	134
2. Tâche d'auto-administration opérante d'EtOH.....	135
3. Alcoolisations forcées de type <i>Binge</i> : modèle chronique forcé d'injections i.p intermittentes et alcoolisations aiguës	136
D. Test de prise de décision : <i>Rat Gambling Task</i>	136
1. Protocole 1 (Rivalan & al, 2009)	138
a. <i>Phase d'entraînement</i>	138
b. <i>Phase de test</i>	138
2. Protocole 2 (Zeeb & al).....	140
a. <i>Phase d'entraînement</i>	140
b. <i>Phase de test</i>	141
E. Test d'anxiété : boîte sombre et éclairée (« <i>Light/Dark box test</i> »).....	143
F. Test de mémoire et d'apprentissage : reconnaissance du nouvel objet (« <i>Novel Object Recognition task</i> »)	144
G. Voltamétrie cyclique rapide <i>ex vivo</i>.....	146
1. Chirurgie et préparation des tranches coronales de cerveau	146
2. Préparation des électrodes	147
3. Protocoles d'enregistrement de la libération phasique de dopamine dans le noyau accumbens.....	148
4. Analyse du signal	150
 RÉSULTATS.....	 153
 Article 1: Face validity of a pre-clinical model of operant binge drinking : just a question of speed	 155
 Article 2: Acute alcohol intoxication promotes immediate reward seeking in rats with a prior history of voluntary binge drinking.....	 175
 Article 3: Longitudinal study of the effects of binge drinking on decision making and dopamine transmission in the nucleus accumbens core depending on sex	 212

RÉSULTATS ANNEXES.....	246
Article 4 : Interstrain differences in voluntary binge drinking behavior and to acute ethanol	
injection-induced synaptic plasticity deficits in rats	248
DISCUSSION ET PERSPECTIVES	286
A. Modélisation animale du <i>Binge Drinking</i> et de la prise de décision.....	288
1. Modélisation animale du <i>Binge Drinking</i> et vulnérabilité génétique : différences liées à la souche de rat et au sexe.....	288
a. Différences liées à la souche de rat : le Long-Evans comme souche idéale.....	288
b. Différences liées au sexe	291
2. Modélisation animale de la prise de décision : mise en place, avantages et limites des deux protocoles de <i>Rat Gambling Task</i> , et différences liées au sexe	293
a. Mise en place : deux protocoles adaptés à des études différentes	293
b. Avantages et limites des protocoles de <i>Rat Gambling Task</i>	295
c. Différences liées au sexe dans la prise de décision.....	297
B. Relation entre <i>Binge Drinking</i> et prise de décision : conséquences du <i>Binge Drinking</i>, différences liées au sexe et limites.....	300
1. Conséquences du <i>Binge Drinking</i> sur la prise de décision : implications et considérations techniques	300
2. Différences liées au sexe : une vulnérabilité différente aux effets du <i>Binge Drinking</i> ?.	306
3. Limites et perspectives.....	307
C. Effets du <i>Binge Drinking</i> sur la transmission dopaminergique mésolimbique.....	310
1. Conséquences du <i>Binge Drinking</i> , différences liées au sexe et applications	310
a. Conséquences du <i>Binge drinking</i> : résultats des études pharmacologiques	310
b. Différences liées au sexe : une sensibilité différente à la pharmacologie ?	315
c. Applications à la prise de décision inadaptée dans le <i>Binge Drinking</i>	318
2. Limites et perspectives.....	319
D. Conclusion générale.....	322
BIBLIOGRAPHIE.....	328

CONTEXTE SCIENTIFIQUE

Introduction générale

L'alcool est une substance psychoactive omniprésente dans notre société et ancrée dans la culture française. Sa consommation excessive est cependant extrêmement toxique et expose à de multiples conséquences néfastes. Dans ce contexte, les chiffres épidémiologiques en France sont alarmants, où l'alcool est responsable de près de 50 000 décès chaque année et d'un coût annuel d'environ 120 milliards d'euros. Le *Binge Drinking (BD)*, pratique récente d'alcoolisation massive et rapide dans le but d'atteindre l'ivresse, pose des problèmes de santé publique majeurs, de par ses conséquences cérébrales et cognitives, et la population jeune neurobiologiquement vulnérable chez laquelle il prévaut. Il n'existe cependant aujourd'hui pas de définition claire de celle-ci, ce qui pose des problèmes aussi bien en recherche clinique que préclinique.

L'un des enjeux majeurs de la recherche actuelle dans la lutte contre l'alcool est d'identifier les facteurs impliqués dans la vulnérabilité au développement de ce genre de comportement, et de pouvoir de cette façon mieux comprendre la transition vers la perte de contrôle et la prise compulsive d'alcool. Il est en effet de plus en plus mis en évidence que le *BD* pourrait être un facteur de vulnérabilité au développement futur d'une addiction à l'alcool. La prise de décision (PdD), fonction d'adaptation fondamentale dans notre vie quotidienne, et le sexe, font partie de ces possibles facteurs. Des atteintes de la PdD sont observées dans de nombreux troubles psychiatriques et chez les patients alcoolodépendants, qui optent pour la gratification immédiate fournie par la consommation d'alcool, et ce malgré les conséquences négatives dont ils sont conscients. Dans ce sens, de nombreux chercheurs conceptualisent l'addiction à l'alcool comme une maladie de « détournement » des capacités de PdD, dont on pense qu'elles sont impliquées dans les phénomènes de rechute. Peu d'études s'intéressent néanmoins à ces capacités dans le cadre d'une consommation excessive ou nocive sans dépendance comme le *BD*, qui présente pourtant des critères de prise d'alcool mal contrôlée. De plus, la relation causale entre les deux n'est pas connue à ce jour et de faibles capacités de PdD pourraient également constituer un facteur de vulnérabilité au développement du *BD*.

Au niveau neurobiologique, le système dopaminergique (DA) mésolimbique est impliqué à la fois dans la PdD et dans les effets renforçants de l'alcool. La libération de DA dans le noyau accumbens (NAcc), structure centrale du circuit cérébral de la récompense, relaie les effets plaisants de la prise d'alcool et attribue une valeur « incitatrice » aux stimuli récompensants, guidant ainsi le processus de choix. Les principales théories actuelles de l'addiction suggèrent que la modification de la transmission DAergique dans ce système pourrait être à l'origine des troubles caractéristiques de la maladie, notamment par l'attribution d'une valeur aberrante à la drogue, conduisant à une PdD inadaptée et une prise compulsive d'alcool. Des études récentes montrent que le *BD* pourrait impacter cette transmission de manière importante, mais les connaissances restent très limitées, et les modèles précliniques utilisés souffrent d'un manque de validité par rapport au phénomène observé chez l'Homme.

Dans ce contexte, il apparait fondamental de mieux comprendre l'interaction entre BD, capacités de PdD, et transmission DAergique mésolimbique ; et ce en tenant compte des potentielles différences liées au sexe.

Au cours de cette partie de contexte scientifique, nous nous intéresserons dans un premier temps au problème de santé publique majeur posé par le *BD*, ses conséquences, et les facteurs de vulnérabilité au développement de ce comportement. Dans un deuxième temps, nous nous intéresserons à la fonction de PdD, sa mesure chez l'Homme et le rongeur, les facteurs l'influençant, et son fonctionnement neurobiologique. Dans une troisième partie, nous décrirons ensuite le système DAergique mésolimbique, et son implication à la fois dans le processus de PdD et dans les effets neurobiologiques de l'alcool et du *BD*. Enfin, dans une dernière partie, nous décrirons l'état des connaissances actuelles concernant les capacités de PdD dans le cadre de l'addiction à l'alcool et le *BD*.

Chapitre 1 : Alcool et *Binge Drinking*, problèmes de santé publique majeurs

A. La problématique globale de l'alcool en France

1. Une drogue ancrée dans la culture et la tradition française

L'alcool est une substance psychoactive d'origine naturelle, obtenue par la fermentation alcoolique anaérobie de sucres végétaux en éthanol (ou alcool éthylique, $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) (EtOH). On désigne ainsi par extension comme « alcool » toute boisson contenant cette molécule, avec un regroupement en différentes catégories selon le processus de fabrication utilisé (on distingue ainsi spiritueux, vins, bières, cidres et autres alcools). L'alcool occupe une place ubiquitaire et très spéciale dans notre société, ancrée dans notre culture, et plus particulièrement le vin qui constitue l'un des symboles de la gastronomie et de la tradition française. Véritable « lubrifiant social », l'alcool est devenu une norme festive, associé régulièrement à la convivialité familiale et amicale mais aussi quasi-systématiquement à de nombreux événements de notre vie sociale : naissances, mariages, succès professionnels ou personnels... La filière alcool en France présente ainsi un poids culturel majeur, mais également économique. Selon la Cour des comptes, le chiffre d'affaires de cette filière représenterait plus de 22 milliards d'euros en 2013. L'INSEE (Institut National de la Statistique et des Etudes Economiques) a rapporté que les ménages français en 2015 ont consacré 20,7 milliards d'euros, soit 1,3% de leur budget, aux boissons alcoolisées et sont les huitièmes plus gros consommateurs d'alcool dans le monde. L'alcool est cependant une substance extrêmement toxique lorsqu'elle consommée excessivement, et cette représentation positive qu'elle a dans notre société rend son association au terme de « drogue » difficile auprès du grand public. Cette molécule répond pourtant à tous les critères correspondants : action sur le système nerveux central, rôle psychotrope (altération des sens et de la capacité de contrôle) et propriétés addictives. L'alcool est en ce sens une drogue « banalisée », pour laquelle la prise de conscience a été historiquement tardive et reste encore insuffisante à l'heure actuelle.

2. Les différentes formes d'usage et la notion de troubles liés à l'usage d'alcool

On distingue des formes d'usage très différentes de l'alcool, avec cinq catégories d'usage chez l'adulte, deux considérées comme non-problématiques et les trois autres comme un mésusage ou usage à problèmes (Naassila, 2017) (Figure 1). Parmi celles non-problématiques, le non-usage est caractérisé par une absence totale de consommation d'alcool, tandis que l'usage est défini par une consommation présentant un risque (de dommages médicaux, psychologiques ou sociaux ; ou d'une dépendance) considéré comme « acceptable » pour l'individu et la société. Il n'y a cependant pas de risque « nul » quand il s'agit d'alcool, et il existe ainsi des repères de consommation. En France, le seuil de faible risque associé à un usage ponctuel a été défini par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme une consommation n'excédant pas quatre verres par occasion (un verre de n'importe quelle boisson alcoolisée servie dans un débit de boissons contient 10 grammes d'alcool pur, et constitue une unité standard d'alcool), avec des recommandations de ne pas dépasser deux verres standards par jour et dix verres standards par semaine, avec une période d'abstinence d'au moins deux jours par semaine.

Les usages à problèmes regroupent l'usage à risque, l'usage nocif et l'usage avec dépendance. L'usage à risque correspond aux conduites d'alcoolisation avec une consommation supérieure au seuil de faible risque, susceptible d'induire des dommages médicaux, psychologiques ou sociaux, ou une dépendance. Il désigne également des consommations égales ou inférieures à ce seuil, mais associées à des situations à risque pour le consommateur ou les autres (conduite de véhicule, poste de travail dangereux...), ou exposant à des risques spécifiques (consommations associées à d'autres produits psychoactifs, dans le cadre d'une maladie chronique, dans le cadre d'une grossesse...). L'usage nocif correspond à une consommation sans dépendance, ayant déjà conduit à au moins un dommage médical, psychologique ou social. Cet usage ne se repose pas sur des niveaux de consommation, mais sur les dommages produits par celle-ci. L'usage avec dépendance, ou alcoolodépendance, correspond à tous les niveaux de consommation conduisant à une perte du contrôle de celle-ci. Il n'y a pas de notion de fréquence ou de seuil, chaque individu présentant une vulnérabilité propre aux effets de l'alcool. Il s'agit de la forme la plus sévère de mésusage, qui est définie comme une addiction à l'alcool, maladie chronique et hautement récidivante. Historiquement, elle est caractérisée par une dépendance à la fois physique et

psychique à la substance. La dépendance psychique correspond à un désir urgent et irréprensible de consommer, décrit en addictologie sous le terme anglo-saxon de « *craving* », tandis que la dépendance physique est caractérisée par l'apparition d'un syndrome de sevrage. Celui-ci survient après l'arrêt de la consommation et se présente sous la forme de symptômes caractéristiques (tremblements, anxiété, dépression...), pouvant se compliquer jusqu'à un trouble neurologique sévère de type *delirum tremens*. Cependant, cette dichotomie psychique / physique n'est plus d'actualité et on parle maintenant d'un trouble dimensionnel dont la sévérité va dépendre de la présence de plusieurs critères de diagnostic.

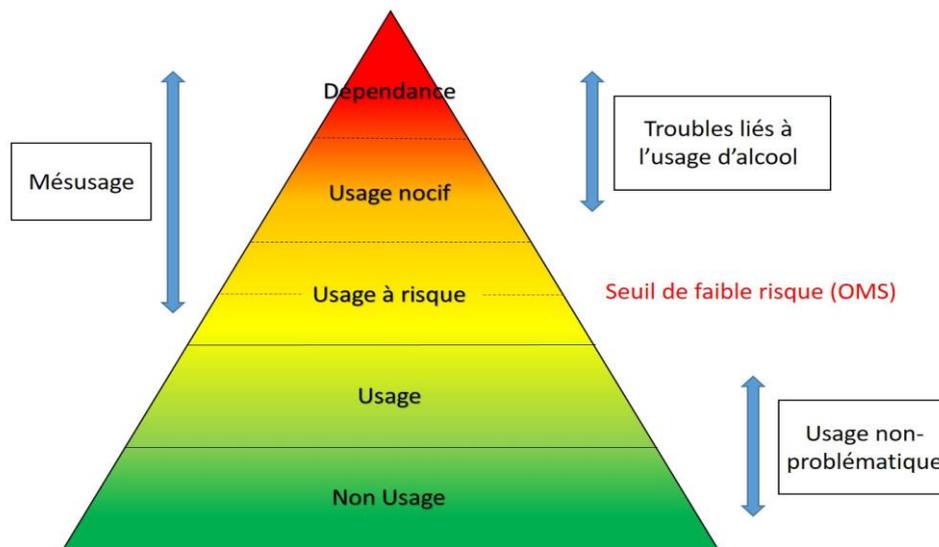


Figure 1 : Pyramide de Skinner représentant les différentes formes d'usage de l'alcool (adapté de Naassila 2017).

Les « troubles liés à l'usage d'alcool », sont représentés par l'usage nocif et avec dépendance, et sont caractérisés par un ensemble de symptômes cognitifs, comportementaux et physiologiques indiquant une consommation poursuivie malgré le fait qu'elle engendre des problèmes significatifs. Dans sa classification internationale des maladies (CIM), l'OMS distingue l'usage nocif et la dépendance comme deux niveaux de sévérité. La dernière version du Manuel Diagnostique et Statistique des troubles Mentaux (DSM-5), publiée en 2013, ne dichotomise plus usage et dépendance, et parle de « trouble de l'usage d'alcool » (TUA), ou Alcohol Use Disorders (AUD). Il y est caractérisé par un niveau de sévérité selon la présence de onze critères : TUA faible si au moins deux critères présents, TUA modéré si au moins quatre

critères présents, et TUA sévère si au moins six critères présents. Au cours de cette thèse, nous ferons référence au même processus en parlant d'addiction à l'alcool, alcoolodépendance, TUA ou AUD.

3. Épidémiologie de l'usage d'alcool en France

Dans ce contexte, les chiffres de consommation en France sont alarmants. Selon l'OFDT (Observatoire Français des Drogues et des Toxicomanies), 11,5 L d'alcool pur par habitant âgé de 15 ans ou plus ont été consommés en 2017, soit l'équivalent d'une moyenne de 2,5 unités standards d'alcool par jour, et près de deux fois plus que la moyenne mondiale de 6,2 L. Il rapporte également un usage quotidien de boissons alcoolisées concernant 10% des adultes de 18 à 75 ans (15% des hommes et 5% des femmes), et 8,4% de consommateurs réguliers (au moins trois consommations dans la semaine) parmi les jeunes de 17 ans (12% des garçons et 5% des filles). En 2017, 24% des 18-75 ans, soit 10,6 millions de personnes, dépassent les seuils de consommation à faible risque recommandés. Le mésusage de boissons alcoolisées touche ainsi environ 10% de la population générale française, soit 2 millions de dépendants et 3 millions de personnes à risque de le devenir. Les dommages sanitaires et économiques sont colossaux. En France, l'usage nocif d'alcool constitue la deuxième cause de mortalité prématurée, avec 41000 morts attribuables à l'alcool chaque année, dont 30000 décès chez les hommes et 11000 décès chez les femmes, soit respectivement 11% et 4% de la mortalité des adultes de 15 ans et plus (Bonaldi and Hill, 2019). Dans le monde, l'OMS rapportait en 2012 une mortalité de 3,3 millions de personnes chaque année, soit 5,9% des décès, plus que le sida, la tuberculose et la violence interpersonnelle réunis. D'un point de vue économique, le « coût social » à la fois externe (valeur des vies humaines perdues, perte de production...) et pour les finances publiques (prévention, répression et soins, taxes...) est estimé par l'OFDT s'élever à la valeur vertigineuse de 120 milliards d'euros par an en France, ce qui représente environ 1,3% du PIB du pays.

Le mésusage d'alcool constitue ainsi un problème de santé publique majeur, dans une société où il jouit pourtant souvent d'une image positive malgré un lourd tribut socio-économique et individuel. Une façon de consommer, véritable phénomène de société aux effets désastreux et répandu dans les pays anglo-saxons, les pays nordiques et aujourd'hui en

France ; pose un nouveau problème à l'heure actuelle, touchant tout particulièrement la population jeune mais également les adultes : le *Binge Drinking*. Cette thèse se focalisera principalement sur ce mode de consommation.

B. Le *Binge Drinking*, nouvelle problématique de santé

1. Épidémiologie du *Binge Drinking* en France

Le *BD*, ou encore « biture express » ou « alcool défonce », est une pratique de consommation à risque, massive, par épisodes ponctuels et répétés. Elle consiste essentiellement à boire de l'alcool en très grandes quantités et très rapidement, dans le but d'atteindre l'ivresse voire le coma le plus vite possible (Courtney and Polich, 2009). Il s'agit d'une pratique notamment très courante chez les adolescents et dans le monde étudiant, où l'alcool coule souvent à flots pendant les fêtes et beaucoup boire est devenu une pratique valorisée et une manière de s'intégrer socialement, donnant même naissance à des concours de consommation. L'OFDT a lancé depuis 2000 une série d'enquêtes épidémiologiques en lien avec la Direction du Service National et de la Jeunesse (DSNJ), permettant tous les trois ans d'interroger les jeunes de 17 ans réalisant leur Journée d'Appel de Préparation à la Défense sur leur consommation de produits psychoactifs (Enquête sur la santé et les consommations lors de l'appel de préparation à la défense, ESCAPAD). Les épisodes d'alcoolisation y sont décrits sous le terme « d'alcoolisation ponctuelle importante » (API). Les API ne sont pas associées par les auteurs de l'enquête à du « *Binge Drinking* ». Les résultats de la dernière enquête réalisée en 2017 révèlent que près de la moitié des jeunes de 17 ans (44%) disent avoir connu un épisode d'API (mesurée ici par la consommation d'au moins cinq verres d'alcool en une occasion) au cours du dernier mois, sensiblement moins que 2014 avec 48,8% (Spika & al, 2018). Pour ce qui est des API répétées (au moins trois épisodes au cours du dernier mois), 16,4% des jeunes ont déclaré avoir été dans cette situation (contre 21,8% en 2014), tandis que les API régulières, c'est-à-dire répétées au moins 10 fois, n'ont concerné qu'une faible part des adolescents (2,7%, comme en 2014). De manière intéressante, l'étude révèle également que chez les adolescents ayant bu au moins une boisson alcoolisée le mois précédent, la consommation s'est faite très majoritairement en week-end (90,5%) et une fois

sur deux lors d'un évènement particulier (fête, anniversaire...), très largement en présence d'amis (90,1%) et très rarement en solitaire (2,5%). Ces chiffres confirment la dimension sociale du phénomène, et comment la pression engendrée peut amener à consommer des quantités exagérées d'alcool.

Contrairement aux idées reçues et bien qu'ils soient les plus concernés, les jeunes ne sont pas les seuls « adeptes » de cette pratique, qui touche en réalité toutes les générations. Selon les chiffres de l'OFDT en 2017, 16% des 18-75 ans ont déclaré avoir bu au moins six verres en une seule occasion au cours du mois précédant l'enquête (Figure 2). L'étude baromètre de santé de l'Institut National de Prévention et d'Education pour la Santé (INPES) en 2014 révèle que 14% des 15-24 ans, mais aussi 10% des 25-34 ans et 6% des 35-44 ans ont pratiqué le *BD*. Le bulletin épidémiologique hebdomadaire de l'Institut de Veille Sanitaire (InVS) de 2015 révélait également une augmentation des hospitalisations pour alcoolisation aiguë concernant plutôt les adultes d'âge mûr (en moyenne 43 ans) entre 2006 et 2012, tandis qu'elles sont restées stables chez les plus jeunes. Enfin, dans une étude récente, 14,4% des adultes de plus de 50 ans ont reporté un épisode de *BD* au cours du mois précédent l'enquête (Han *et al.*, 2018). Il s'agit donc d'un phénomène touchant l'ensemble de la population, et ne devant pas être limité aux populations jeunes

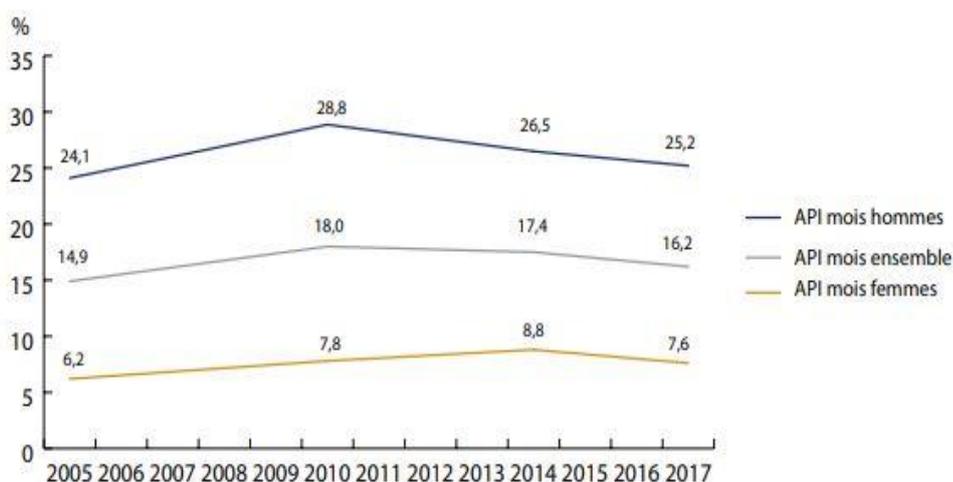


Figure 2 : Pourcentage de la population française des 18-75 ans ayant déclaré avoir consommé six verres en une même occasion (API, Alcoolisation Ponctuelle Importante) depuis 2005 (extrait de OFDT 2019).

2. Le problème du manque d'une définition précise et complète

Le *BD* est un mode de consommation d'alcool caractérisé par son intensité, sa fréquence, mais également par la présence d'épisodes d'abstinence plus ou moins longs, le distinguant d'autres mésusages, notamment de la dépendance à l'alcool caractérisée par un usage quotidien (Rolland *et al.*, 2017). L'existence d'une dépendance est d'ailleurs un critère d'exclusion qui n'est pas toujours utilisé dans les études cliniques portant sur le *BD*, ce qui peut aboutir au ciblage de mauvaises populations (Jeanblanc *et al.*, 2018). Il n'existe pas à l'heure actuelle de définition claire et précise du *BD*, les critères pouvant varier entre les différents organismes de santé. Les enquêtes nationales en France citées plus haut utilisent la définition française de cinq à six verres par occasion en parlant d'API (mais pas de *BD*). Il est important de prendre en compte que la mesure des unités d'alcool peut différer d'un pays à l'autre : une unité standard va ainsi correspondre à 10g d'alcool pur en France, alors qu'elle correspond à 14g pour les Etats-Unis. L'OMS définit officiellement le *BD* comme la consommation d'au moins 60g d'alcool pur au cours d'au moins une occasion par mois, soit six verres ou plus dans la plupart des pays (OMS, 2014) ; tandis que le *National Institute on Alcoholism and Alcohol Abuse (NIAAA)* le définit comme un mode de consommation amenant une concentration d'alcool dans le sang supérieure à 0,8 g/L, soit typiquement quatre verres standards américains (56g) chez la femme et cinq verres standards américains (70g) chez l'homme en moins de deux heures (Courtney and Polich, 2009). Les deux définitions s'appuient essentiellement sur une notion de seuil, et celle du NIAAA utilise une notion de vitesse de consommation qui n'existe pas dans celle de l'OMS.

Ces différences conceptuelles de définition peuvent aboutir au ciblage de profils cliniques et de niveaux de sévérité différents, une étude récente montrant notamment que celle du NIAAA cible des sujets avec des habitudes de consommation et des conséquences plus lourdes (Rolland *et al.*, 2017). Ces définitions restent de plus assez limitées dans la caractérisation d'un comportement complexe, et il semblerait que les populations de *bingers* étudiées et leur phénotype soient très hétérogènes et ne doivent pas être considérées comme un groupe unique. Des données récentes suggèrent ainsi une sous-division des *bingers* selon des dimensions de personnalité et de genre, avec au moins deux types de personnalités distinctes se rapprochant du modèle biosocial de la personnalité de Cloninger (type 1 de haut évitement et type 2 de haute recherche de la nouveauté) (Gierski *et al.*, 2017), mais aussi selon des motifs

de consommation et des niveaux d'impulsivité différents (Lannoy *et al.*, 2017). De plus, les définitions actuelles n'explorent pas d'autres critères directement impliqués dans la sévérité du comportement, comme la quantité d'alcool consommée en moyenne lors des épisodes de *BD* ou encore la fréquence de ces épisodes et des périodes d'abstinence, ces dernières jouant notamment un rôle dans les dégâts cognitifs provoqués (Reynolds *et al.*, 2015). La fréquence est notamment importante puisqu'elle permet la distinction de populations de *bingers* (fréquents et non fréquents), et il apparaît de plus en plus que le *BD* chronique (sur de nombreux mois ou années) est un facteur de risque d'addiction (Crabbe, Harris and Koob, 2011; Kuntsche *et al.*, 2017). La vitesse d'intoxication est également un facteur crucial, particulièrement à jeun, la consommation rapide d'alcool entraînant un passage dans le sang plus rapide et pouvant aboutir à une augmentation de l'éthanolémie à une vitesse ayant des conséquences très dangereuses (Smith *et al.*, 2017). De plus, les seuils établis ne reflètent pas forcément les quantités massives pouvant être consommées, et de nouveaux ont récemment été proposés, allant jusqu'à décrire des « *bingers* de l'extrême » pouvant dépasser les 168g d'alcool pur chez la femme et 210g chez l'homme en une seule occasion (Hingson, Zha and White, 2017). Enfin, des recherches ont permis d'élaborer une définition plus comportementale. Townshend et Duka ont proposé un score de *BD* se calculant sur le nombre de verres par heure, le nombre d'ivresses, et le pourcentage de consommations aboutissant à l'ivresse sur les six derniers mois ; un score supérieur à 24 permettant de catégoriser un *binger* et un seuil inférieur à 16 un buveur social (Townshend and Duka, 2002).

C. *Binge Drinking* : conséquences, neurobiologie et vulnérabilité

1. Conséquences du *Binge Drinking*

Les conséquences du *BD* sont nombreuses et désastreuses pour la santé, notamment pour le système nerveux central qui sera notre centre d'intérêt. Le problème est d'autant plus important du fait de sa prévalence dans la population adolescente et jeune, à un âge où le cerveau n'est pas encore mature et toujours en période de développement (qui se poursuit jusqu'aux alentours de 20 à 25 ans). Pendant celle-ci, il subit encore des processus importants comme « l'élagage » synaptique (processus d'élimination de connexions inutiles et maintien

d'autres, ainsi que de renforcement et création de nouvelles), aboutissant à des changements de volume et densité dans la matière grise (diminution) et la matière blanche (augmentation) (Østby *et al.*, 2009). La période de l'adolescence est également caractérisée par la maturation tardive du cortex préfrontal, impliqué notamment dans le contrôle inhibiteur (Giedd *et al.*, 1999), et son développement asynchrone avec les structures impliquées dans l'émotion et la récompense en font une période de plus forte prise de risque et de recherche de nouveauté, aboutissant à une plus forte probabilité de comportement à risque comme la consommation d'alcool (Casey, Jones and Hare, 2008). Il résulte ainsi de cette période une sensibilité accrue aux effets de l'alcool, qui a notamment été bien démontrée chez le rat en recherche fondamentale, une étude ayant notamment mis en évidence qu'une exposition de type *BD* tuerait 2 à 3 fois plus de neurones chez le rat adolescent que chez le rat adulte (Monti *et al.*, 2005). Un tel contexte constitue ainsi un problème de santé publique des plus préoccupants, et la grande majorité des études de la littérature scientifique concernant le *BD* se focalise par conséquent sur l'adolescence, que ce soit chez l'Homme (chez l'adolescent ou le jeune adulte) ou l'animal (modèle d'exposition intermittente à l'alcool de type *BD* durant l'adolescence).

a. Conséquences à court et moyen terme

Les risques immédiats à court terme sont nombreux et bien connus : pancréatite aiguë, perte de mémoire (« *blackout* »), coma éthylique, perte de contrôle impliquée dans des blessures, agressions physiques et sexuelles, mais aussi des comportements à risque tels que des rapports sexuels non protégés, consommation d'autres substances psychoactives ou encore conduite en état d'ivresse... Un plus grand risque pour de nombreuses conséquences a ainsi été associé avec l'augmentation de la quantité d'alcool consommée et de la fréquence des épisodes de *BD* (Esser *et al.*, 2015). A moyen terme, les conséquences sur la mémoire sont parmi les plus sévères. Notre laboratoire a notamment montré récemment chez le rat, dans un modèle mimant deux épisodes d'alcoolisation de type « *binge* » rapprochées chez l'Homme, que deux injections intra-péritonéales (EtOH 20% 3g/kg, aboutissant à une éthanolémie de 2g/L) suffisent pour abolir 48h après la dépression à long terme (DLT) dans l'hippocampe, un processus cellulaire fondamental de la mémoire (Ferron *et al.*, 2015). Des intoxications répétées peuvent également aboutir à une mauvaise tolérance au stress et à des

troubles du comportement (repli, affect négatif, agressivité...), pouvant aller jusqu'à un état anxio-dépressif, voire suicidaire. Il a été notamment rapporté que le risque de suicide est augmenté chez les jeunes adultes (18-25 ans) *bingers*, surtout en cas de solitude (Gonzalez, 2013).

b. Conséquences à long terme

La répétition prolongée des alcoolisations entraîne des modifications à long terme importantes, avec un impact cérébral aussi bien morphologique que fonctionnel (pour revue, (Jones, Lueras and Nagel, 2018)) (Figure 3). Les études cliniques d'imagerie par résonance magnétique fonctionnelle (IRMf) mettent en évidence des atteintes de la structure cérébrale au niveau morphologique. La plupart d'entre-elles montrent ainsi que le *BD* provoquerait à l'adolescence une diminution du volume et de l'épaisseur de la matière grise, particulièrement au niveau frontal et temporal (Mashhoon *et al.*, 2015; Pfefferbaum *et al.*, 2016), bien que certaines aient observé des résultats opposés avec un plus gros volume dans d'autres structures, comme le striatum ventral, le thalamus ou le cortex cingulaire (Howell *et al.*, 2013; Doallo *et al.*, 2014). Un plus haut score d'AUDIT a également été associé à un plus petit volume de matière grise dans le lobe frontal (Kvamme *et al.*, 2016), l'amygdale et l'hippocampe (Howell *et al.*, 2013). De multiples études longitudinales suggèrent notamment que certaines de ces différences morphologiques pourraient être présentes avant le *BD*, et s'aggravaient après l'initiation de la consommation (Luciana *et al.*, 2013; Squeglia *et al.*, 2014, 2015). En revanche, il a été montré de manière constante une atténuation de l'augmentation du volume de la matière blanche, censée se poursuivre au cours de la maturation, chez les adolescents *bingers*, au niveau frontal (Pfefferbaum *et al.*, 2016), de l'hippocampe (Nagel *et al.*, 2005) ou encore du cervelet (Lisdahl *et al.*, 2013). Notre laboratoire a montré par l'étude spécifique de la substance blanche, en utilisant l'imagerie par tenseur de diffusion (DTI), que l'anisotropie fractionnelle (marqueur de l'intégrité structurale) est réduite dans plusieurs parties du corps calleux chez les *bingers* (Smith *et al.*, 2017). Cette étude a également montré que les atteintes observées étaient corrélées à des atteintes cognitives mesurées dans une tâche de mémoire de travail. Des atteintes de la microstructure de la substance blanche ont également été mises

en évidence chez les *bingers* dans un grand nombre de régions frontales, pariétales, temporales, sous-corticales et cérébelleuses (Mcqueeny *et al.*, 2009).

Au niveau fonctionnel, le *BD* est souvent associé à une dégradation du fonctionnement cognitif, comme observé lors de différentes tâches cognitives lors de mesures en électroencéphalographie (EEG) et IRMf. Une étude d'EEG utilisant une tâche cognitive auditive simple a ainsi mis en évidence des performances moindres et un « ralentissement cérébral » chez des jeunes *bingers* de 19 ans après seulement 9 mois de *BD* (Maurage *et al.*, 2009). Des travaux récents comparent même les effets du *BD* à celui d'un vieillissement prématuré, des jeunes *bingers* de 19 ans ayant montré des performances similaires à des individus de 69 ans dans des tâches mesurant les fonctions exécutives (Sanhueza *et al.*, 2011). De manière intéressante, des perturbations cognitives majeures ont été observées dans une tâche cognitive visuelle (*visual oddball task*) chez des *bingers* de 19-24 ans, et ce de manière plus importante que pour une consommation d'alcool quotidienne, même pour des niveaux similaires (Maurage *et al.*, 2012). Ces résultats montrent l'impact des épisodes d'abstinence dans le cadre du *BD* sur le fonctionnement cérébral cognitif. Globalement, des perturbations (une augmentation ou une diminution de l'activation) ont été identifiées au niveau des régions cérébrales impliquées dans un grand nombre de fonctions cognitives comme la mémoire de travail (Townshend and Duka, 2005; Squeglia *et al.*, 2012; Campanella *et al.*, 2013), l'encodage verbal (Schweinsburg *et al.*, 2012), la prise de risque et la réponse à la récompense (Worbe *et al.*, 2014; Cservenka, Jones and Nagel, 2015; Jones, Cservenka and Nagel, 2016), le contrôle inhibiteur (Mahmood *et al.*, 2013; Wetherill *et al.*, 2013) ou encore l'attention et l'apprentissage (Hartley, Elsabagh and File, 2004; Townshend and Duka, 2005); chez les adolescents *bingers* par rapport à des adolescents non *bingers*. Il est néanmoins souvent difficile de savoir si ces atteintes observées sont essentiellement liées à la consommation d'alcool, ou si certaines anomalies déjà initialement présentes ont contribué à ces atteintes, ce qui démontre la nécessité des études longitudinales.

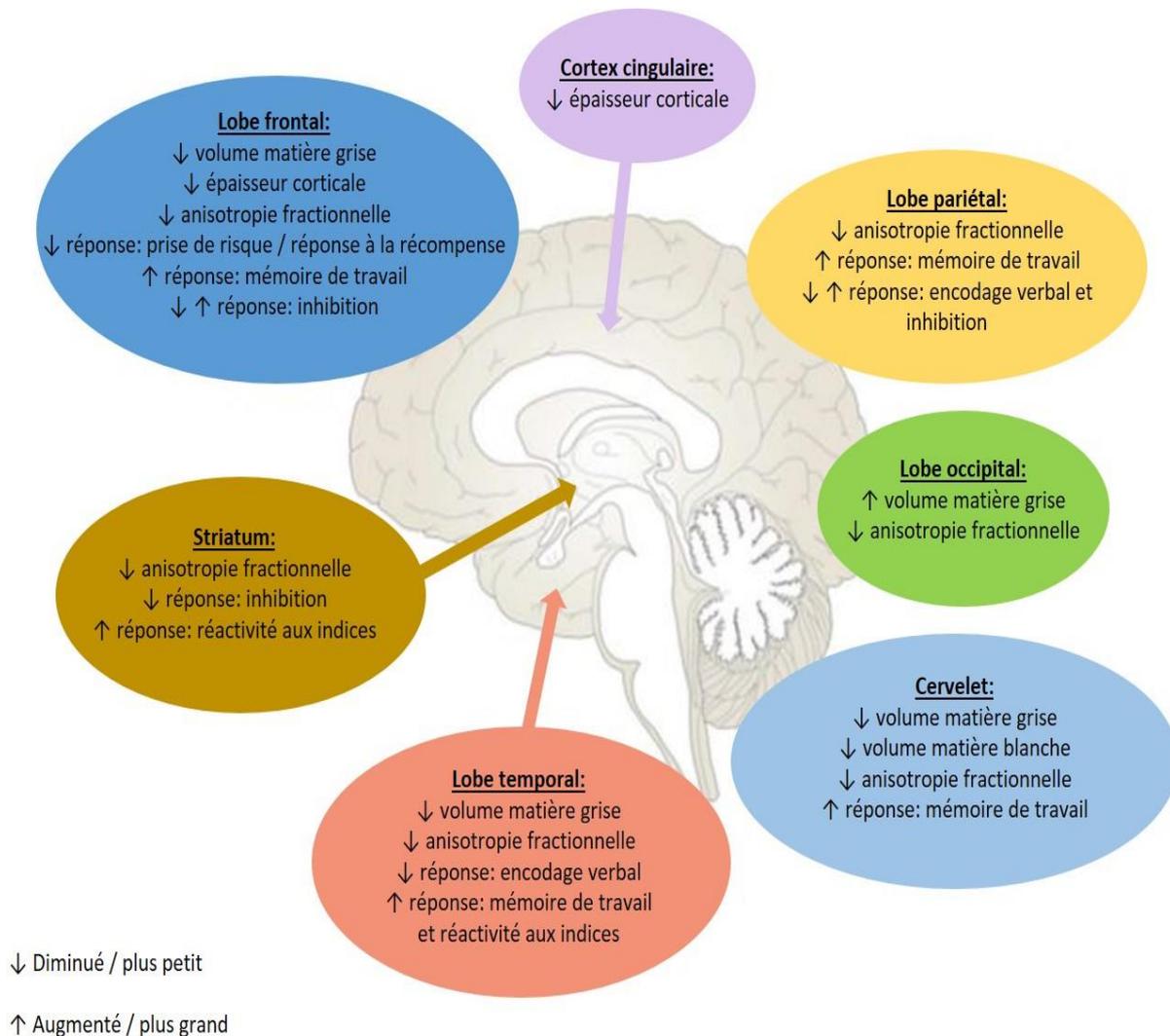


Figure 3 : Résumé schématique des principaux résultats obtenus dans les études sur les conséquences morphologiques et fonctionnelles du BD (adapté de Jones et al. 2018).

Outre les conséquences morphologiques et fonctionnelles, de plus en plus de données cliniques et précliniques suggèrent que le *BD* est un facteur de vulnérabilité au développement futur d'une addiction. Il est intéressant de noter que les dysfonctions cérébrales observées dans les études citées précédemment sont, même si souvent moins sérieuses, très similaires à celles observées chez les sujets alcoolodépendants (Petit *et al.*, 2014). Des études épidémiologiques présentent que le *BD* chez les jeunes est associé à un risque accru de TUA à l'âge adulte (Townshend and Duka, 2002; Kuntsche *et al.*, 2017). En recherche préclinique, il a été montré dans un modèle d'injections répétées à l'adolescence de type *binge*, que ce risque accru serait possiblement lié à une sensibilisation des circuits neuronaux de l'addiction, ainsi qu'une plasticité anormale des processus d'apprentissage liés

à la récompense et une modification de mécanismes épigénétiques (Pascual *et al.*, 2009; Guerri and Pascual, 2010). Il est important de souligner que l'intermittence qui est une caractéristique forte du comportement de *BD*, avec des alternances de fortes consommations et de périodes d'abstinence, serait un des critères clés de la toxicité et de la vulnérabilité à l'addiction (Spear, 2020). En utilisant le même modèle, notre laboratoire a montré une motivation exacerbée à consommer chez le rat une fois adulte, ainsi qu'une perte de contrôle de cette consommation (Alaux-Cantin *et al.*, 2013), s'expliquant probablement par les altérations précédemment décrites. Cette plus grande vulnérabilité à consommer à l'âge adulte a déjà été mise en évidence dans d'autres études (Pandey *et al.*, 2014), mais ce phénomène est observé de manière inconstante. Ces études s'ajoutent à l'ensemble de la littérature scientifique décrivant chez l'animal un phénomène de « rétention du phénotype adolescent » après une exposition chronique à l'alcool durant l'adolescence. Celui-ci se traduit notamment par le maintien à l'âge adulte d'une sensibilité accrue aux effets récompensants de l'alcool (Toalston *et al.*, 2014; Varlinskaya, Truxell and Spear, 2014), d'une sensibilité moindre à ses effets indésirables (sédation, aversion...) (Vetter-O'Hagen, Varlinskaya and Spear, 2009), d'une diminution de l'anxiété liée au sevrage aigu (ou « gueule de bois ») (Varlinskaya and Spear, 2004), ou encore d'une plus forte prise de risque (Nasrallah *et al.*, 2011; Boutros *et al.*, 2015). Enfin, il est maintenant mis en évidence que plus l'initiation de la consommation d'alcool est précoce, plus le risque de survenue d'une dépendance est élevé, du fait de la vulnérabilité toute particulière du cerveau en période de maturation. Une étude du SAMHSA (*Substance Abuse and Mental Health Services Administration*) aux Etats-Unis a ainsi par exemple établi que des adolescents ayant expérimenté l'alcool à 14 ans, présentent un risque plus important de devenir alcoolodépendants que des adolescents avec une initiation à 21 ans et plus (SAMHSA 2011).

2. Neurobiologie générale du *Binge Drinking*

Les cibles primaires de l'EtOH sont maintenant mieux identifiées. Il possède la particularité, comparé aux autres drogues, de ne pas présenter de récepteur spécifique, et agit sur un ensemble de récepteurs et systèmes de neurotransmission / neuromodulation (Abrahamo, Salinas and Lovinger, 2017) (Figure 4).

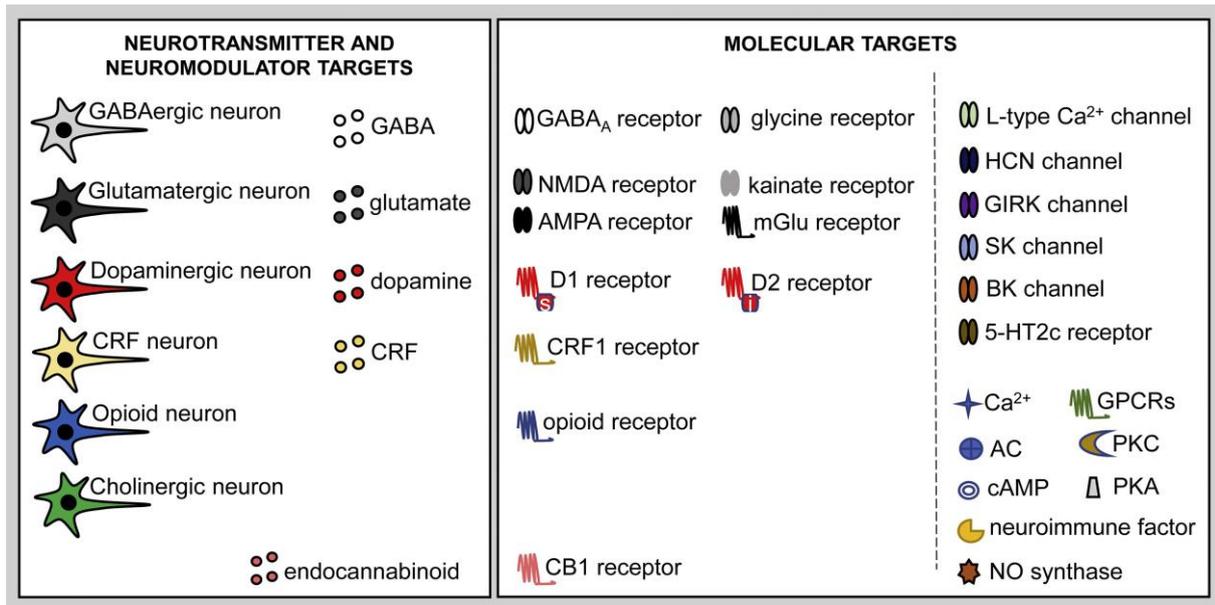


Figure 4 : Principaux systèmes de neurotransmission / neuromodulation et molécules ciblées par l'EtOH (extrait de Abrahamo, Salinas and Lovinger 2017).

Après l'action primaire de l'EtOH (à l'origine des effets subjectifs, moteurs, anesthésiques, analgésiques...) fait suite une vague d'effets indirects sur des monoamines, opioïdes et endocannabinoïdes, qui jouent un rôle crucial dans les effets récompensant de l'alcool. Bien que la neurobiologie de l'addiction à l'alcool soit maintenant bien comprise (pour revue (Goodman, 2008; Koob and Volkow, 2010), celle des effets d'une consommation particulière comme le *BD* le sont beaucoup moins et restent à élucider. De la même manière, et pour les mêmes raisons, que nous avons décrit les conséquences morphologiques, comportementales et fonctionnelles du *BD* principalement à l'adolescence et chez le jeune adulte, nous parlerons ici majoritairement de la neurobiologie des effets de cette consommation d'alcool durant cette période. Les résultats de la recherche fondamentale montrent globalement que le *BD*

est responsable au niveau neurobiologique d'atteintes neuronales, d'une neuroinflammation persistante sur le long terme, de modifications des mécanismes épigénétiques impliqués dans la régulation de l'expression des gènes, et d'atteintes de l'activité de divers systèmes de neurotransmission (pour revue, (Hiller-Sturmhöfel and Spear, 2017)).

Au niveau neuronal, il a été montré que le *BD* est responsable d'une réduction de la neurogénèse et d'une augmentation région-spécifique de dégâts et de mort cellulaire. Les régions les plus affectées seraient notamment le cortex frontal, l'hippocampe, l'amygdale, le NAcc et le cervelet (Ehlers *et al.*, 2013; Broadwater *et al.*, 2014; Vetreno and Crews, 2015). Ces effets n'ont cependant pas été observés à l'âge adulte après une exposition similaire (Broadwater *et al.*, 2014), ou dans des régions différentes (comme le cortex périrhinal, impliqué dans la mémoire explicite) et avec un effet moins prononcé (Crews *et al.*, 2000). Des atteintes ont également été observées au niveau de la connexion entre les neurones. En effet, il a été montré que le *BD* à l'adolescence entraîne la présence d'une plus grande proportion d'épines dendritiques immatures dans l'hippocampe, et de mécanismes de potentialisation à long terme anormalement robustes à l'âge adulte (Risher *et al.*, 2015). Le *BD* pourrait également être responsable d'une neuroinflammation importante par l'activation du récepteur TLR4 (*Toll-like receptor*), qui joue un rôle central dans la réponse immunitaire innée (Montesinos *et al.*, 2015). Son activation entraînerait ainsi l'expression de facteurs de transcription promouvant à leur tour l'expression de cytokines et autres médiateurs de l'inflammation. De cette manière, la neuroinflammation produite pourrait contribuer aux dégâts associés à la consommation excessive d'alcool.

Plusieurs études se sont aussi intéressées aux effets du *BD* sur la modification de mécanismes épigénétiques régulant l'expression génique, qui peuvent contribuer aux effets comportementaux et neurologiques de l'alcool. Il a notamment été observé chez l'animal une altération dans l'acétylation des histones H3/H4, qui influencent à leur tour la méthylation de l'ADN et le niveau d'expression génique, dans des structures impliquées dans la mémoire, la PdD ou encore les réactions émotionnelles (Pascual *et al.*, 2009, 2012). De même, notre laboratoire a récemment montré que les atteintes de la plasticité synaptique hippocampique qui avaient été observées 48h après deux *binges* d'alcool, et faisant intervenir la sous-unité GluN2B du récepteur N-méthyl-D-aspartate (NMDA) au glutamate (Ferron *et al.*, 2015), pourraient être liées à une modulation de l'expression génique des sous-unités GluN2A et

GluN2B par l'histone désacétylase 2 (Drissi *et al.*, 2019). Enfin, les effets région et dose-spécifiques de l'alcool proviennent de son interaction directe et indirecte avec les systèmes de neurotransmission majeurs du cerveau (pour revue, (Alfonso-Loeches and Guerri, 2011)). Le *BD* a ainsi été montré responsable de diverses perturbations dans les systèmes GABAergique, glutamatergique, DAergique, cholinergique, sérotoninergique, opioïdérique ou encore de la taurine (pour revue, (Ward, Lallemand and de Witte, 2009; Hiller-Sturmhöfel and Spear, 2017)). La corrélation de ces perturbations avec les différentes atteintes cognitives et comportementales provoquées par le *BD* reste néanmoins mal connue à l'heure actuelle. L'étude des effets de l'alcool et du *BD* sur le système DAergique mésolimbique est notamment particulièrement importante, du fait de son rôle central dans l'aspect récompensant des stimuli physiologiques (nourriture, activité sexuelle) et pathologiques (drogues), et de ce fait dans l'acquisition du renforcement et le comportement dirigé vers un but. Plusieurs principales théories actuelles de l'addiction impliquent notamment une dérégulation de ce système dans la perte de contrôle de la consommation. Par exemple, la théorie des « processus opposants », ou théorie de « l'allostasie hédonique », stipule que sa dérégulation chronique par l'alcool est contrebalancée par des processus neuroadaptatifs, de plus en plus forts au fil des répétitions (Solomon and Corbit, 1974; Koob and Le Moal, 2001). En l'absence de drogue, ces processus opposants persistent et le système finit par être régulé à la baisse vers un nouvel état d'équilibre (mais différent de l'état initial homéostatique), ou allostasie, caractérisé par un état hypoDAergique qui se traduit par un mal-être émotionnel (ou dysphorie) et une hyperexcitabilité liée au « démasquage » des neuroadaptations qui ont eu lieu.

3. Facteurs de vulnérabilité au *Binge Drinking*

Comme décrit précédemment, il existe une large documentation de l'impact du *BD* sur le fonctionnement cérébral et cognitif, mais nous ne sommes cependant pas tous égaux face à l'alcool et certaines personnes sont plus sensibles que d'autres aux risques liés à sa consommation, mais aussi au risque de l'initier. La principale limite des études transversales, comme certaines citées sur les effets du *BD* sur la cognition, est d'établir si les atteintes cérébrales observées sont principalement dues à l'alcool ou si ces anomalies existent déjà

initialement et contribuent à une vulnérabilité plus forte aux effets de l'alcool. Dans ce contexte, les études longitudinales sont nécessaires et indispensables et l'un des principaux enjeux actuels est donc de comprendre quels sont ces facteurs et comment ils peuvent contribuer à la vulnérabilité d'individus « à risque ». Ce champ d'étude reste encore à l'heure actuelle relativement peu élucidé, et il semblerait que la vulnérabilité au *BD* dépende de l'interaction complexe entre différents facteurs :

- Individuels : génétique (sexe, différence de pharmacocinétique, pharmacodynamisme, polymorphisme génétique du gène codant pour l'alcool déshydrogénase, ADH, impliquée dans le catabolisme de l'alcool...), histoire familiale de TUA, facteurs psychologiques et de personnalité (facteurs thymiques, impulsivité, recherche de sensations, réactivité au stress...).
- Environnementaux : stress, environnement social et familial, publicité...
- Socioculturels : pression des pairs, consommation de l'entourage, éducation des parents, représentation, acceptabilité et tolérance vis-à-vis de l'alcool...

Nous nous intéresserons toutefois dans cette partie essentiellement aux facteurs psychologiques et de personnalité, ainsi qu'aux différences liées au sexe.

a. Facteurs psychologiques et de personnalité

Il est maintenant suggéré que la personnalité pourrait constituer un endophénotype permettant d'identifier différents sous-types de troubles liés à l'usage de l'alcool (Oreland *et al.*, 2018), et comprendre son lien avec la pratique et l'évolution du *BD* est par conséquent très important, notamment en termes de prévention. Les principaux traits de personnalité décrits liés au comportement de *BD* sont un haut niveau d'impulsivité, une forte recherche de sensations, ainsi que des traits comme la sensibilité à l'anxiété, le neuroticisme, l'extraversion ou encore une faible conscienciosité (Adan, Forero and Navarro, 2017).

L'impulsivité et la recherche de sensations sont les deux traits de personnalité les plus étudiés dans leur relation avec le *BD*. L'impulsivité est caractérisée par une faible capacité de planification, des difficultés à maintenir l'attention et une tendance à prendre des risques (Lannoy *et al.*, 2017) . Elle est communément décrite comme le fait « d'agir sans penser aux

conséquences de ses actes ». La recherche de sensations est caractérisée par le besoin général d'aventure, d'excitation et de la volonté de prendre des risques dans ses expériences (Adan, Forero and Navarro, 2017). Ces deux traits sont cependant étroitement liés, la recherche de sensations pouvant parfois être considérée comme une facette de l'impulsivité ou comme un trait de personnalité distinct. Ces traits sont généralement mesurés en clinique en utilisant l'échelle de Baratt, l'échelle UPPS, ou encore le questionnaire de Zuckerman. De nombreuses études ont ainsi observé un plus haut score d'impulsivité (Mackie, Castellanos-ryan and Conrod, 2011; Leeman *et al.*, 2015; Adan, Francisco and Forero, 2016) et de recherche de sensations (Leeman, Fenton and Volpicelli, 2007; Adan, Francisco and Forero, 2016) chez les *bingers* comparé aux *non bingers*. Ces scores sembleraient d'ailleurs corrélés au nombre de verres consommés par épisode de *BD*, ainsi qu'à la fréquence de ces épisodes (Doumas, Miller and Esp, 2017). Il est intéressant de noter que les plus hauts niveaux d'impulsivité et de recherche de sensations sont retrouvés chez les hommes (Adan, Francisco and Forero, 2016). Cependant, s'il existe un lien évident entre ces traits et le *BD*, la discrimination entre déficits pré-morbides présents initialement et effets de la consommation d'alcool reste impossible à l'heure actuelle, même si des études longitudinales ont obtenu des résultats intéressants à ce sujet. Une étude récente a montré par exemple que seule une certaine composante de l'impulsivité (impulsivité motrice) prédisait le nombre de verres consommés en une occasion chez des jeunes lors du dernier mois (Henges and Marczinski, 2013). Une autre étude a observé quant à elle que seule l'impulsivité motrice mesurée par l'échelle de Baratt, ainsi que la recherche d'aventure et l'intolérance à l'ennui mesurées par le questionnaire de Zuckermann, étaient prédictives d'un comportement de *BD* (Carlson, Johnson and Jacobs, 2010). Enfin, l'impulsivité et la recherche de sensations ont déjà été décrites comme facteurs prédictifs du maintien et l'intensification de la pratique du *BD* (Ashenurst, Harden and Corbin, 2016).

La sensibilité à l'anxiété (état de trouble psychique causé par la crainte du danger), le neuroticisme (tendance persistante à l'expérience des émotions négatives), l'extraversion (caractéristique d'aller naturellement vers des personnes ou choses nouvelles) et la conscienciosité (trait consistant à être approfondi, vigilant, prudent et vouloir bien faire une tâche) sont des traits également fréquemment étudiés. Une forte extraversion est le trait le plus souvent associé au *BD*, et lié à une plus grande fréquence du comportement et de plus

nombreuses conséquences négatives (Winograd, Steinley and Sher, 2015; Lac and Donaldson, 2016). Les *bingers* présentent également généralement de faibles scores de conscienciosité (Winograd, Steinley and Sher, 2015), même si aucune relation n'a été parfois mise en évidence entre les deux (Scaife and Duka, 2009); ainsi qu'un neuroticisme plus fort, particulièrement chez les femmes (Adan, Francisco and Forero, 2016). Une comorbidité élevée entre les troubles de consommation d'alcool et les troubles anxio-dépressifs est souvent relevée, et des taux d'augmentation plus rapides de la consommation ont été reliés à la sensibilité à l'anxiété, qui semblerait pouvoir être prédictive du *BD* (Mackie, Castellanos-ryan and Conrod, 2011). D'autres résultats suggèrent cependant que les symptômes d'anxiété et de dépression seraient plutôt la conséquence du *BD* (Paljärvi *et al.*, 2009), et la relation entre les deux reste elle aussi encore assez floue à l'heure actuelle.

Comme déjà dit précédemment, Il est important de prendre en compte que la population de *bingers* présente vraisemblablement une forte hétérogénéité. Des travaux récents ont mis en évidence pour la première fois que le *BD* pourrait être associé à des dimensions de personnalité et de genre spécifiques (Gierski *et al.*, 2017), proches des types de Cloninger, et que les *bingers* ne doivent ainsi pas être considérés comme un groupe unitaire. La moitié des hommes *bingers* de l'étude étaient en effet caractérisés par un haut niveau d'impulsivité, de recherche de la nouveauté et de sensations, ainsi qu'un faible évitement du danger; tandis que l'autre moitié présentait un profil opposé. Une répartition à peu près similaire était observée chez les femmes, mais avec un haut niveau d'anxiété chez celles présentant le profil opposé.

b. Différences et vulnérabilité liées au sexe

Les données épidémiologiques montrent que les hommes sont les principales victimes de l'alcool, et pendant longtemps la consommation de ces derniers est restée nettement supérieure à celle des femmes. L'écart de consommation entre les deux s'est néanmoins nettement réduit ces dernières années, notamment chez les jeunes adultes. Les données de l'INPES montrent notamment que le *BD* régulier chez les moins de 17 ans a augmenté de 44,4% chez les filles depuis 2008, alors qu'il s'est stabilisé chez les garçons (INPES, 2014). Ces données sont particulièrement inquiétantes du fait qu'il est désormais de plus en plus mis en

évidence que les femmes seraient davantage sensibles aux effets toxiques de l'alcool. Les différences liées au sexe sont à l'heure actuelle un enjeu majeur de santé, alors que les études se focalisaient historiquement essentiellement chez l'homme. Les femmes présentent ainsi à consommation égale des atteintes cognitives plus sévères, un effet sédatif plus important ainsi qu'une sensation d'intoxication plus forte (Zeisser *et al.*, 2014; Agabio, Pisanu and Franconi, 2017). Celles qui s'engagent dans des consommations excessives d'alcool présentent des dégâts plus importants dans les régions impliquées dans la mémoire, le contrôle moteur et la perception sensitive (Ceylan-isik, McBride and Ren, 2011; Erol and Karpyak, 2015). Une diminution plus forte chez les femmes avec un TUA que chez les hommes du volume de matière grise du cortex, a par exemple été observée en IRM (Momenan *et al.*, 2012). Une étude récente a également montré que des rats femelles exposés à l'alcool présentaient une perte neuronale plus forte dans le gyrus denté de l'hippocampe (structure impliquée particulièrement dans la mémoire) que chez des rats mâles, de même qu'une mort cellulaire plus importante (Maynard *et al.*, 2018). Il a également été mis en évidence que les femmes avec un TUA présentent un risque plus élevé de suicide, accident, maladies cardio-vasculaires, cirrhose hépatique, hépatite ou encore cancer (Agabio, Pisanu and Franconi, 2017), et qu'elles tendent à développer ces troubles plus tôt et pour des consommations plus faibles que chez l'homme, démontrant un risque de mortalité plus élevé. Enfin, les profils de personnalité et motifs de consommation diffèrent également entre hommes et femmes, et il semblerait que ces dernières présentent un niveau d'anxiété ou de neuroticisme souvent plus élevé et ont une consommation plus souvent motivée par une stratégie de « coping » (stratégie d'adaptation pour faire face au stress) (Gierski *et al.*, 2017).

Ce télescopage homme-femme peut s'expliquer, au-delà des différences de morphologie et de répartition des graisses entre les deux sexes, par des différences dans l'absorption, la distribution et le métabolisme de l'alcool. Ces différences sont liées à des facteurs neurochimiques, hormonaux, génétiques et environnementaux (Agabio, Pisanu and Franconi, 2017). Les femmes métabolisent notamment l'alcool moins efficacement du fait d'une activité enzymatique plus faible de l'alcool déshydrogénase (ADH), et présentent par conséquent, à consommation égale avec les hommes, un niveau d'alcoolémie plus élevé (Ceylan-isik, McBride and Ren, 2011). Des différences liées au sexe ont également été observées dans le fonctionnement du système DAergique, de même qu'au niveau des récepteurs à l'acide γ -

aminobutyrique (GABA) et au NMDA et d'autres systèmes de neurotransmission (Agabio, Pisanu and Franconi, 2017). Il semblerait que ces différences proviennent des fluctuations hormonales d'œstrogène et progestérone liées au cycle, mais aussi à la pilule contraceptive. Ces fluctuations pourraient ainsi modifier la sensibilité des différents systèmes de neurotransmission, notamment du circuit de la récompense, et par conséquent modifier la réponse du cerveau à l'alcool.

Chapitre 2 : La prise de décision, fonction d'adaptation indispensable

A. Une fonction cognitive fondamentale à notre adaptation face à l'environnement

Nous sommes amenés constamment à faire des choix dans notre vie quotidienne, et à adopter le comportement qui nous semble le plus adapté aux situations auxquelles nous faisons face. Prendre une décision correspond ainsi très généralement à notre capacité à sélectionner une option particulière parmi plusieurs alternatives, dans le but de faire le choix qui nous soit le plus favorable dans l'immédiat ou sur le long terme (Ernst and Paulus, 2005). Faire ce choix implique de prendre en compte un contexte complexe et incertain, d'évaluer les différentes options disponibles et leurs possibles conséquences, puis d'intégrer les conséquences de l'action alors choisie pour ajuster éventuellement une décision future. L'ensemble de cette démarche nous est possible grâce à notre capacité de PdD, processus complexe fondamental à notre adaptation face à l'environnement et à notre survie. Elle met en jeu un ensemble de fonctions cognitives, affectives et motivationnelles et un grand nombre de structures cérébrales impliquées dans ces fonctions.

Comprendre comment notre cerveau prend des décisions constitue un sujet de recherche en plein essor depuis plus de 30 ans, impliquant un vaste champ de disciplines aussi variées que la psychologie, la psychiatrie, l'économie, la statistique ou encore la robotique. Avoir une PdD dite « adaptée », c'est faire face correctement à des situations inconnues, apprendre de ses erreurs et adapter son comportement en modifiant les actions inappropriées. Au contraire, une PdD « inadaptée » mène à des choix systématiquement défavorables et à des conséquences plus ou moins importantes pour l'individu et son entourage. De nombreux désordres mentaux liés à un pauvre fonctionnement exécutif sont responsables de déficits communs et de traits comportementaux spécifiques, et l'incapacité de faire le bon choix constitue une caractéristique principale de ce genre de désordre. On retrouve ainsi des atteintes de la capacité de PdD dans de nombreuses pathologies neuropsychiatriques comme le jeu pathologique (Brand, Kalbe, *et al.*, 2005; Goudriaan *et al.*, 2005), la schizophrénie (Sevy

et al., 2007), les troubles obsessionnels compulsifs (Cavedini *et al.*, 2010), les troubles d'hyperactivité et déficit attentionnel (TDAH) (Malloy-Diniz *et al.*, 2007), la maladie de Parkinson (Brand, Labudda and Kalbe, 2004), la maladie d'Alzheimer (Delazer *et al.*, 2007), ou encore l'addiction aux drogues, notamment pour la cocaïne, les opioïdes et l'alcool (Bechara *et al.*, 2001; Bechara and Damasio, 2002; Clark and Robbins, 2002; Pirastu *et al.*, 2006).

Dans ce contexte, il est ainsi important de comprendre les mécanismes et les bases neurobiologiques impliqués dans la PdD inadaptée, afin de mieux comprendre les pathologies associées et de mettre en place des stratégies thérapeutiques adaptées et efficaces.

B. Mesure expérimentale de la prise de décision

1. Chez l'Homme

a. Iowa Gambling Task

L'*Iowa Gambling Task (IGT)* est aujourd'hui le test clinique standard pour explorer les atteintes de PdD, et celui qui sera le plus abordé dans cette thèse. Il reproduit en laboratoire une situation de choix complexe, conflictuelle et incertaine, proche de celle pouvant être rencontrée dans la vie quotidienne, où les conséquences sont apprises en cours de test. Ce test a été initialement développé par Antoine Bechara, de l'équipe d'Antonio Damasio, pour apprécier des atteintes de PdD chez des patients cérébrolésés suite à des dommages du cortex préfrontal ventromédian (Bechara *et al.*, 1994). Ces patients étaient incapables de prendre des décisions favorables, et aucun des tests neuropsychologiques ne permettait à l'époque de comprendre l'origine de leurs troubles. Ces observations ont conduit à l'élaboration de l'*IGT* pour tester leur PdD en laboratoire, dans des situations de choix de la vie quotidienne pour lesquelles ils étaient déficitaires. Ces situations, toujours utilisées à l'heure actuelle, se basent sur le principe de renoncer à de fortes gratifications immédiates pour maximiser son profit sur le long terme.

L'*IGT* se présente sous la forme d'un jeu de cartes avec quatre piles d'apparence identique (A, B, C et D), parmi lesquelles le sujet doit piocher des cartes une à une, au cours de 100 essais (Figure 5). Chaque pile de carte est associée à une probabilité de gagner ou perdre une

certaines sommes d'argent, que le sujet doit détecter par « essais / erreurs ». Ce dernier dispose d'une somme initiale, et a comme seule consigne de remporter le plus d'argent possible. Il ne connaît ni la durée du test, ni la répartition des cartes. Les modalités de récompense sont arrangées de manière à ce que les piles associées au gain immédiat le plus fort (A et B) s'avèrent désavantageuses sur le long terme du fait de pénalités imprévisibles plus fortes, tandis que les piles associées à des gains immédiats moins forts (C et D) s'avèrent avantageuses sur le long terme du fait de pénalités moindres (Bechara *et al.*, 1997). L'approche probabiliste du test fait en sorte qu'il n'est pas possible pour le sujet de calculer exactement le gain total d'argent qu'il peut obtenir. La meilleure PdD se base ainsi sur la résistance à la préférence pour une large gratification immédiate, permettant de maximiser ses bénéfices sur la durée. Faire le « bon choix » (ou « choix avantageux ») correspond ainsi à sélectionner les options les plus récompensantes sur le long terme, au contraire du « mauvais choix » (ou « choix désavantageux ») dans les options plus punitives. Les performances dans ce test sont donc en général mesurées par les gains dans les piles C et D. Classiquement, la majorité des sujets sains passe d'un comportement d'exploration en début de tâche, où ils échantillonnent les différentes options, à une approche plus stratégique en s'orientant rapidement vers les bons choix et maintiennent ce comportement. Au contraire, les sujets présentant un pauvre niveau de PdD s'orientent de manière persistante dans les mauvais choix, et ce malgré les pertes d'argent (Bechara *et al.*, 1994).

L'un des grands avantages de l'IGT est de pouvoir observer le déroulement temporel des choix de l'individu, et de pouvoir analyser les variations fines dans la cinétique des choix. L'analyse des résultats peut d'ailleurs se faire en décomposant la tâche par « blocs de choix » (blocs de 20 cartes en général). Le test présente ainsi une grande sensibilité dans la détection des troubles de la PdD (Clark, Cools and Robbins, 2004), et son utilisation dans le diagnostic de nombreuses psychopathologies en population clinique est prépondérante (Buelow and Suhr, 2009). Il existe néanmoins certaines discordances par rapport à la validité de construit de l'IGT. La première concerne le manque d'une définition précise de l'aspect de la PdD mesuré. La tâche était d'abord considérée comme mesurant la PdD en situation incertaine ou ambiguë, du fait de l'absence de connaissance des modalités de récompense et punition (Bechara *et al.*, 1997, 1999). Certains parlent néanmoins également d'une mesure dans des conditions de risque (Brand *et al.*, 2007). Le sujet sain distingue normalement en effet les paquets

avantageux et désavantageux après 80 essais en moyenne (Bechara *et al.*, 1997), et des auteurs séparent ainsi deux phases dans l'IGT : une première phase d'exploration en situation incertaine, où le sujet développe ses préférences et expérimente ses choix ; et une deuxième phase d'exploitation en situation risquée, où le sujet a déduit les valeurs des différentes options (Brand *et al.*, 2007; Buelow and Suhr, 2009). Le deuxième point critique concerne la répétabilité de la tâche avec le temps, et de l'existence d'un effet d'apprentissage avec de nouveaux tests. Une étude a par exemple montré que des fumeurs et des non-fumeurs diminuaient leur nombre de choix risqués au fur et à mesure de trois répétitions d'IGT, au cours d'une session (Lejuez *et al.*, 2003). Enfin, la dernière limite concerne l'influence de la personnalité et de l'état affectif sur les performances en IGT, dont l'impact peut être par conséquent non distingué d'un trouble clinique mesuré par la tâche (Buelow and Suhr, 2009).

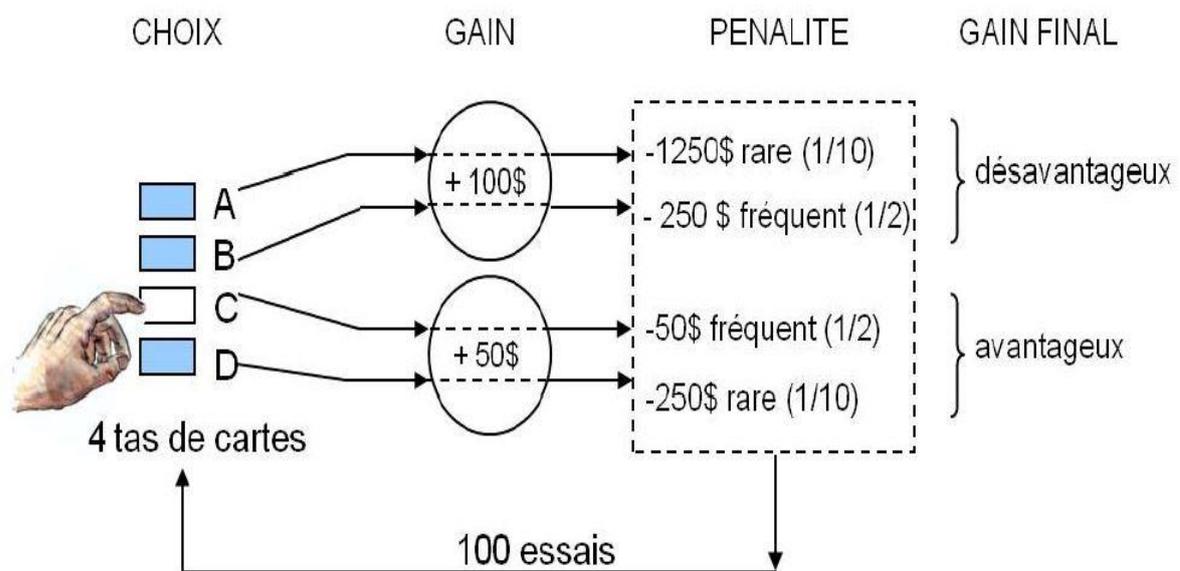


Figure 5 : Principe général de l'IGT. Le sujet débute avec une somme de départ avec pour but de maximiser ses gains au cours de 100 essais, en choisissant parmi quatre piles de cartes (A, B, C et D) associées à une probabilité de gain et de perte prédéfinie (dont il n'a pas connaissance au préalable). Les modalités sont arrangées de manière à ce que les piles A et B soient semblablement défavorables, tandis que les piles C et D sont semblablement favorables. Les performances dans le test sont généralement mesurées par les gains dans les piles C+D (adapté de De Visser *et al* 2011).

b. Autres tests de la prise de décision

Il existe d'autres tâches permettant de mesurer la PdD, dans des conditions différentes de celles de l'*IGT*. Ces conditions impliquent des niveaux variés de contrôles cognitif, motivationnel et émotionnel. Les différents processus mis en jeu permettent ainsi d'évaluer différents aspects de la PdD, et d'avoir une vision plus large des processus neuropsychologiques pouvant être impliqués. On distingue ainsi le *Cambridge Gambling Task* (Rogers *et al.*, 1999), le *Game of Dice Task* (Brand, Fujiwara, *et al.*, 2005), le *Balloon Analogue Risk Task* (Lejuez *et al.*, 2002), le *Wheel of Fortune Task* (Ernst *et al.*, 2004), ou encore l'*Ultimatum Game* (Koenigs and Tranel, 2008).

Le *Cambridge Gambling Task* est une tâche de mesure de la PdD en condition risquée (Figure 6). Il reproduit une situation simple de choix entre deux options, dont les modalités de récompense sont connues. Le test se présente sur écran sous la forme d'une rangée de dix boîtes bleues et rouges (dont le ratio varie d'un essai à l'autre), l'une de ces boîtes contenant un jeton jaune. Le sujet doit ainsi choisir quelle couleur est la plus susceptible de contenir celui-ci. En plus de choisir, il doit également miser un certain nombre de points acquis en fonction de la certitude qu'il a de son choix. Ce test permet ainsi d'apprécier les capacités de jugement des probabilités d'un individu, ainsi que sa propension à prendre des risques. Les essais sont indépendants les uns des autres, pour permettre de ne pas impliquer un apprentissage ou des capacités de flexibilité comportementale et de mémoire de travail.

Le *Game of Dice Task* est une autre tâche de mesure en condition risquée, qui met également en jeu une situation explicite de choix (modalités de récompenses connues) et de propension à prendre des risques, mais dans une situation plus complexe et plus proche de celle de l'*IGT* (Figure 6). Le sujet doit prédire le résultat du lancer d'un dé virtuel parmi différentes options, qui vont d'une forte probabilité mais un faible gain à une faible probabilité mais un gain fort. Contrairement au *Cambridge Gambling Task*, qui utilise un système de points, les gains et pertes d'argent sont explicitement indiqués en chiffres, ce qui peut affecter le choix du sujet.

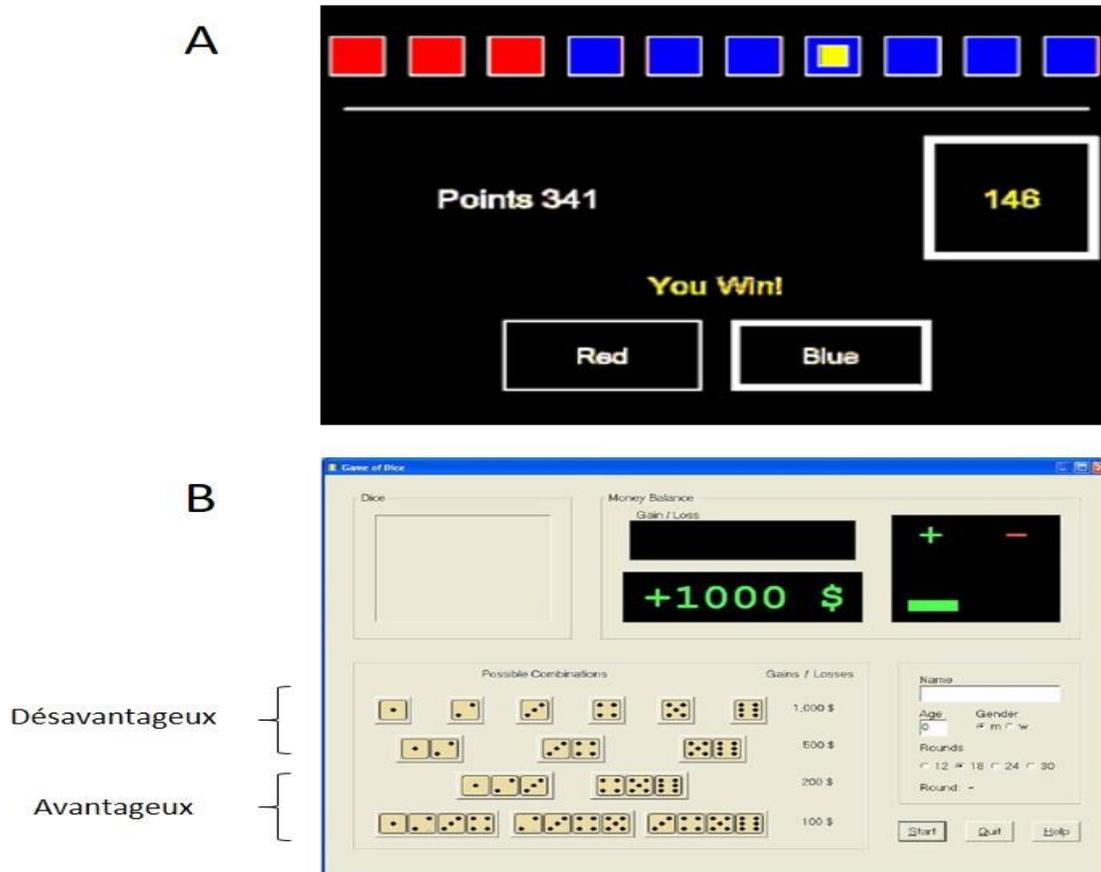


Figure 6 : Exemple d'un essai au cours du Cambridge Gambling Task (A) et du Game of Dice Task (B) (extrait de Rogers et al. 2009, Brand et al. 2005).

Le *Balloon Analogue Risk Task* mesure essentiellement la propension à prendre des risques et à évaluer la balance récompenses / pertes potentielles. Un ballon virtuel est présenté au sujet, qui peut gagner de l'argent en appuyant sur un bouton permettant de le gonfler. Chaque appui gonfle le ballon progressivement jusqu'à atteindre un seuil où il finit par éclater. Contrairement aux tests précédents, le sujet n'a pas connaissance des modalités de récompense, et le test mesure ainsi sa propension à conserver une somme d'argent gagnée ou à prendre le risque de poursuivre et de tout perdre. Les performances en *Balloon Analogue Risk Task* sembleraient être fortement corrélées à la prise de risque dans la vie quotidienne (Lejuez et al., 2002).

Le *Wheel of Fortune Task* se focalise sur la mesure de la PdD dite « économique » et sur la capacité à évaluer la magnitude et la probabilité d'une récompense potentielle, en situation

ambiguë et risquée. Le sujet doit systématiquement choisir entre deux roues virtuelles à faire tourner (à la manière du célèbre jeu télévisé), avec des associations de probabilité et de magnitude de récompense différentes. Le résultat de la roue choisie seule ou des deux roues est ensuite à chaque fois présenté. Cette tâche est régulièrement associée à une technique d'IRMf pour apprécier l'activation de structures d'intérêt au moment du « *feedback* » lors de la présentation du résultat.

L'*ultimatum game* est un test permettant de mesurer la PdD en situation sociale, c'est-à-dire dans un contexte où le choix ne dépend pas uniquement de l'analyse personnelle, et implique également de prendre en compte les intentions d'une autre personne. Il s'agit en général d'une tâche simple impliquant deux sujets, l'un étant force de proposition tandis que l'autre ne fait que répondre. La première personne peut ainsi gagner une certaine somme d'argent à condition qu'elle la partage avec l'autre, en lui proposant une répartition. La seconde peut alors accepter l'offre ou la refuser, auquel cas l'argent est perdu pour les deux. Cette tâche permet spécifiquement d'évaluer la balance entre le traitement cognitif et affectif dans les choix réalisés, notamment dans le cadre de propositions « injustes », et montre la contribution des circuits émotionnels dans la PdD.

2. Chez l'animal

Pendant longtemps, les tâches de PdD ont souffert d'un manque de modèle animal pertinent, et ne permettaient d'apprécier seulement que certains processus sous-jacents de la fonction complexe chez le rongeur et le primate. On retrouve ainsi des tâches de type apprentissage inversé (« *reversal learning* ») appréciant les processus impliqués lors de changements dans la contingence de la récompense (changements dans la relation stimulus – conséquence), des tâches appréciant l'adaptation du comportement au changement de la valeur de la récompense (dévaluation...), ou encore des tâches appréciant le traitement du délai, de l'effort ou du degré de certitude dans une situation de choix simple (Chudasayama, 2011). La PdD « risquée », c'est-à-dire le choix d'une option malgré la conscience du risque, est par exemple souvent appréciée dans une situation de choix simple entre une faible récompense certaine, et une forte récompense incertaine. La PdD « impulsive », c'est-à-dire un choix biaisé pour la gratification immédiate, est quant à elle souvent appréciée dans une

situation de choix simple entre une faible récompense immédiate, et une forte récompense délayée, comme dans le « *delay discounting task* » (DDT).

Récemment, quatre modèles principaux de l'IGT ont été développés chez le rongeur pour tenter d'intégrer les caractéristiques clés impliquées dans la PdD au cours de cette tâche chez l'Homme, dans une situation conflictuelle et complexe de choix (de Visser *et al.*, 2011). Ces modèles, communément appelés « *Rat Gambling Task* » (RGT), présentent des divergences à plusieurs niveaux (équipement, durée du test, apprentissage préliminaire ou non et de durée différente, modalités des récompenses et nature des punitions...) mais restent largement complémentaires, et permettent de fournir des conditions facilitant l'identification de mécanismes neurobiologiques. On distingue ainsi : le modèle de labyrinthe en croix (Van Den Bos *et al.*, 2006), le modèle de chambre opérante à deux leviers (Pais-Vieira, Lima and Galhardo, 2007) et les deux modèles de chambre opérante à orifice (Rivalan, Ahmed and Dellu-Hagedorn, 2009; Zeeb, Robbins and Winstanley, 2009). Ces modèles seront décrits plus précisément dans la partie Matériels et Méthodes.

C. Facteurs de variabilité inter-individuelle et processus neuropsychologiques impliqués dans la prise de décision

1. Influence de l'âge et du sexe

Plusieurs études ont montré que les performances dans l'IGT évoluent avec l'âge. Il semblerait ainsi qu'elles augmentent avec l'âge jusqu'à l'adolescence, où elles finiraient ensuite par s'aligner sur celles des adultes (Overman *et al.*, 2004). Une étude montre notamment de meilleurs résultats chez l'adolescent (16-18 ans) que chez l'enfant (10-12 ans) dans une version adaptée de l'IGT (le *Hungry Donkey Task*) (Crone and Van Der Molen, 2007). Il a également été montré que des jeunes adultes (18-25 ans) présentaient de meilleures performances que des adolescents (12-17 ans) (Hooper *et al.*, 2004). Ces résultats sont à mettre en lien avec la maturation du cortex préfrontal et au développement des fonctions exécutives, se poursuivant de l'adolescence jusqu'à l'âge adulte (Carlson, 2005). Au contraire, il semblerait que les performances en IGT déclinent ensuite avec l'âge. La capacité à faire des choix avantageux déclinerait ainsi prématurément chez certaines personnes plus âgées,

plusieurs études montrant notamment une performance plus faible chez des individus de 56-85 ans par rapport à des adultes plus jeunes de 26-55 ans, et ce malgré un fonctionnement cognitif jugé intact (Denburg, Tranel and Bechara, 2005; Fein, McGillivray and Finn, 2007). Ces résultats ont amené les auteurs à parler d'un possible vieillissement disproportionné du cortex préfrontal ventromédian chez ces individus pour expliquer leurs performances.

Les différences entre hommes et femmes dans les capacités de PdD ne sont pas évidentes et il existe des résultats contrastés. Il a été montré que les hommes font en moyenne plus de choix avantageux que les femmes au cours d'une session classique de 100 essais en *IGT* (Figure 7), puis sont ensuite rejoints au cours d'essais supplémentaire (Bolla *et al.*, 2004; Weller, Levin and Bechara, 2010). Ce télescopage homme-femme surviendrait plutôt au moment du test où l'incertitude est la plus élevée, durant les premiers blocs où les options sont encore mal connues. Ces différences ne sont néanmoins pas toujours retrouvées en *IGT*, ni dans d'autres tâches de PdD (pour revue, (Grissom and Reyes, 2019)). Une des explications de différences de performance pouvant être observées viendrait d'une approche stratégique différente de la tâche entre les deux sexes. Les femmes, bien que présentant plus d'aversion au risque, mettraient plus de temps à diminuer leurs choix d'options risquées au cours du test (Weller, Levin and Bechara, 2010). Van den Bos *et al.* ont décrit que les hommes tendent à développer une préférence pour la pile C (associée à des pertes fréquentes de faible magnitude), tandis que les femmes préfèrent la pile B (associée à des pertes rares mais de fortes magnitude) (van den Bos, Homberg and de Visser, 2013). Les femmes auraient ensuite besoin en moyenne de 40-60 essais en plus pour arriver au même niveau de performance que les hommes, et préférer constamment la pile C. Ces résultats suggèrent qu'elles sont plutôt sensibles à la fréquence des pertes, alors que les hommes le sont plutôt à leur amplitude, lorsque ces options sont en conflit. Les mêmes auteurs parlent également d'une possible sensibilité plus forte des femmes aux pertes dans les options avantageuses sur le long terme. Lorsque la tâche est modifiée pour ne faire varier seulement que la fréquence ou l'amplitude des pertes, il s'avère que les différences observées ne concernent que la volonté d'éviter des pertes fréquentes, et non pas dans la capacité à détecter l'amplitude de celles-ci (Grissom and Reyes, 2019). Globalement, bien que les différences liées au sexe ne soient pas montrées de manière

constante, il semblerait donc que les informations influençant la prise décision puissent être traitées différemment par les hommes et les femmes.

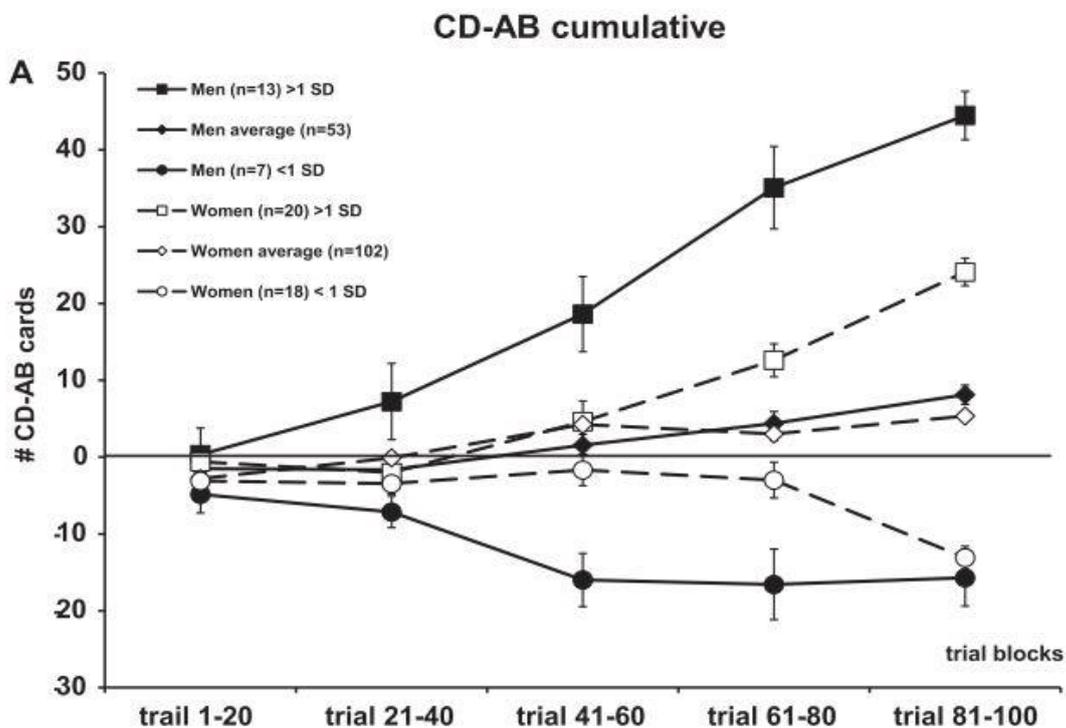


Figure 7 : Progression cumulative des performances chez l'homme et la femme en IGT, analysée selon des données récoltées dans plusieurs études par la revue de Van den Bos, Homberg et de Visser 2013. Les données sont représentées par la différence entre les choix dans les piles avantageuses (C et D) et ceux dans les piles désavantageuses (A et B). Les performances sont catégorisées pour chaque sexe comme pauvres (si < à 1 écart-type à la moyenne après 100 essais), moyennes ou bonnes (si > à 1 écart-type à la moyenne après 100 essais) (extrait de Van den Bos et de Visser 2013).

Les différences de performances liées au sexe pourraient s'expliquer au niveau neurobiologique par l'activation différentielle des régions frontales impliquées dans la PdD. Il a notamment été observé une activité plus importante du cortex préfrontal dorsolatéral et du cortex orbitofrontal chez l'homme au cours de l'IGT (Bolla *et al.*, 2004). Les différences d'activation pour ce dernier pourraient s'expliquer par un effet régulateur des hormones gonadiques ayant eu lieu chez la femme en début de vie (van den Bos, Homberg and de Visser, 2013). De même, il semblerait qu'il existe une asymétrie fonctionnelle dans l'activité cérébrale du cortex préfrontal ventromédian, largement impliqué dans la PdD, qui dépend plus de

l'hémisphère gauche chez la femme, alors qu'il dépend plus de l'hémisphère droit chez l'homme (Tranel *et al.*, 2005).

2. Influence des traits de personnalité et rôle des émotions

Les recherches s'intéressant à la relation entre traits de personnalité et PdD sont peu nombreuses, mais les résultats mettent néanmoins en évidence que certains d'entre eux peuvent influencer les choix réalisés et les performances en *IGT*. On retrouve ainsi principalement des traits d'impulsivité et de recherche de sensations. Une relation étroite entre impulsivité et PdD a déjà été observée dans plusieurs études. Bechara distingue ainsi impulsivité motrice (qu'il décrit comme l'incapacité à inhiber un comportement) et impulsivité cognitive (qu'il décrit comme l'incapacité à tolérer le délai / l'attente), et estime que cette dernière pourrait être en partie responsable des mauvaises performances en *IGT* chez les patients cérébrolésés qu'il observait (Bechara and Van Der Linden, 2005). Il a également déjà été montré dans une population saine que des sujets avec un haut niveau d'impulsivité présentaient de moins bonnes performances en *IGT*, notamment du fait de la faible capacité occasionnée à apprendre les associations entre récompense et punition (Franken *et al.*, 2008), et d'évaluer les choix risqués comme désavantageux (Martin and Potts, 2009). Cette relation n'a néanmoins pas été systématiquement observée (Toplak *et al.*, 2010), ou seulement pour certaines facettes de l'impulsivité comme un manque de préméditation (Zermatten *et al.*, 2005). Le trait de recherche de sensations est quasi systématiquement associé à de moins bonnes performances de PdD, que ce soit chez l'enfant ou chez l'adulte (Crone, Vendel and van der Molen, 2003; Suhr and Tsanadis, 2007). Ce trait de personnalité est étroitement lié à la propension à prendre des risques, et à préférer les conditions risquées dans la vie quotidienne (Bechara and Damasio, 2002). Les faibles performances en *IGT*, en rapport avec la recherche de sensations, sont également généralement associées à une sensibilité plus forte aux récompenses, et parfois aux stimuli aversifs (Suhr and Tsanadis, 2007).

Ce n'est que récemment que les chercheurs ont accepté l'hypothèse que les émotions puissent jouer un rôle important dans la cognition, et il est désormais de plus en plus admis que les processus émotionnels et le traitement affectif sont importants dans la capacité à prendre des décisions adaptées (Bechara, 2004; Bechara and Damasio, 2005; Sanfey, 2007).

Cette idée est initialement née de la « théorie des marqueurs somatiques » de Bechara et Damasio pendant le développement de l'*IGT* (Bechara *et al.*, 1994). Selon cette théorie, les attributs affectifs d'une option aboutiraient au recrutement de régions limbiques et à la production de « marqueurs somatiques » (modification de la conductance cutanée, de la pression sanguine, de la fréquence cardiaque...), signalant l'intensité de la valence d'un stimulus expérimenté par un individu. Ceux-ci signaleraient ensuite à leur tour sous la forme d'un retour d'information aux structures corticales, modifiant l'état affectif et guidant la PdD de façon inconsciente et automatique. Ce traitement affectif serait notamment prépondérant lorsqu'il n'est pas possible de prendre une décision de manière logique (Crone, Vendel and van der Molen, 2003). Il est important de noter que cette théorie n'est pas unanimement acceptée dans le monde de la recherche (Dunn, Dalgleish and Lawrence, 2006). Elle montre cependant l'importance de prendre en compte l'affect dans les performances en tâche de PdD, et il a déjà été montré qu'un affect négatif important est lié à des choix plus risqués en *IGT* (Suhr and Tsanadis, 2007). On retrouve notamment l'anxiété parmi les émotions pouvant influencer la PdD, bien que les résultats puissent être inconstants au travers des différentes études. Il a ainsi été observé qu'un haut niveau d'anxiété est associé à une mauvaise capacité de PdD et à une augmentation des marqueurs somatiques avant un choix avantageux (Miu, Heilman and Houser, 2008), ou encore que différents profils d'anxiété peuvent prédire les futures performances en *IGT* (Soshi *et al.*, 2019). Un effet du trait d'anxiété dans la PdD a également été montré en condition ambiguë (*IGT*), mais pas en condition risquée (*Game of Dice Task*) (Zhang *et al.*, 2015). Les sujets avec un faible et surtout avec un haut niveau d'anxiété présentaient de moins bonnes performances que ceux avec un niveau moyen. De manière intéressante, l'effet de l'anxiété sur la PdD semble différer selon le sexe, des résultats similaires ayant été retrouvés chez l'homme, tandis que seul un haut niveau d'anxiété affectait les performances chez la femme (de Visser *et al.*, 2010). Cet effet se retrouvait d'ailleurs plus tôt chez l'homme en *IGT*, pendant la phase d'exploration, et plus tard chez la femme, pendant la phase d'exploitation. A l'opposé, de meilleures performances chez le sujet avec un haut niveau d'anxiété ont déjà été rapportées, suggérant que l'émotion pourrait faciliter la PdD en situation incertaine et complexe (Werner, Duschek and Schandry, 2009).

3. Rôle des fonctions exécutives et processus motivationnels

La PdD résulte de l'intégration de nombreuses fonctions exécutives, dont les implications ne sont pas forcément toujours bien démontrées ou comprises (Toplak *et al.*, 2010). Parmi celles-ci, on retrouve notamment la mémoire de travail, dont le rôle dans la PdD fait encore débat à l'heure actuelle, notamment du fait de désaccords quant à son implication dans les performances en *IGT* (Bechara, 2005; Dunn, Dalgleish and Lawrence, 2006; Brand *et al.*, 2007). Il semble exister une relation asymétrique entre les deux : les capacités de mémoire de travail peuvent influencer les capacités de PdD et les performances en *IGT*, mais l'inverse n'est pas forcément vrai. Le postulat initial fut que les conditions d'incertitude du test (les options n'étant pas connues) font que les capacités de mémoire de travail ne peuvent pas entrer en jeu dans la résolution de la tâche, et que celle-ci se fait au moins dans un premier temps par un traitement inconscient des informations (Bechara *et al.*, 1997). Bechara a observé plus tard que des sujets présentant des troubles de la mémoire de travail faisaient plus de mauvais choix que des sujets sains, mais que les performances en *IGT* n'influençaient néanmoins pas les tests de mémoire de travail (Bechara *et al.*, 1998). Il a également été montré que des processus cognitifs et des mécanismes d'apprentissage peuvent intervenir très tôt dans la tâche (Maia and McClelland, 2004), ou encore que plusieurs régions frontales impliquées dans la mémoire de travail présentent une activité corrélée à son acquisition (Adinoff *et al.*, 2003). Les performances en fin d'*IGT* ont également été corrélées aux capacités de mémoire de travail, avec la conclusion que ces dernières sont nécessaires par intermittence dans la résolution de la tâche, et ce principalement dans sa dernière phase (Brand *et al.*, 2007). Les auteurs de cette étude ont ainsi proposé que la première phase de l'*IGT* suive la théorie des marqueurs somatiques et se base sur les émotions et l'intuition, tandis que la deuxième n'impliquerait que des processus cognitifs rationnels et logiques.

La PdD pourrait également impliquer des capacités de planification, c'est-à-dire de pouvoir organiser ses méthodes et son temps pour atteindre un objectif précis (Toplak *et al.*, 2010). Bechara décrivait ainsi une « myopie du futur » chez les sujets cérébrolésés avec de mauvaises performances en *IGT* qu'il observait, et l'incapacité de planifier et voir plus loin que la récompense à court terme (Bechara and Damasio, 2002). La planification est probablement étroitement liée à des dimensions d'impulsivité, notamment de l'impulsivité cognitive et l'impossibilité de différer l'obtention d'un gain dans le temps. Le contrôle inhibiteur pourrait

également jouer un rôle important, c'est-à-dire la capacité de supprimer des réponses inconscientes et non importantes ; de même que la flexibilité comportementale, capacité d'adaptation aux changements de conditions environnementales (Floresco *et al.*, 2008). La contribution relative des différentes fonctions exécutives dans la PdD est néanmoins difficile à évaluer, et seulement une faible proportion d'études ont rapporté une corrélation statistiquement significative avec les performances en *IGT*, et ce avec une forte variabilité inter-individuelle (Toplak *et al.*, 2010). Des processus motivationnels sont également impliqués à un certain niveau, puisqu'il a en effet été montré que le degré de motivation pourrait moduler la sélection des informations pertinentes au moment du choix, ainsi que l'exécution d'une action (Kouneiher, Charron and Koechlin, 2009). Globalement, l'ensemble des données de la littérature scientifique suggèrent que la PdD nécessiterait l'interaction d'un ensemble de processus cognitifs, émotionnels et motivationnels, avec une mise en jeu différente selon le contexte et l'individu.

D. Neurobiologie de la prise de décision : étapes du processus et structures impliquées

Il n'existe pas à l'heure actuelle de consensus sur un modèle particulier de la PdD, mais les différents mis en avant la définissent néanmoins de manière commune comme un large éventail de comportements suivant la structure générique basique « entrée –traitement – sortie – retour d'information» (« *input-process-output-feedback* ») (Fellows, 2004; Ernst and Paulus, 2005; Daw and Doya, 2006; Rangel, Camerer and Montague, 2008). « Entrée » fait référence à la présentation des différents stimuli, chacun prédisant une conséquence positive ou négative ; « traitement » correspond à la formation de préférences par l'attribution de valeurs aux différentes options ; « sortie » correspond à l'action entreprise en réponse à l'option choisie ; et enfin le « retour d'information » correspond à l'expérience et l'évaluation de la conséquence de l'action effectuée. Martin Paulus propose ainsi dans sa revue de décomposer la PdD en trois processus partiellement distincts temporellement et fonctionnellement (Ernst and Paulus, 2005) (Figure 8) :

- L'évaluation des différentes options disponibles et la formation de préférences.
- La sélection et l'exécution d'une action appropriée.
- L'expérience et l'évaluation des conséquences.

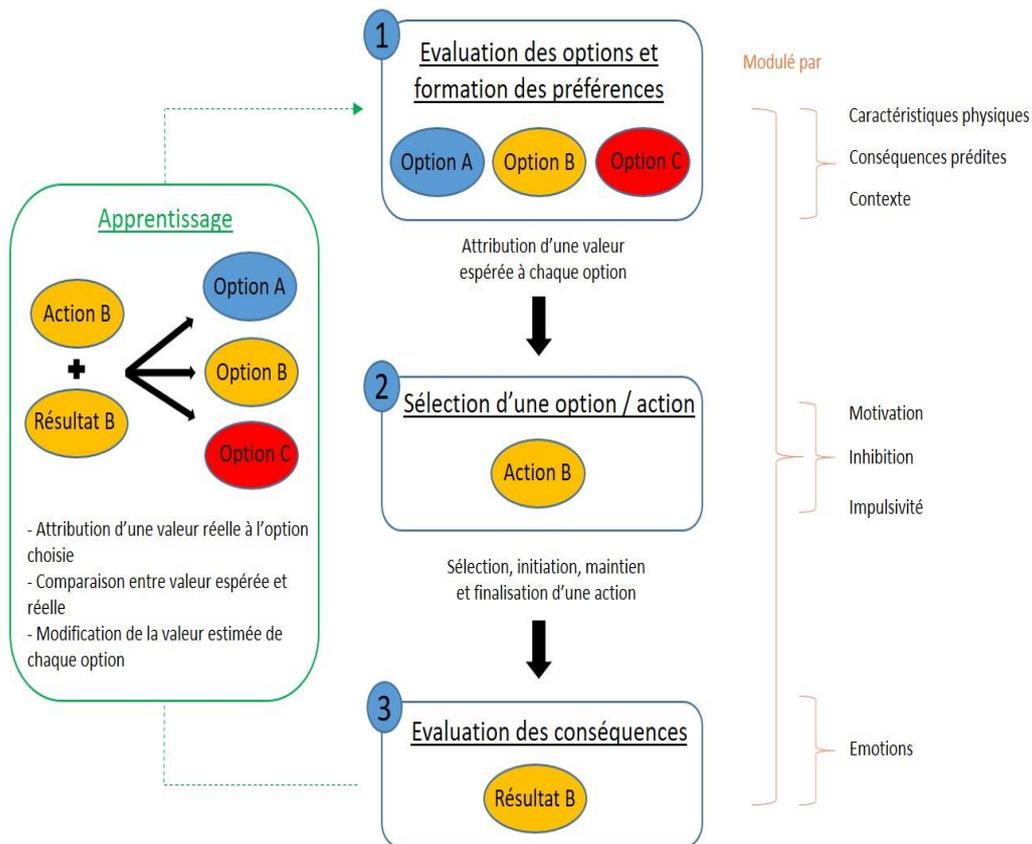


Figure 8 : Schéma représentatif des étapes théoriques du processus de PdD (adapté de Ernst et Paulus 2005).

La première étape de la PdD correspond à l'évaluation des différentes options disponibles et la formation de préférences, et implique à la fois des circuits cognitifs et émotionnels. Pour ce faire, une valeur est attribuée à chaque option par l'intégration de nombreux facteurs : le nombre d'options disponibles, leurs caractéristiques physiques, les caractéristiques attendues des conséquences « prédites » par chaque option (valence, saillance, probabilité, délai), l'expérience précédente de ces options, ou encore le contexte externe (social) et interne (état affectif) du choix. Tous ces facteurs sont systématiquement analysés et comparés entre eux pour définir ainsi la valeur d'une option, c'est-à-dire son intérêt. Cette valeur peut également être modulée par différents facteurs comme la motivation de l'individu, sa sensibilité au risque, l'incertitude ou encore l'anticipation (Daw and Doya, 2006).

Le but du deuxième temps de la PdD est d'initier, performer et compléter une action selon les préférences établies durant l'étape précédente. Un tel travail cognitif implique ainsi l'inhibition ou la suppression d'actions compétitives, l'implémentation d'une séquence

d'actions, la correction des erreurs ou encore un processus de planification. La motivation et l'effort à fournir influencent fortement cette étape. Elle est également le siège d'anomalies, en termes d'actions initiées prématurément (notamment dans le cadre d'impulsivité), incomplètes ou encore insuffisamment motivées ; et est ainsi souvent perturbée dans les désordres psychiatriques (Ernst and Paulus, 2005).

La dernière phase de la PdD correspond à l'expérience du résultat et de la conséquence d'une option choisie précédemment. Comme pour l'étape de formation des préférences, des valeurs sont formées et attribuées au résultat obtenu. Contrairement à ce premier temps, les fonctions servies sont néanmoins différentes : la formation de préférences se fait selon des valeurs « attendues » d'une option, tandis que l'expérience du résultat implique l'apprentissage des valeurs « réelles » de cette option. C'est la différence entre ces valeurs qui constitue ainsi un retour d'informations, véritable « signal d'apprentissage », avec pour finalité ultime l'adaptation du comportement (Schultz, 2002). L'évaluation des conséquences est influencée par les réponses émotionnelles provoquées comme la peur, la surprise, le regret ou la déception (Bechara *et al.*, 1997).

Les substrats neurobiologiques de la PdD sont nombreux. Ils font intervenir aussi bien des structures frontales que sous-corticales, qui sont impliquées différemment à chacune des étapes du processus de choix et dans l'ensemble des construits psychologiques l'influençant (pour revue, (Ernst and Paulus, 2005)). Parmi celles-ci, on retrouve ainsi un ensemble de structures cognitives (cortex préfrontal dorso-latéral, cortex cingulaire antérieur dorsal, gyrus temporaux...) et affectives (cortex préfrontal ventromédian/latéral, cortex cingulaire antérieur ventral, amygdale, striatum ventral...). Li et collaborateurs ont récemment identifié et proposé un circuit cérébral impliqué dans la PdD lors de la tâche d'IGT (Li *et al.*, 2010) (Figure 9).

Processus	Structure	Evaluation des options et formation des préférences	Sélection d'une option / action	Evaluation des conséquences
Cognitif	CPFdl	+++	++	+++
	CCAd	+++	++	+
	LIP/S	+++	+	+++
	GTS	+++	+	++
Affectif	CPFvm/vl	++	+	+++
	CCAv	++	+	+++
	Insula ant.	+++	++	+
	Amygdale	++	+	+++
	Striatum v.	+	+++	+
Autres	Striatum d.	+	+++	+
	AMS	+	+++	+

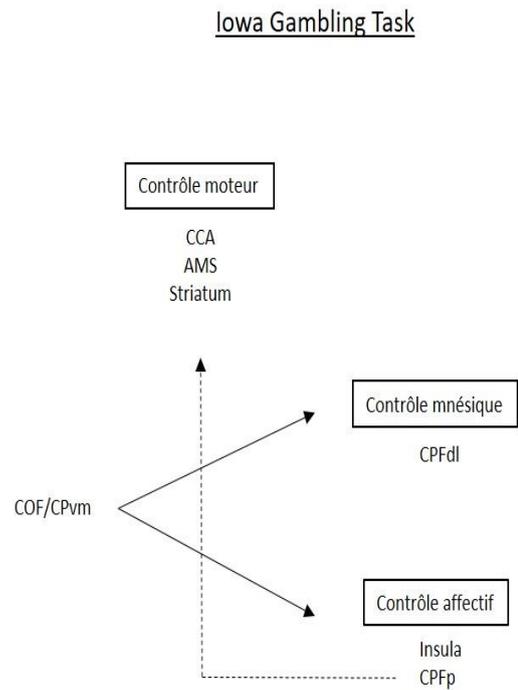


Figure 9 : Modèle hypothétique des processus et structures impliqués dans les différentes étapes de la PdD (gauche), et plus spécifiquement dans l'IGT (droite). Le degré d'implication est reflété par le nombre de signes +. AMS: aire motrice supplémentaire, CCAd : cortex cingulaire antérieur dorsal, CCAv : cortex cingulaire antérieur ventral, COF : cortex orbitofrontal, CPFdl : cortex préfrontal dorsolatéral, CPFp : cortex préfrontal postérieur, CPFvm/vl : cortex préfrontal médian / ventrolatéral, GTS : gyrus temporal supérieur, Insula ant. : insula antérieure, LIP/S : lobule intrapariétal / pariétal supérieur, Striatum d. : striatum dorsal, Striatum v. : striatum ventral (adapté de Ernst et Paulus 2005, Li et al. 2010).

Chapitre 3 : Implication du système dopaminergique mésolimbique dans la prise de décision et dans les effets de l'alcool et du *Binge Drinking*

A. Le système dopaminergique mésolimbique, axe fondamental du circuit de la récompense

1. Généralités sur le métabolisme de la dopamine

Depuis sa description en tant que neurotransmetteur à la fin des années 50 par Carlsson (Carlsson, 1959), la DA est au centre de l'attention en recherche. Bien que les neurones DAergiques constituent moins d'1% de la population totale des neurones du cerveau (Arias-Carrión and Pöppel, 2007), leur impact sur son fonctionnement est majeur. Ils jouent ainsi un rôle critique au niveau central dans un grand nombre de fonctions telles que le mouvement volontaire, l'alimentation, l'affect, la récompense, le sommeil, l'attention, la mémoire de travail ou encore l'apprentissage (Beaulieu and Gainetdinov, 2011). L'association entre la déplétion de ces neurones et les déficits moteurs observés dans la maladie de Parkinson a ainsi été faite dès les années 60 (Bernheimer and Hornykiewicz, 1965). De même, ils ont été impliqués dans la neurobiologie d'un grand nombre de pathologies et désordres psychiatriques, incluant la schizophrénie (Carlsson *et al.*, 2001), le syndrome de la Tourette (Mink, 2006), ou encore le TDAH (Gizer, Ficks and Waldman, 2009). Ils constituent enfin un élément essentiel du circuit de la récompense, et de l'action de nombreuses drogues (Koob, 2006; Goodman, 2008; Koob and Volkow, 2010).

a. Biosynthèse de la dopamine

La DA est classiquement synthétisée chez l'Homme en deux étapes au sein du cytosol des neurones DAergiques, à partir de tyrosine circulante (Meiser, Weindl and Hiller, 2013). Celle-

ci est captée et hydroxylée de manière active par la tyrosine hydroxylase en L-DOPA (lévogyre-dihydroxyphénylalanine). La L-DOPA est ensuite décarboxylée en DA par la DOPA décarboxylase (DDC, aussi connue sous le nom d'AAC, *aromatic amino acid decarboxylase*). Une voie régulée par le cytochrome P450 a également été mise en évidence chez le rat, dans laquelle la tyrosine est d'abord décarboxylée en tyramine, qui est ensuite hydroxylée par des protéines Cyp2D (Bromek *et al.*, 2011). Bien que la synthèse par cette voie soit moindre, elle semblerait pouvoir jouer un rôle important dans certaines conditions. Une fois synthétisée, la DA est stockée de deux façons : soit par séquestration au sein de vésicules synaptiques au niveau du bouton synaptique, soit dans le réticulum endoplasmique lisse. Le chargement au sein des vésicules est notamment réalisé par un transport actif secondaire par intermédiaire du transporteur vésiculaire monoamine 2 (VMAT2). Les enzymes impliquées dans la synthèse de la DA jouent un rôle important de contrôle de l'homéostasie du neurotransmetteur, en prévenant notamment par des mécanismes régulateurs le stress oxydatif des vésicules synaptiques au sein du cytosol.

b. Libération de la dopamine

Pour ce qui est de la DA provenant des vésicules, l'arrivée d'un potentiel d'action, et donc l'entrée de Ca²⁺, entraînent sa libération dans le milieu extracellulaire par exocytose. Les neurones DAergiques sont classiquement dans un état quiescent / hyperpolarisé ou spontanément actifs, et présentent deux modes distincts de décharge : un mode de libération tonique et un mode de libération phasique (Goto, Otani and Grace, 2007). Ces neurones peuvent individuellement passer d'un mode de libération à l'autre, comme cela a été montré chez le rat *in vivo* (Hyland *et al.*, 2002), et leur excitabilité intrinsèque repose sur la coordination de multiples espèces de canaux ioniques voltage-dépendants (pour revue, (Gantz *et al.*, 2018). La libération tonique correspond à l'activité spontanée de base des neurones, avec une fréquence de décharge régulière et continue (2-10 Hz), induite par des courants membranaires de type « *pacemaker* » responsables du tonus retrouvé dans les aires de projection (Keefe, Zigmond and Abercrombie, 1993; Grace, 2000; Floresco *et al.*, 2003). Ceux-ci sont sous le contrôle d'une importante inhibition GABAergique et ont été mis en évidence comme responsables de la concentration extracellulaire basale de DA dans le

striatum (5-20 nM (Keefe, Zigmond and Abercrombie, 1993)). Il a notamment été suggéré que cette libération est régulée par l'échappement de DA de la synapse dans l'espace extracellulaire, dont la concentration serait ainsi sous la dépendance du nombre de neurones avec une telle activité spontanée (Floresco *et al.*, 2003). En contraste, les neurones DAergiques peuvent également libérer sous forme de véritables « *burst* » de décharge, de manière spontanée mais aussi en réponse à un stimulus motivationnel, déclenchant une libération phasique à haute fréquence (15-30 Hz) et de haute amplitude (pouvant aller jusqu'à 1 μ M). Cette décharge phasique est dépendante de l'excitation glutamatergique de la synapse, aboutissant à une libération extracellulaire élevée au niveau terminal, mais sujette à une recapture puissante et immédiate, la rendant transitoire dans la fente synaptique (Floresco *et al.*, 2003). Pour résumer, la signalisation qui existe entre les neurones DAergiques et leurs cibles est basée sur des augmentations rapides et transitoires de la concentration en DA (libération phasique), en plus d'un tonus DAergique continu faible et changeant lentement (libération tonique).

c. Récepteurs dopaminergiques et signalisation

La classification des récepteurs DAergiques est basée sur la découverte de la capacité de la DA à moduler l'activité de l'adénylate cyclase (AC). Keabian et Calne furent ainsi les premiers à distinguer deux familles de récepteurs DAergiques, selon leur capacité à moduler la production d'adénosine monophosphate cyclique (AMPC) et leurs différentes propriétés pharmacologiques : la famille D1 et la famille D2 (Keabian and Calne, 1979). Des études génétiques ont ensuite permis de distinguer plusieurs sous-types sur la base de leur structure, leur pharmacologie et leurs propriétés biochimiques. On distingue ainsi dans la famille D1 les sous-types D1 (avec les isoformes D1A, D2C et D2D) et D5, et dans la famille D2 les sous-types D2 (avec les isoformes D2S et D2L) D3 et D4 (Andersen *et al.*, 1990; Civelli, Bunzow and Grandy, 1993). Tous ces récepteurs se composent de sept domaines transmembranaires et sont couplés à une protéine G, mais ont des effets différents sur l'activité de l'AC (Rankin *et al.*, 2010; Romanelli, Williams and Neve, 2010; Beaulieu and Gainetdinov, 2011). Les récepteurs de la famille D1 sont ainsi couplés à une protéine G α s ou G α olf et stimulent la production d'AMPC en activant l'AC, pour un effet final exciteur (par l'ouverture de canaux sodiques)

ou inhibiteur (par l'ouverture de canaux potassiques). Les récepteurs de la famille D2 sont quant à eux couplés à une protéine G α i ou G α o et inhibent l'AC, pour un effet final en général inhibiteur. La fixation de la DA sur ses récepteurs entraîne ainsi des modifications électrophysiologiques et biochimiques complexes, en activant de multiples cascades de signalisation intracellulaire basées sur la phosphorylation de la phosphoprotéine DARPP-32, par l'intermédiaire de la protéine kinase A ou encore de la voie Akt-ERK. Les récepteurs de la famille D1 vont ainsi augmenter sa phosphorylation, tandis que ceux de la famille D2 vont la réduire, ce qui va jouer sur la fonction de DARPP-32 en tant qu'inhibitrice de la protéine phosphatase-1. Les récepteurs DAergiques sont exprimés différemment dans le cerveau humain, et jouent des rôles distincts dans les fonctions de la DA (pour revue : (Romanelli, Williams and Neve, 2010; Beaulieu and Gainetdinov, 2011)). Les sous-types D1 sont les récepteurs les plus représentés, suivis par les D2, tandis que les D3, D4 et D5 sont présents à des niveaux bien moins significatifs. Les récepteurs de la famille D1 sont retrouvés exclusivement au niveau post-synaptique sur les neurones DAergiques, tandis que les récepteurs de la famille D2 sont retrouvés au niveau pré-synaptique sur les neurones DAergiques, ainsi qu'au niveau post-synaptique sur les neurones cibles de la DA.

d. Recapture et dégradation de la dopamine

Pour stopper la signalisation après fixation sur les récepteurs, la DA extracellulaire doit être retirée de la fente synaptique. Pour ce faire, elle peut être soit recapturée par le neurone DAergique, soit dégradée après capture par les cellules gliales et la fente synaptique (Meiser, Weindl and Hiller, 2013). La recapture par le neurone DAergique concerne environ 80% de la DA libérée (Giros *et al.*, 1996), et se fait par l'intermédiaire du transporteur membranaire sélectif de la DA (DAT). Elle est suivie d'une nouvelle séquestration vésiculaire par la VMAT2. Au niveau du cortex préfrontal, où l'expression du DAT est très faible, la recapture est réalisée par des neurones noradrénergiques et par le transporteur NET (Dunlop and Nemeroff, 2007). La DA restante dans la fente synaptique est dégradée par les monoamine-oxydases A et B (MAO), des enzymes mitochondriales, pour donner après plusieurs réactions l'acide dihydroxyphénylacétique (DOPAC). La DA de la fente synaptique est également capturée par les cellules gliales environnantes. Celles-ci dégradent la DA via la MAO et la catéchol-O-méthyl-

transférase (COMT). Cette voie de dégradation aboutit à la 3-O-méthylation de la DOPAC par la COMT en acide homovanillique (HVA), l'un des produits de la dégradation finale de la DA. La mesure du taux d'HVA et de DOPAC dans le liquide céphalorachidien permet ainsi d'avoir une idée indirecte de l'activité des neurones DAergiques du système nerveux central. Du fait des mécanismes de recapture et de dégradation importants, les effets de la DA au niveau synaptique sont très transitoires (Meiser, Weindl and Hiller, 2013).

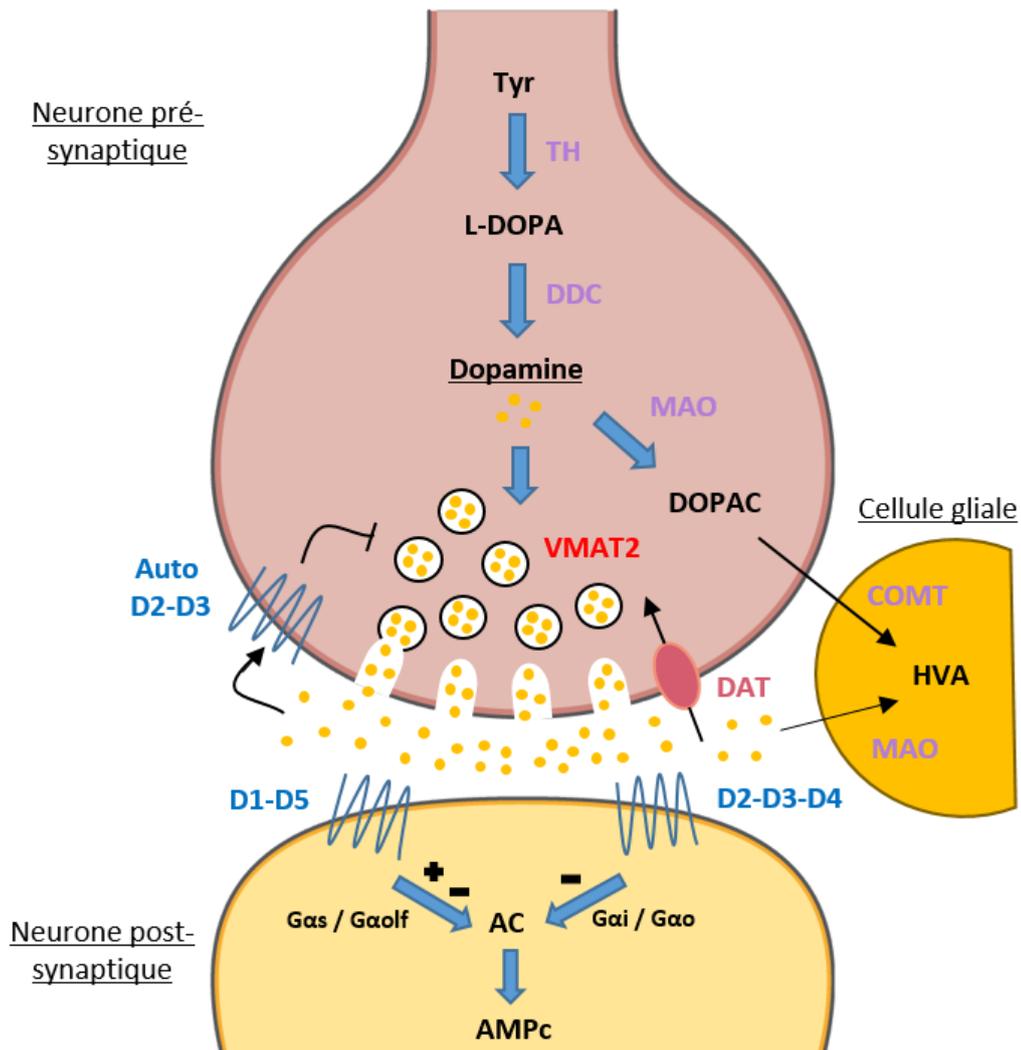


Figure 10 : Schéma récapitulatif simplifié du métabolisme et de la signalisation DAergique. AC : adénylate cyclase, AMPc : adénosine monophosphate cyclique, COMT : catéchol-O-méthyl-transférase, DAT : transporteur de la DA, DDC : DOPA décarboxylase, DOPAC : acide dihydroxyphénylacétique, HVA : acide homovanillique, L-DOPA : lévogyre-dihydroxyphénylalanine, MAO : monoamine-oxydase, TH : tyrosine hydroxylase, Tyr : tyrosine, VMAT2 : transporteur vésiculaire monoamine 2 (adapté de Meiser, Weindl et Hiller 2013).

2. Le circuit de la récompense

Notre cerveau fonctionne de manière à récompenser les comportements dirigés vers des stimuli agréables, dans le but que ce comportement soit répété. On parle également de « renforcement » en psychologie. Le « circuit de la récompense » est un système fondamental du mammifère, situé le long du faisceau médian du télencéphale, indispensable à notre survie en fournissant la motivation nécessaire à la réalisation d'actions et de comportements adaptés. Ce système s'est développé à l'origine au cours de la sélection naturelle pour favoriser les comportements nécessaires à la survie de l'espèce (recherche de nourriture, évitement du danger, reproduction...), puis s'est progressivement élargi pour inciter les expériences plaisantes apprises au cours de la vie. Le circuit de la récompense a été découvert pour la première fois en 1954 par le psychologue James Olds et le neurophysiologiste Peter M. Milner (Olds and Milner, 1954) (Figure 11). Au cours de leurs expériences, ils implantèrent une électrode de stimulation dans l'aire septale du cerveau de rats (ciblant notamment l'hypothalamus et l'ATV), qui pouvaient alors s'auto-stimuler électriquement dans la zone en question au sein d'une cage, en appuyant sur un levier relié au système. Les animaux montrèrent rapidement des résultats surprenants, s'administrant des stimulations de plus en plus frénétiquement et supportant les stimulations les plus intenses. Ils finirent même par se priver de s'alimenter et s'abreuver plutôt que d'abandonner le levier, allant jusqu'à s'imposer un jeûne mortel. Les deux chercheurs décrivent ainsi pour la première fois ce qu'ils appelaient un « centre du plaisir ». Les rats s'auto-récompensaient sans arrêt jusqu'à en oublier leurs besoins fondamentaux, la stimulation directe du circuit de la récompense étant tellement puissante que celle-ci finissait par prendre le contrôle du comportement. Pour illustrer sa puissance sur le comportement, Talwar et collaborateurs créèrent en 2002 un véritable rat « télécommandé », implanté avec des électrodes dans les mêmes régions cérébrales, dont ils pouvaient guider le mouvement en jouant sur le désir de récompense de l'animal (Talwar *et al.*, 2002).

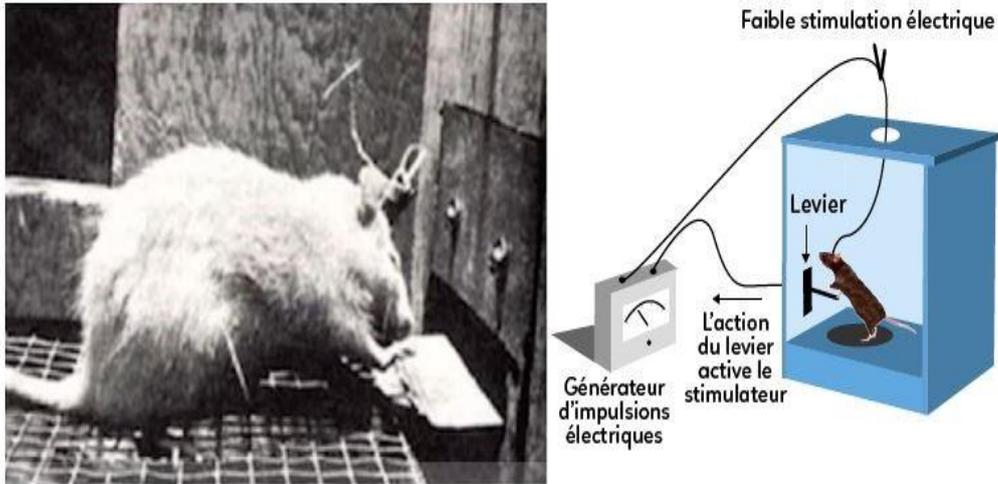


Figure 11 : Expérience d'Olds et Milner (1954). Les rats étaient implantés avec une électrode de stimulation dans l'aire septale du cerveau, et allaient jusqu'à s'infliger un jeûne fatal pour continuer à s'administrer des stimulations et s'auto-récompenser. Le circuit de la récompense fut ainsi mis en évidence pour la première fois (extrait de l'Institut Français de l'Éducation).

Au niveau anatomique, le circuit de la récompense est généralement décrit comme distribué en différentes structures le long du faisceau médian du télencéphale: l'aire tegmentale ventrale (ATV), le pallidum ventral, le NAcc, l'hypothalamus latéral, le septum, l'hippocampe, l'amygdale et le cortex préfrontal (Russo and Nestler, 2013) (Figure 12). Son socle de fonctionnement est constitué des projections DAergiques provenant de l'ATV. On y retrouve également un ensemble de projections glutamatergiques et GABAergiques entre les différentes structures, avec des voies retours et des boucles internes formant un véritable « circuit ». Les projections de l'ATV ont pour origine les neurones DAergiques du groupe A10, de l'ensemble décrit par Dahlström et Fuxe (Dahlstrom and Fuxe, 1964). Ces neurones projettent principalement selon deux faisceaux de fibres, ou « voies » : (Björklund and Dunnett, 2007) :

- La voie mésocorticale, qui inclue les projections de l'ATV vers le cortex préfrontal et plusieurs régions du cortex limbique (cortex entorhinal, cortex cingulaire...).

- La voie mésolimbique, qui inclue les projections de l'ATV vers le striatum ventral (NAcc et tubercule olfactif) et d'autres régions limbiques (septum, amygdale, cortex piriforme...).

La voie mésolimbique, et plus particulièrement l'axe naissant des projections des neurones A10 entre l'ATV et le NAcc, est fondamentale dans le circuit de la récompense. La sensation de plaisir et les aspects motivationnels et récompensants procurés par une stimulation du circuit de la récompense, qui surpassent même des récompenses naturelles, sont relayés par la libération de DA dans cette voie (Wise, 2004).

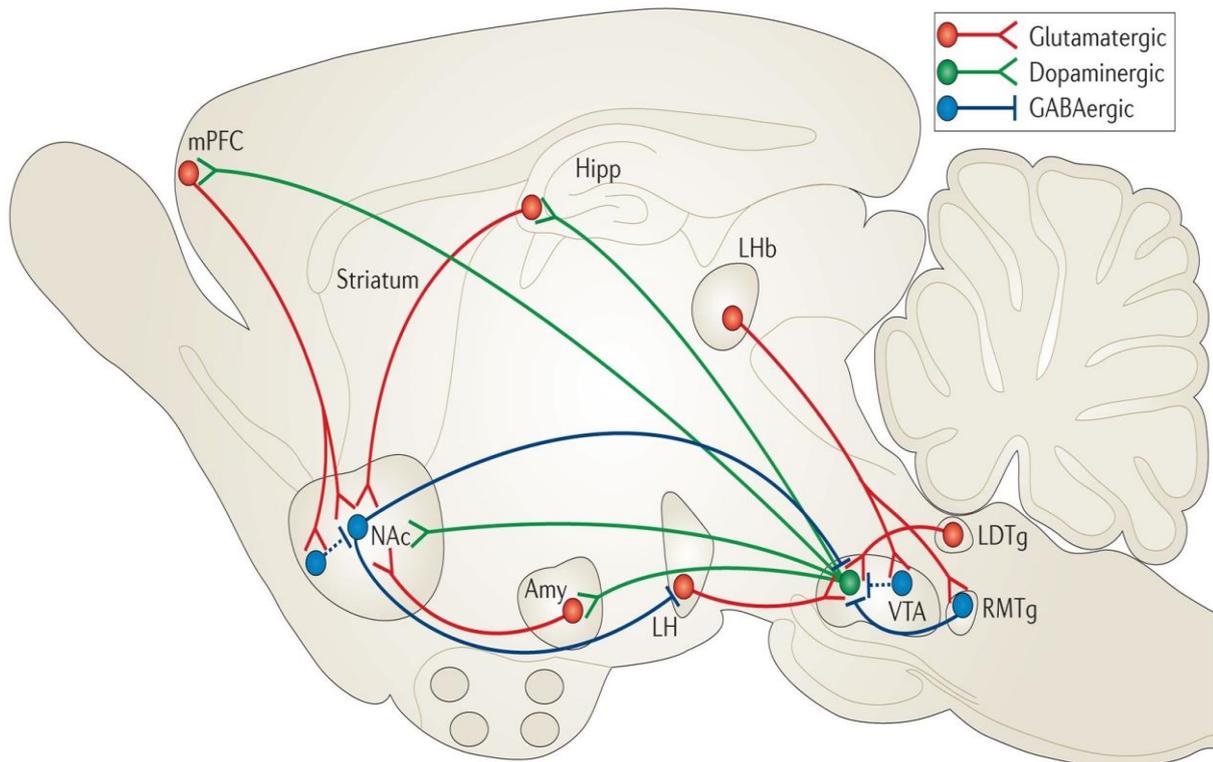


Figure 12 : Schéma simplifié du circuit cérébral de la récompense chez le rongeur. Le socle du circuit est composé par la voie mésolimbique, naissant des projections de l'ATV vers le NAcc et relayant les effets plaisants et récompensants. Ce circuit est également constitué par un ensemble de projections glutamatergiques, DAergiques et GABAergiques entre de nombreuses structures mésocorticolimbiques. Amy : amygdale, Hipp : hippocampe, LH : hypothalamus latéral, LHb : habenula latérale, LDTg : tegmentum dorsolatéral, mPFC : cortex préfrontal médian, NAc : noyau accumbens, RMTg : tegmentum rostromédial, VTA : aire tegmentale ventrale (extrait de Russo et Nestler 2013).

3. Organisation anatomo-fonctionnelle de la voie mésolimbique dopaminergique

a. L'Aire Tegmentale Ventrale

L'ATV fait référence à un ensemble de groupes cellulaires localisés à la base du mésencéphale. Il n'existe pas de consensus sur la compartimentation de la structure et sa nomenclature, mais elle est souvent définie en plusieurs sous-régions contenant les neurones DAergiques du groupe A10. Morales et Margolis proposent ainsi dans une récente revue une compartimentation en cinq sous-régions (Morales and Margolis, 2017) (Figure 13): le noyau parabrachial pigmentaire (PBP), le noyau paranigral (PN), le noyau caudé linéaire (CLi), le noyau interfasciculaire (IF) et le noyau rostral linéaire du raphé (RLi). Il est bien accepté que le PBP et le PN sont des sous-divisions de l'ATV, mais le CLi, l'IF et le RLi ne sont pas toujours inclus (Barrot, 2014; Sanchez-Catalan *et al.*, 2014). Les populations cellulaires de l'ATV sont très hétérogènes, on y retrouve des neurones DAergiques, GABAergiques et glutamatergiques, mais également des neurones combinés capable de co-libération. On retrouve ainsi par exemple des neurones « DA-glutamate » projetant vers le NAcc, et contenant des vésicules indépendantes remplies des neurotransmetteurs, qui sont libérés au niveau de sites séparés sur un seul axone. Il existe également une hétérogénéité dans les neurones DAergiques, au niveau moléculaire quant à l'expression de la TH et de VMAT2, ainsi qu'au niveau de leurs propriétés électrophysiologiques (Morales and Margolis, 2017). Malgré ces différences, ils ont tous en commun la présence de récepteurs GABA de type B.

Les neurones DAergiques de l'ATV reçoivent de nombreuses afférences glutamatergiques et GABAergiques en provenance du cortex préfrontal médian, du tronc cérébral, de structures thalamiques et sous-thalamiques (pour revue, (Barrot, 2014; Sanchez-Catalan *et al.*, 2014; Morales and Margolis, 2017). Pour ce qui est de leurs projections, ils ciblent majoritairement le NAcc, mais également l'amygdale, le cortex, l'hippocampe, le pallidum ventral, les noyaux du lit de la strie terminale, le tubercule olfactif et le locus coeruleus. Les neurones DAergiques de l'ATV sont impliqués dans de nombreuses fonctions, notamment dans la motivation, les phénomènes de conditionnement, de récompense et d'aversion (Tsai *et al.*, 2009; Ilango *et al.*, 2014). Il semblerait cependant que la libération de glutamate et de GABA par les projections de l'ATV puisse suffire à générer des comportements motivés, indépendamment de la DA (Morales and Margolis, 2017). L'implication dans le comportement des différentes

populations cellulaires de l'ATV est très complexe, et dépendrait ainsi de leur phénotype moléculaire, de leur connectivité, mais aussi de leurs partenaires post-synaptiques spécifiques.

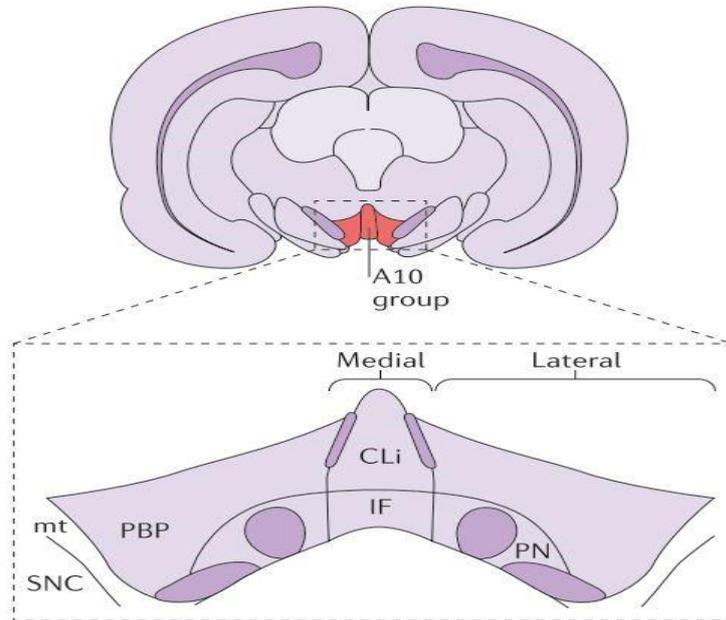


Figure 13 : Organisation anatomique de l'ATV. L'ATV est compartimentée en cinq sous-régions comportant les neurones DAergiques du groupe A10. CLi : noyau caudé linéaire, mt : noyau terminal médial de la voie optique accessoire, IF : noyau interfasciculaire, PBP : noyau parabrachial pigmentaire, PN : noyau paranigral, SNC : substance noire pars compacta (extrait de Morales et Margolis, 2017).

b. Le Noyau Accumbens

Le NAcc fait référence à un ensemble de neurones localisés à l'avant de la bordure postérieure de la commissure antérieure, parallèlement à la ligne médiane du cerveau, et constituant le striatum ventral avec le tubercule olfactif. Certaines de ses limites anatomiques sont très diffuses et difficiles à distinguer, et sont par conséquent sujettes à controverse. Il s'étend notamment par exemple au niveau dorsolatéral dans le putamen et au niveau dorsomédian dans le noyau caudé, sans aucune démarcation claire (Neto *et al.*, 2008). L'organisation structurelle du NAcc est historiquement décrite selon deux critères, d'une part par un arrangement en mosaïque de type striosome (« patch-matrix ») en deux compartiments; et d'autre part, de manière unique par rapport au reste du striatum, par une

division en deux régions : une partie centrale autour de la commissure antérieure, le cœur (ou *core*), et une partie l'entourant médialement, ventralement et latéralement, l'écorce (ou *shell*) (Heimer *et al.*, 1991; Zahm and Brog, 1992). Le NAcc est régulièrement décrit comme étant l'interface entre le système limbique et le système moteur, et comme faisant partie de la « boucle cortico-striato-thalamo-corticale », impliquée dans des fonctions motrices, affectives et limbiques (Yager *et al.*, 2015). Il reçoit de nombreuses afférences indirectes en provenance des projections DAergiques mésolimbiques de l'ATV, ainsi que des projections directes glutamatergiques de l'amygdale, de l'hippocampe (subiculum ventral), du thalamus, ainsi que des cortex prélimbique et préfrontal (pour revue, (Salgado and Kaplitt, 2015). Il a notamment été montré qu'il existe des afférences convergentes au niveau de la même synapse dans certains neurones du NAc, renforçant l'idée d'un rôle d'interface d'intégration entre les structures limbiques et motrices (Ikemoto and Panksepp, 1999). Pour ce qui est de ses projections, le NAcc envoie principalement des afférences dans diverses régions du mésencéphale et au niveau des ganglions de la base, notamment du pallidum ventral. On retrouve également des projections au niveau du noyau tegmental rostro-médial (ou « queue » de l'ATV), de la SN, de la formation réticulée et du pont.

Les sous-divisions du NAcc lui donnent une hétérogénéité aussi bien morphologique que fonctionnelle. D'un point de vue cellulaire, les neurones du NAcc sont très majoritairement GABAergiques (95%), de taille moyenne et épineux, ce qui leur vaut l'appellation historique de *Medium Spiny Neurons* (MSN) (Kemp and Powell, 1971). Le reste de la population cellulaire du NAcc est constituée d'interneurones cholinergiques ou GABAergiques. Les MSN présentent des variations morphologiques selon leur localisation dans le NAcc, les neurones du *shell* étant plus petits, avec une plus faible densité d'épines dendritiques, qui présentent moins de terminaisons et de branches (Yager *et al.*, 2015). On distingue également deux populations distinctes de MSN, exprimant des récepteurs différents (Wenzel *et al.*, 2015) :

- Une population exprimant des récepteurs D1 couplés à une protéine Gs et projetant principalement vers l'ATV et la SN, dans la voie « directe » des ganglions de la base, impliqués dans les comportements dirigés vers un but.
- Une population exprimant des récepteurs D2 couplés à une protéine Gi/o et projetant principalement vers le pallidum ventral, dans la voie « indirecte » des ganglions de la base, impliqués dans les comportements aversifs.

Environ 25% des MSN expriment néanmoins à la fois les deux types de récepteurs, et sont restreints essentiellement dans la partie *shell* du NAcc (Hasbi, O'Dowd and George, 2010). Il semblerait également que, bien qu'il n'y ait aucune différence de *turnover* de la DA entre les deux régions, le *shell* contienne plus de récepteurs DAergiques, mais que le *core* contienne plus de DAT et utilise mieux la DA (Deutch and Cameron, 1992; Jones *et al.*, 1996). Le NAcc joue un rôle central dans la motivation, le renforcement et le comportement dirigé vers un but (Schultz, 2010). Néanmoins, les variations morphologiques dans ses régions ont pour conséquence une implication différente de celles-ci dans ses fonctions. Les neurones du *shell* ont été montrés impliqués dans le traitement des stimuli non conditionnés ainsi que dans les propriétés renforçantes de la nouveauté, l'aspect récompensant des substances ou encore la rechute aux drogues (Parkinson *et al.*, 1999; Alderson *et al.*, 2001; Koob, 2006; Goodman, 2008; Koob and Volkow, 2010). Les neurones du *core* ont été montrés impliqués dans le traitement des stimuli conditionnés et la modulation du conditionnement Pavlovien, ainsi que dans la réponse aux stimuli motivationnels ou encore les choix impulsifs (Parkinson *et al.*, 1999; Hernandez, Sadeghian and Kelley, 2002; Cardinal and Cheung, 2005).

c. Régulation de l'axe Aire Tegmentale Ventrale – Noyau Accumbens

La régulation de la voie DAergique mésolimbique est très complexe et implique de nombreux systèmes de neurotransmission, qui vont agir aussi bien au niveau du corps cellulaire des neurones de l'ATV, que des terminaisons striatales dans le NAcc (Figure 14). Comme nous l'avons décrit précédemment, les neurones DAergiques ont la particularité de libérer de deux façons, tonique et phasique, qui sont modulées par des mécanismes différents. Ces neurones peuvent passer d'une signalisation à l'autre à des échelles de l'ordre de la milliseconde, et il existe ainsi une régulation dynamique très fine entre inhibition et excitation (pour revue, (Morikawa and Paladini, 2011). Des enregistrements *in vivo* chez l'animal montrent qu'environ 50% des neurones DAergiques mésencéphaliques ne sont pas spontanément actifs (Grace and Bunney, 1984). Les neurones DAergiques de l'ATV sont en effet constamment sous l'influence d'importants potentiels post-synaptiques inhibiteurs GABAergiques, en provenance principalement du pallidum ventral, mais aussi des MSN du NAcc et d'inter-neurones de l'ATV même (Floresco *et al.*, 2003; Morikawa and Paladini, 2011).

Un mécanisme de désinhibition par inactivation de cette inhibition permet d'induire une activité tonique spontanée, seulement dans une sous-population « active » de ces neurones, le reste des neurones étant « silencieux ». Cette action passe notamment par les récepteurs GABA_A et GABA_B au niveau des neurones DAergiques de l'ATV. Pour ce faire, les neurones GABAergiques du NAcc font partie d'une importante voie de régulation naissant du subiculum ventral de l'hippocampe (Grace *et al.*, 2007). L'activation de ce dernier va en effet promouvoir l'activité des MSN du NAcc par excitation glutamatergique, qui vont à leur tour inhiber le pallidum ventral et provoquer la levée de son inhibition sur les neurones DAergiques de l'ATV. Les projections GABAergiques du NAcc agissent donc à la fois pour stimuler indirectement la libération de DA, mais aussi en tant que rétrocontrôle direct. Le système opioïdérique et ses opioïdes endogènes interviennent également indirectement dans cette régulation, en agissant sur la modulation GABAergique de la libération tonique de DA. L'activation des récepteurs mu situés au niveau des corps cellulaires des inter-neurones GABA de l'ATV va ainsi indirectement augmenter la libération de DA, en levant le tonus inhibiteur exercé par ces neurones (Pan, 1998; Arias-Carrión *et al.*, 2014). Au contraire, l'activation des récepteurs kappa des neurones dynorphinergiques de l'ATV va diminuer la libération de DA. L'activation des récepteurs delta, par la production d'enképhaline des neurones du noyau arqué, semblerait également jouer un rôle modulateur en agissant sur les inter-neurones GABA de l'ATV et les MSN du NAcc (Arias-Carrión *et al.*, 2014). Enfin, le système sérotoninergique par les neurones du noyau raphé, et le système noradrénergique par les neurones du locus coeruleus, interviennent également dans la régulation de la voie mésolimbique, avec un effet biphasique selon la quantité de neurotransmetteurs et les récepteurs impliqués (Morikawa and Paladini, 2011; Arias-Carrión *et al.*, 2014).

La libération phasique mésolimbique de DA est quant à elle dépendante d'afférences excitatrices sur l'ATV. Les projections glutamatergiques et cholinergiques au niveau de ses neurones DAergiques jouent un rôle majeur dans l'induction de ce mode de libération (Grace, 2000; Floresco *et al.*, 2003; Grace *et al.*, 2007; Morikawa and Paladini, 2011). La majorité de l'innervation cholinergique de l'ATV provient des noyaux pédonculopontin du tegmentum (NPPT) et latérodorsal du tegmentum (NLT), l'acétylcholine (ACh) agissant au niveau de deux sous-types de récepteurs, des récepteurs ionotropiques (nicotiques $\alpha 3-7$ et $\beta 2-4$) et métabotropiques (muscariniques M5). Bien que ces projections soient majoritairement

excitatrices, certaines sont aussi inhibitrices selon le récepteur impliqué. L'innervation glutamatergique provient de nombreuses afférences corticales (principalement le cortex préfrontal), et sous-corticales, dont le NPPT et le NLT. Ces projections ciblent les récepteurs ionotropiques AMPA et NMDA des neurones DAergiques de l'ATV, ainsi que les récepteurs métabotropiques mGluR1. De par leur innervation glutamatergique et cholinergique, NPPT et NLT fonctionnent de concert pour réguler la libération phasique de DA. Le NPPT est particulièrement important puisqu'il a été montré qu'il régule directement l'activité phasique des neurones de l'ATV, son activation entraînant une augmentation de la transition d'une signalisation tonique à phasique (Floresco *et al.*, 2003), tandis que son inactivation la diminue au contraire (Pan and Hyland, 2005). Le NLT joue quant à lui un rôle permissif pour que le neurone DAergique réponde au glutamate, qui ne peut pas déclencher seul une activité phasique, probablement au travers de la transmission cholinergique (Grace *et al.*, 2007). Des mécanismes de libération somatodendritiques entre les neurones DAergiques de l'ATV jouent aussi un rôle de rétrocontrôle sur la transmission excitatrice glutamatergique (Morikawa and Paladini, 2011).

Il existe également un contrôle local important de la libération de DA au niveau des terminaisons striatales. Un mécanisme clé de cette régulation provient de l'activité du DAT et des « auto-récepteurs » D2 pré-synaptiques. L'activité du DAT limite le rayon d'action de la DA et va ainsi par conséquent restreindre l'activation des récepteurs DAergiques (Rice, Patel and Cragg, 2011). Les autorécepteurs D2 agissent quant à eux en régulant l'exocytose de la DA dans les terminaisons axonales, en régulant la recapture de DA par augmentation de l'activité du DAT, ainsi qu'en inhibant la tyrosine hydroxylase (Ford, 2014). C'est notamment par ces auto-récepteurs que la libération tonique de DA jouerait elle-même un rôle inhibiteur local sur la libération phasique du neurotransmetteur. Les concentrations extracellulaires toniques de DA sont en effet trop faibles pour activer les récepteurs de la fente synaptique, mais suffisantes pour activer les auto-récepteurs D2 (Floresco *et al.*, 2003). Des techniques d'optogénétique ont également permis de mettre en évidence un contrôle terminal local encore plus complexe, au niveau de varicosités DAergiques, par influences glutamatergique et cholinergique (Cachope and Cheer, 2014).

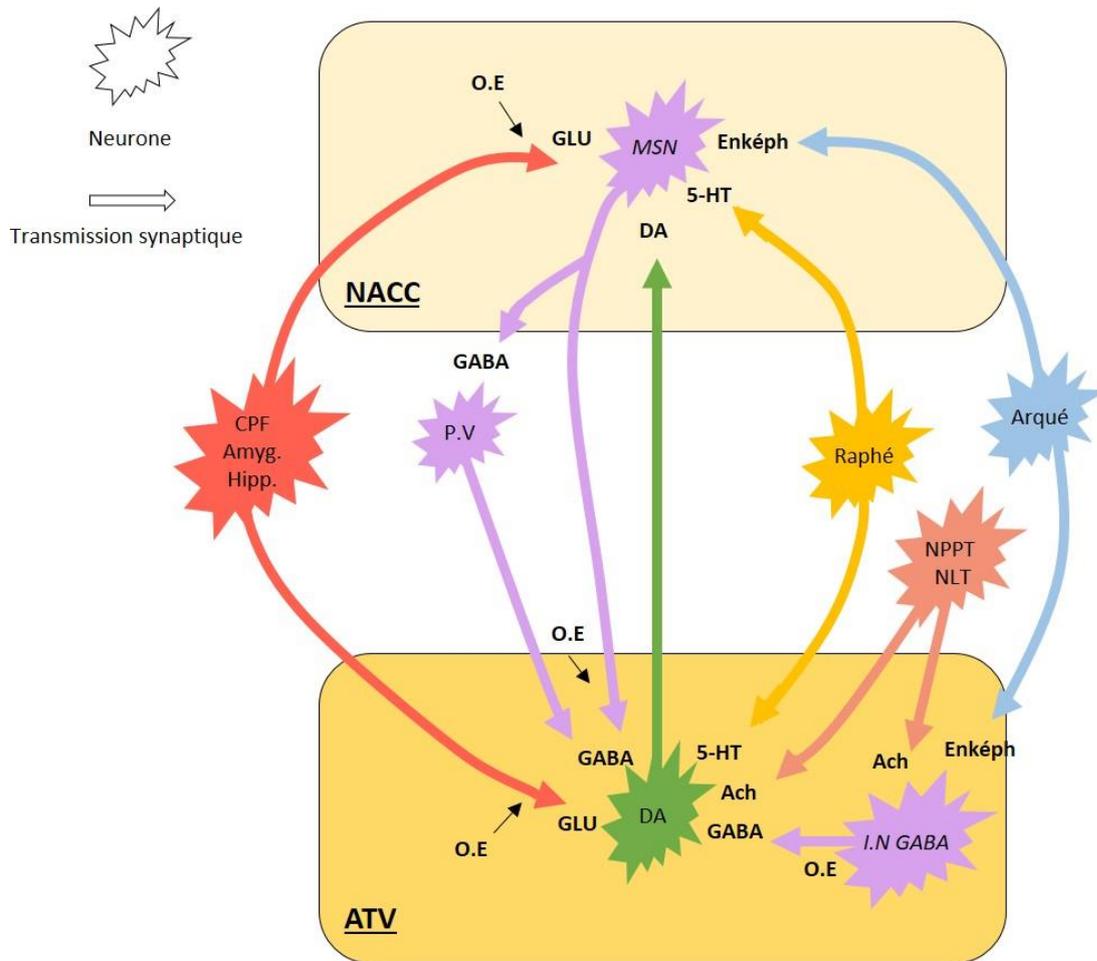


Figure 14 : Schéma récapitulatif simplifié de la régulation de l'axe ATV-Nacc. Ach : acétylcholine, Amyg. : amygdale, ATV : aire tegmentale ventrale, CPF : cortex préfrontal, GLU : glutamate, DA : dopamine, Enképh. : enképhaline, GABA : acide γ -aminobutyrique, I.N GABA : interneurone GABA, Hipp. : hippocampe, MSN : medium spiny neuron, NPPT : noyau pédonculopontin du tegmentum, NLT : noyau latérodorsal du tegmentum, O.E : opioïdes endogènes, P.V : pallidum ventral, 5-HT : sérotonine (adapté de Arrias-Carrion et al. 2014).

B. Implication du système dopaminergique mésolimbique dans la neurobiologie de la prise de décision

1. Le système dopaminergique comme neuromodulateur de la prise de décision

La PdD nécessite la mise en jeu et l'interaction d'un ensemble de processus cognitifs, émotionnels et motivationnels. Le système DAergique est impliqué dans la régulation d'une grande partie de ceux-ci, comme la mémoire de travail, l'apprentissage associatif, le caractère dirigé de l'action ou encore la flexibilité comportementale (pour revue, (Aarts, van Holstein

and Cools, 2011)). Il s'agit par conséquent d'un des deux systèmes de neurotransmission les plus étudiés dans le cadre de la PdD, avec le système sérotoninergique, lui aussi impliqué dans un grand nombre de processus (flexibilité, vigilance, impulsivité...) (de Visser *et al.*, 2011). Nous ne nous focaliserons néanmoins au cours de cette thèse que sur le premier. Il est bien mis en évidence dans la littérature scientifique que des modifications du système DAergique peuvent moduler les profils de choix en *IGT*. Les patients souffrant d'une pathologie caractérisée par des atteintes du système DAergique (schizophrénie, maladie de Parkinson, jeu pathologique, addiction aux drogues...) ont ainsi une PdD inadaptée dans la tâche. Des études ont également observé que la lésion de régions DAergiques terminales entraîne plus de choix risqués et désavantageux en *IGT* (Bechara *et al.*, 1999; Rogers *et al.*, 1999). De même, il a été montré qu'une diminution aiguë de l'activité DAergique par déplétion de la tyrosine aboutit à de mauvaises performances (Gijsman *et al.*, 2002; Sevy *et al.*, 2006), et que cette diminution pourrait être associée à une plus faible sensibilité aux pertes (Scarnà *et al.*, 2005). Chez l'animal, plusieurs résultats impliquent le système DAergique dans la PdD risquée (c'est-à-dire de choix réalisés malgré la conscience du risque). En effet, il a été observé une augmentation de choix risqués en *probability discounting task* (où l'animal a le choix entre une petite récompense « sûre » et une forte récompense « risquée ») par l'activation des récepteurs D1 et D2, et au contraire une diminution par activation des récepteurs D3 (Onge and Floresco, 2009). De même, la lésion (Cardinal and Howes, 2005) ou l'inactivation (Stopper and Floresco, 2011) du NAcc induirait une aversion au risque. La modulation du système DAergique modifie également le processus de choix chez le rongeur en *RGT*, bien que ce soit de manière moins identifiée. Il a été montré que la stimulation de ce système par des amphétamines diminue les performances dans la tâche, alors qu'au contraire des antagonistes D2 les améliorent, tandis que les agonistes D1 n'ont pas d'effet (Zeeb, Robbins and Winstanley, 2009). D'autres études n'ont cependant trouvé aucun effet de la modulation de ce système sur le choix (Di Ciano *et al.*, 2015), ou alors seulement dans le cadre d'une PdD inadaptée (Di Ciano *et al.*, 2018), ou de la modulation concomitante du système sérotoninergique (Baarendse *et al.*, 2014).

2. Le système dopaminergique mésolimbique au centre du processus de récompense et du comportement dirigé vers un but

Le NAcc est souvent décrit comme le « centre de la récompense », et joue un rôle fondamental dans la sélection de l'action, pour faciliter le comportement dirigé vers un but et le rendre efficace (pour revue, (Floresco, 2015)). Il est particulièrement recruté par des structures corticales et limbiques dans le cadre d'un contexte ambigu et incertain, et il est suggéré que ses sous-régions jouent un rôle distinct : le *core* serait plutôt impliqué dans l'incitation de l'approche vers un stimulus présentant une saillance motivationnelle, tandis que le *shell* supprimerait les actions non pertinentes et non récompensantes pour que le but soit atteint plus efficacement. Le NAcc encode également les conséquences d'une action, pouvant aider de cette manière à guider les suivantes, bien que ce processus ne soit pas bien compris. La transmission DAergique mésolimbique a reçu le plus d'attention dans la recherche, au regard de son action neurophysiologique dans le NAcc, et sa contribution dans le comportement. En effet, il a été montré que de nombreux stimuli récompensant comme la nourriture (Wise *et al.*, 1978), l'eau (Gerber, Sing and Wise, 1981), une stimulation de l'hypothalamus latéral (Fouriez, Hansson and Wise, 1978) ou encore des drogues d'abus (Yokel and Wise, 1975; De Wit and Wise, 1977) deviennent « inefficaces » avec l'utilisation d'antagonistes DAergiques. Depuis l'identification de la DA dans les années 50, de nombreuses théories ont ainsi été développées pour expliquer son rôle dans le processus de récompense. Ces théories ne sont pas exclusives et présentent différentes perspectives, chacune ayant été contestée à un moment ou un autre (pour revue, (Wise, 2004)). Généralement, ces théories proposent que la DA est fondamentale dans les comportements motivés et dirigés vers un but, de par un effet hédonique, motivationnel, ou encore un rôle dans l'apprentissage par renforcement. Robinson et Berridge proposent par exemple que la transmission DAergique dans le striatum ventral permet l'attribution d'une « saillance incitative » à un stimulus neutre, qui va alors susciter un désir (ou « wanting »), et engager le comportement (Robinson and Berridge, 2001). L'une des théories les plus révolutionnaires en neurosciences concerne néanmoins le rôle de la DA dans l'apprentissage par renforcement et la possible propriété de sa libération phasique en tant que « signal d'apprentissage ».

Durant ses enregistrements électrophysiologiques, Schultz fit l'observation que la présentation d'un stimulus positif (ou récompensant) « inattendu » augmentait la fréquence

de l'activité phasique des neurones DAergiques de l'ATV, alors qu'au contraire la présentation d'un stimulus négatif (ou aversif) « inattendu » la supprimait entièrement (Schultz, Dayan and Montague, 1997; Schultz, 1998). De même, une récompense répétée devenue « attendue » aboutissait à une réponse DAergique plus faible. Il observa également qu'après que la récompense soit devenue « attendue », la modulation de l'activité DAergique prenait place dès la présentation d'un indice contextuel qui lui était associé. Ces travaux ont conduit au développement de la théorie de « l'erreur de prédiction » (Figure 15). Elle suggère que la modification phasique de la libération de DA dans la voie mésolimbique représente le contraste entre la valeur actuelle d'un stimulus reçu et la valeur qui en a été estimée, selon des indices contextuels ou une expérience précédente (Schultz, 2002; Bayer and Glimcher, 2005). La présentation d'un stimulus récompensant aboutit ainsi à une modification transitoire de la concentration extracellulaire de DA dans le NAcc (Brown *et al.*, 2011; Flagel *et al.*, 2011), de même que la présentation d'un stimulus aversif (Wenzel *et al.*, 2015), et ces modifications d'activité pourraient constituer des signaux permettant d'apprendre et adapter son comportement. Au niveau cellulaire, l'encodage d'erreurs de prédiction se traduit par des modifications de plasticité synaptique des neurones DAergiques mésolimbiques et de ses zones de projection, qui caractérisent la « mise en mémoire » d'associations de type stimulus – récompense (Hernandez, Schiltz and Kelley, 2006). Il a ainsi été montré que la libération phasique mésolimbique est fondamentalement impliquée dans l'apprentissage des associations et dans le conditionnement pavlovien (Day *et al.*, 2007). L'augmentation de la libération phasique dans le NAcc a été associée à l'encodage de différents paramètres d'une récompense, comme sa nouveauté (Robinson, Heien and Wightman, 2002; Day *et al.*, 2007), sa probabilité (Fiorillo, Tobler and Schultz, 2003) ou encore sa magnitude (Tobler, Fiorillo and Schultz, 2005). Des expériences utilisant des tâches opérantes ont également mis en évidence sa nécessité dans l'apprentissage associatif, avec un pic de DA phasique correspondant au moment de l'action opérante (Roitman *et al.*, 2004; Owesson-White *et al.*, 2008). Il est aussi intéressant de noter que la signalisation phasique est différente selon la région du NAcc, et exprime différents aspects de la valeur de la récompense dans le *core* et le *shell*. La transmission dans le *core* correspondrait plus à l'expression de la valeur motivationnelle d'une récompense future, alors que la transmission dans le *shell* serait plus reliée à sa nouveauté et sa valence (Roitman *et al.*, 2008; Dreyer *et al.*, 2016). Enfin, la libération phasique dans le *core*,

mais pas le *shell*, encoderait le « coût » motivationnel de la réponse ainsi que le délai de la récompense (Day *et al.*, 2010).

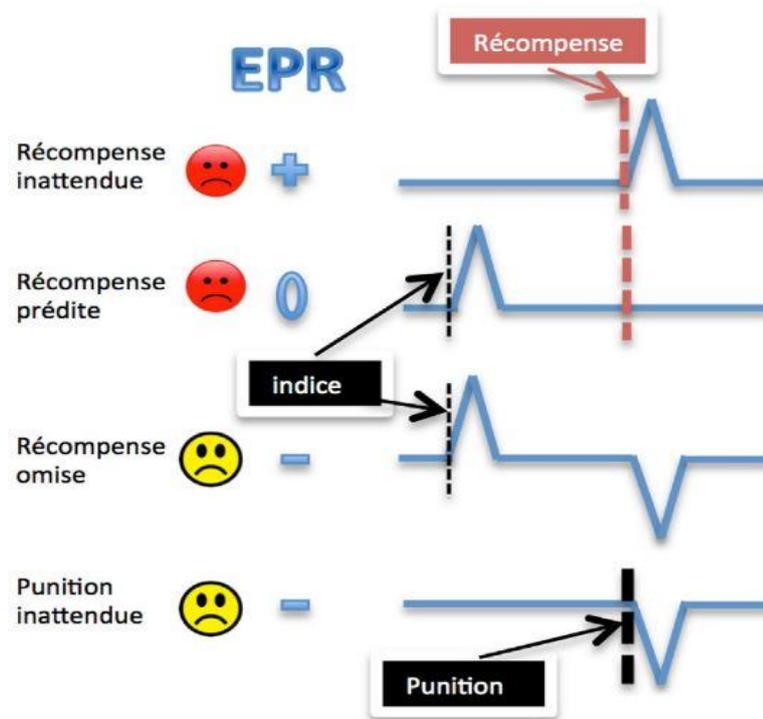


Figure 15 : Théorie de « l'erreur de prédiction » (EPR) des neurones DAergiques de la VTA. Les neurones DAergiques de la VTA codent des EPR, caractéristiques du contraste entre la valeur actuelle et la valeur estimée d'un stimulus. La fréquence de décharge des neurones DAergiques augmente seulement lorsque la récompense est inattendue, et diminue lorsqu'elle est omise ou face à un stimulus négatif inattendu. La répétition d'une récompense attendue modifie la réponse DAergique dès la présentation d'un indice contextuel associé, et lui attribue une « valeur incitatrice » (extrait de (Naassila, 2018)).

Pour résumer, la signalisation phasique dans le NAcc joue probablement un rôle renforçant dans le comportement dirigé vers un but, en agissant comme signal d'apprentissage par l'encodage d'erreurs de prédiction. Elle serait également possiblement impliquée dans des aspects motivationnels de celui-ci, en jouant un rôle d'initiation du comportement (Phillips *et al.*, 2003). La signalisation tonique, qui fluctue à une échelle de temps beaucoup plus lente, concernerait quant à elle des aspects principalement motivationnels. En effet, il a été montré chez le rat que le niveau tonique extracellulaire de DA dans le NAcc pourrait dicter l'effort à produire pour obtenir une récompense dans le cadre d'une association déjà apprise, et pourrait donc réguler les aspects motivationnels du

comportement dirigé vers un but (Salamone *et al.*, 2007). Une théorie récente propose également que la valeur absolue de la concentration tonique dans le NAcc constitue une estimation continue du taux de récompense pouvant influencer la vigueur et la direction de la réponse (St. Onge *et al.*, 2012). Cette libération a néanmoins déjà été impliquée dans des aspects de renforcement, puisque le niveau tonique extracellulaire dans le NAcc semble baisser dans la condition d'aversion et augmenter dans celle de préférence (Besson and Louilot, 1997). De plus, la libération tonique dans le *core* et la partie dorsolatérale du *shell* du NAcc a été impliquée dans le phénomène d'inhibition latente (permettant de « filtrer » les stimuli déjà connus), tandis que celle dans la partie ventromédiale du *shell* a été impliquée dans la perception affective du stimulus (Jeanblanc, Hoeltzel and Louilot, 2002). Globalement, les résultats présentés mettent donc en évidence le rôle de la libération mésolimbique de DA pour mettre à jour la mémoire associative d'un individu, le motiver, et le guider dans l'adaptation de son comportement, selon l'ensemble des paramètres qui ont été attribués à un stimulus. En étant ainsi au centre du processus de récompense, elle joue un rôle fondamental dans la PdD. Les travaux de Sugam (Sugam *et al.*, 2012) suggèrent ainsi un rôle important de la libération phasique de DA dans le *core* dans la PdD risquée. De même, il a été montré que cette libération fournit un retour d'informations permettant de diriger la sélection de l'action lors de ce comportement (Stopper *et al.*, 2014). Des résultats récents montrent quant à eux une corrélation entre PdD risquée et la libération phasique de DA dans le *shell* (Freels *et al.*, 2019). Dans ce contexte, il est proposé que des anomalies dans cette transmission soient en partie à l'origine des déficits de PdD observés dans de nombreux troubles psychiatriques. Les études de Fitoussi et collaborateurs ont par exemple mis en évidence, chez le rongeur, qu'une PdD inadaptée en RGT est caractérisée par un déséquilibre DAergique et sérotoninergique au repos, ainsi qu'un recrutement anormalement faible de régions clés dans la PdD, dont la partie *core* du NAcc (Fitoussi *et al.*, 2014). Plus récemment, il a été montré qu'une hyperactivité de la signalisation DAergique mésolimbique aboutit à une PdD aberrante chez le rat, caractérisée par une insensibilité aux pertes et à la punition (Verharen *et al.*, 2018). L'altération de la transmission DAergique mésolimbique, aboutissant donc à l'assignement de valeurs inappropriées, est notamment au centre des principales théories de l'addiction aux drogues, qui cherchent à expliquer comment la décision de consommer n'est plus correctement contrôlée et devient pathologique (pour revue, (Wanat *et al.*, 2009; Willuhn *et al.*, 2010)).

C. Neurobiologie des effets de l'alcool et du *Binge Drinking* sur le système dopaminergique mésolimbique

1. Implication du système dopaminergique mésolimbique dans les effets renforçants de l'alcool

Un grand nombre d'études ont mis en évidence l'implication du système DAergique mésolimbique dans les effets comportementaux de l'alcool (pour revue, (Spanagel, 2009; Morikawa and Paladini, 2011)). Il a été montré par exemple que des rats s'auto-administrent de l'EtOH directement dans l'ATV, préférentiellement dans sa partie postérieure, et que ce comportement est bloqué par la co-administration d'un agoniste D2 (quinpirole) (Gatto *et al.*, 1994; Rodd *et al.*, 2004, 2005). De même, le blocage des récepteurs DAergiques de manière systémique ou localement dans le NAcc réduit le comportement d'auto-administration (AA) chez le rat (Samson *et al.*, 1993, 1997; Hodge, Samson and Chappelle, 1997). Chez l'Homme, une étude initiale d'Athlenius et collaborateurs (Ahlenius *et al.*, 1973) a montré qu'un blocage de la synthèse de la DA réduit l'euphorie et la stimulation comportementale associée à l'alcool. Des études d'imagerie dans les années 2000 ont ensuite permis d'observer une augmentation de la concentration extracellulaire de DA et de la corrélérer aux effets plaisants de l'alcool (Boileau *et al.*, 2003). L'implication exacte du système DAergique dans les effets renforçants de l'alcool n'est néanmoins pas complètement élucidée. Il a par exemple été mis en évidence que la lésion des terminaisons DAergiques innervant le NAcc réduit significativement l'acquisition du comportement de consommation chez le rat alcoolo-préférent, mais n'affecte pas le maintien de celui-ci une fois déjà acquis, suggérant l'intervention de mécanismes différents (Ikemoto *et al.*, 1997). Globalement, il est accepté que ce système soit impliqué dans les effets renforçants primaires de l'alcool. De nombreuses études travaillent ainsi depuis des années à comprendre comment l'alcool affecte la transmission DAergique mésolimbique, et comment ces atteintes pourraient expliquer la transition vers la perte de contrôle de la consommation caractéristique du TUA.

2. Effets de l'administration aiguë et chronique d'éthanol sur le système dopaminergique mésolimbique, et application aux effets renforçants de l'alcool
 - a. Effets de l'administration aiguë d'éthanol

Les travaux de Di Chiara et Imperato montrèrent pour la première fois que l'EtOH, comme toutes les drogues, entraîne une augmentation de la libération mésolimbique de DA, et par conséquent de la concentration tonique dans le NAcc de 25 à 50% (Imperato and Di Chiara, 1986). Cet effet a été bien mis en évidence de manière dose-dépendante chez l'animal aussi bien *ex vivo* sur tranche (Brodie, Shefner and Dunwiddie, 1990; Okamoto, Harnett and Morikawa, 2006), que *in vivo* après infusion locale dans le NAc (Yim *et al.*, 1998), injection i.p (Imperato and Di Chiara, 1986; Di Chiara and Imperato, 1988), injection i.v (Robinson *et al.*, 2009), ou encore AA orale (Weiss *et al.*, 1993). Les résultats de microdialyses révèlent notamment un pic de l'effet après une injection de 1 à 2g/kg, avec une faible atténuation à 2,5g/kg (Imperato and Di Chiara, 1986; Robinson *et al.*, 2009). Cette libération augmentée à également été observée chez l'Homme (Boileau *et al.*, 2003). Il a également été montré que pour une dose i.v de 1 à 1,5g/kg, cette augmentation est plus importante dans le *shell* que dans le *core* du NAcc (Howard *et al.*, 2008), ce qui participe à l'idée que la concentration tonique de DA dans le *shell* est très sensible aux drogues (Di Chiara *et al.*, 2004).

Les effets de l'administration aiguë d'EtOH sur la transmission phasique de DA ne sont quant à eux pas clairement identifiés, et les résultats de la littérature scientifique montrent toute la complexité de cette signalisation. *In vivo*, il a été observé un effet biphasique de l'injection i.v ou i.p d'EtOH sur la libération phasique évoquée de DA dans le *core* du NAcc, une faible dose (0,1 g/kg) l'augmentant (Yavich and Tiihonen, 2000; Pelkonen *et al.*, 2010), tandis que des doses modérées à élevées (1 à 5g/kg) la diminue au contraire (Yavich and Tiihonen, 2000; E. A. Budygin *et al.*, 2001; Robinson *et al.*, 2005; Jones, Mathews and Budygin, 2006; Pelkonen *et al.*, 2010; Shnitko *et al.*, 2016). Des études *ex vivo* sur tranche chez le rat et la souris ont également montré un effet inhibiteur d'une forte dose d'EtOH (150-200 mM) sur la libération phasique évoquée de DA, et aucun effet d'une dose plus faible (<100 mM) (Evgeny A Budygin *et al.*, 2001; Mathews *et al.*, 2006). Au niveau de la recapture, il a régulièrement été observé que l'administration aiguë d'EtOH n'affecte pas la vélocité du DAT ni son affinité pour la DA (Samson *et al.*, 1997; Evgeny A Budygin *et al.*, 2001; Jones, Mathews and Budygin, 2006;

Mathews *et al.*, 2006). Une diminution de la vitesse du DAT dans le striatum ventral a cependant déjà été observée (Robinson *et al.*, 2005). En contraste, il a été mis en évidence plus récemment que l'injection d'EtOH augmente la fréquence des *transients*, c'est-à-dire de l'activité phasique spontanée des neurones DAergiques de l'ATV. Cet effet a été observé sur animal anesthésié après une injection i.v d'1g/kg dans le *shell* (Cheer *et al.*, 2007) et des doses cumulatives de 0,125 à 2g/kg i.v dans le *shell* et le *core* (Robinson *et al.*, 2009). De manière intéressante dans ces deux études, alors que l'augmentation tonique de DA dans le NAcc observée était relativement uniforme, l'effet sur ces activités spontanées s'est révélé hétérogène. Il se pourrait donc que l'EtOH agisse différemment selon des micro-circuits présents dans le NAcc. Au vu de ces résultats *ex vivo* et *in vivo*, bien qu'il soit compliqué d'en déduire un effet net, l'effet aigu de l'EtOH sur la signalisation phasique DAergique pourrait ainsi être interprété par une augmentation de la fréquence des *transients*, mais dont l'amplitude serait possiblement plus faible (Wanat *et al.*, 2009; Willuhn *et al.*, 2010; Shnitko *et al.*, 2016). Il est néanmoins proposé que la libération phasique évoquée plus faible observée puisse être liée à un mécanisme régulateur impliquant les auto-récepteurs D2, du fait de l'élévation du niveau tonique extracellulaire. La contribution des *transients* à l'augmentation de la concentration extracellulaire de DA mesurée en microdialyse n'est pas connue. L'augmentation de ceux-ci par différentes drogues d'abus est en tout cas un effet bien documenté par la recherche (pour revue, (Covey, Roitman and Garris, 2014)).

La littérature scientifique montre donc globalement que l'administration aiguë d'EtOH augmente la transmission DAergique mésolimbique, en augmentant la signalisation tonique et probablement phasique. Au niveau des mécanismes cellulaires, du fait de l'absence d'effet terminal majoritairement observée sur le DAT et la recapture, il semblerait que l'EtOH agisse principalement sur l'activité des neurones DAergiques de l'ATV. Il a été ainsi montré qu'il affecte la transmission DAergique mésolimbique de cette manière directement et indirectement, en agissant sur leurs propriétés intrinsèques, mais aussi au niveau des afférences des autres systèmes de neurotransmission (Figure 16). L'EtOH agit directement sur l'activité des neurones DAergiques de l'ATV en modulant leur excitabilité. Les travaux de Gessa et collaborateurs furent les premiers à montrer chez l'animal qu'une faible dose systémique d'EtOH (0,125-0,5 g/kg i.v) produit une augmentation dose-dépendante (30-80%) de l'activité des neurones DAergiques de la VTA (Gessa *et al.*, 1985). Son action, qui est complexe et n'est

pas encore totalement élucidée, pourrait porter sur les multiples espèces de canaux ioniques impliqués dans cette excitabilité, incluant notamment les canaux ioniques calciques de type L et les courant GIRK (pour revue, (Morikawa and Morrisett, 2010)). Il semblerait notamment qu'il modifie le potentiel d'action membranaire des neurones DAergiques présentant une activité spontanée, en diminuant la taille et la durée de la phase d'hyperpolarisation, ainsi qu'en accélérant la rampe de dépolarisation vers le seuil d'activation d'un nouveau potentiel d'action (Okamoto, Harnett and Morikawa, 2006). L'EtOH influencerait ainsi l'activité « pacemaker » de ces neurones dans l'ATV et augmenterait leur activité tonique.

L'EtOH augmente également la libération de DA dans la voie mésolimbique de manière indirecte, en agissant sur les systèmes de neurotransmission impliqués dans sa régulation (pour revue, (Morikawa and Morrisett, 2010)). Pour ce faire, Il est notamment bien mis en évidence que l'EtOH diminue principalement l'activité des inter-neurones GABAergiques de l'ATV, aboutissant à une levée du frein inhibiteur exercé sur ses neurones DAergiques. Cet effet a été observé de manière dose-dépendante aussi bien *in vivo* (injection i.p 0,2 – 2 g/kg, (Gallegos *et al.*, 1999)) que sur tranche (20-80 mM (Xiao *et al.*, 2007)). De manière intéressante, il a déjà été montré que de faibles doses d'EtOH administrées en i.v (0,01 – 0,1 g/kg) peuvent cependant au contraire stimuler les inter-neurones GABAergiques de l'ATV (Steffensen *et al.*, 2009). Plusieurs études montrent que l'action de l'EtOH ciblerait possiblement les récepteurs NMDA, en inhibant leur effet excitateur sur les neurones GABA (Stobbs *et al.*, 2004; Williams *et al.*, 2019), mais aussi directement les récepteurs GABAA (Xiao *et al.*, 2007) et GABAB (Federici *et al.*, 2009), qui régulent l'action inhibitrice sur les neurones DAergiques. Les récepteurs D2 seraient également impliqués puisqu'il a été observé que l'administration d'antagonistes (éticlopride) bloque l'effet inhibiteur de l'EtOH sur les neurones DAergiques de l'ATV (Ludlow *et al.*, 2009). L'EtOH freine également l'inhibition GABAergique en interagissant avec le système opioïde. Il est ainsi capable de modifier la synthèse ou la libération de nombreux peptides opioïdes endogènes, ainsi que de modifier la densité et les propriétés des récepteurs de ce système (Cowen and Lawrence, 1999). Il entraîne notamment la libération de bêta-endorphines qui vont agir au niveau des récepteurs mu aux opioïdes (Xiao *et al.*, 2007; Jarjour, Bai and Gianoulakis, 2009), aboutissant à l'augmentation de la libération mésolimbique de DA. De possibles mécanismes passant par les récepteurs delta aux opioïdes ont de plus été rapportés (Margolis *et al.*, 2008), et plusieurs

études ont aussi démontré que la stimulation des récepteurs kappa supprime la consommation et la préférence à l'EtOH (Lindholm *et al.*, 2001; Logrip, Janak and Ron, 2009).

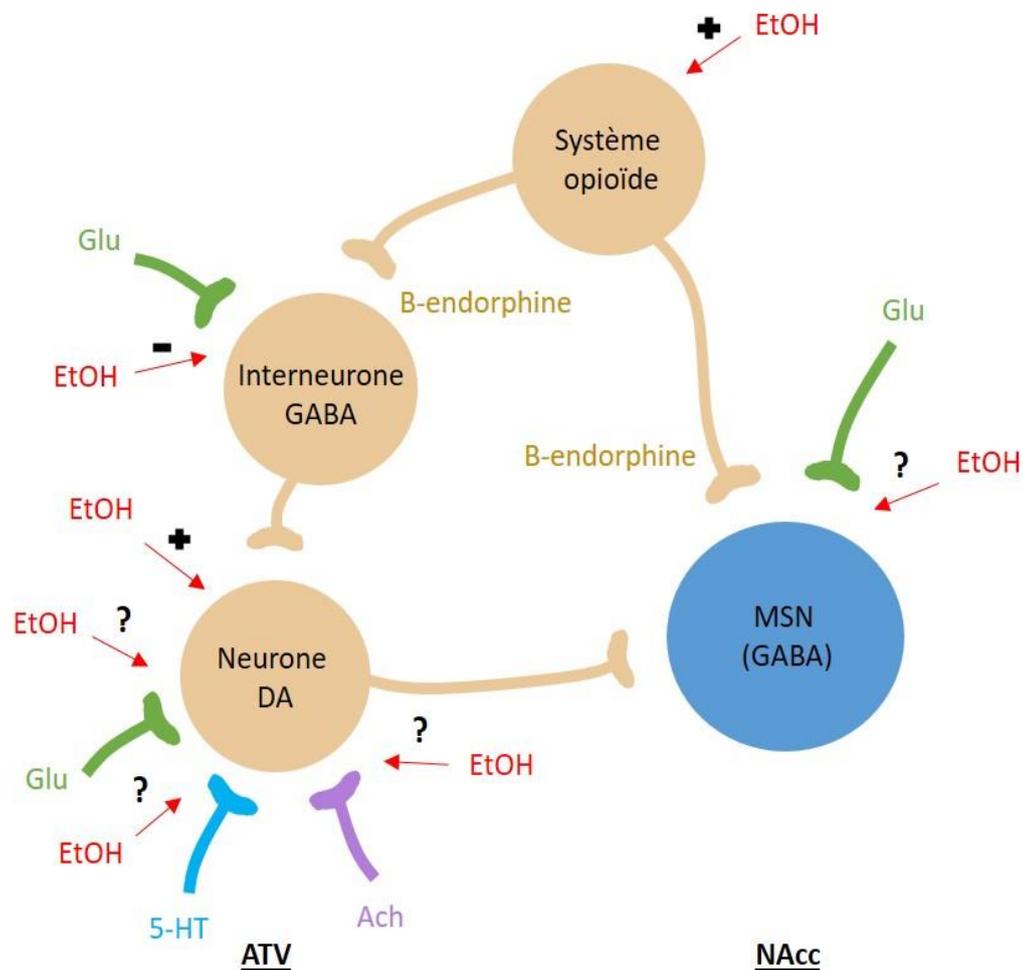


Figure 16 : Mécanismes d'action par lesquels l'EtOH augmente la transmission DAergique mésolimbique. L'EtOH augmente directement l'activité des neurones DAergiques de l'ATV, et indirectement en levant l'inhibition des interneurons GABA ainsi qu'en stimulant la libération d'opioïdes endogènes. L'EtOH agit également probablement sur les systèmes de neurotransmission modulant l'activité des neurones DAergiques de l'ATV et des MSN du NAcc (adapté de (Gilpin and Koob, 2014) et (Naassila, 2018)).

L'EtOH pourrait enfin agir sur la transmission glutamatergique dans la voie mésolimbique, mais l'impact de cet effet sur l'activité des neurones DAergiques de l'ATV reste incertain (Morikawa and Morrisett, 2010). Des études ont cependant mis en évidence qu'une exposition aiguë à l'EtOH (10-80mM) pourrait provoquer une facilitation indirecte de la transmission glutamatergique au niveau des neurones DAergiques, en favorisant la libération

somatodendritique de DA (C. Xiao *et al.*, 2009; Deng *et al.*, 2009). La DA libérée ainsi activerait les récepteurs présynaptiques D1 au niveau des terminaisons glutamatergiques, augmentant la libération de glutamate, ce qui pourrait expliquer l'altération de la signalisation phasique des neurones DAergiques de l'ATV. Enfin, du fait qu'ils constituent des cibles privilégiées et des modulateurs de la libération mésolimbique de DA, il semblerait que l'EtOH pourrait agir en interagissant avec les systèmes sérotoninergique (notamment au travers des récepteurs 5-HT₃), cholinergique (notamment au niveau des récepteurs nicotiques $\alpha 6$) et de la glycine (pour revue, (Spanagel, 2009)). Récemment, un modèle de circuit dynamique des afférences dans l'ATV a été développé pour expliquer les effets de l'EtOH, proposant la synchronisation des afférences excitatrices et inhibitrices corticales comme mécanisme à l'origine de l'augmentation des *transients* phasiques observés *in vivo* (di Volo *et al.*, 2019).

b. Effets de l'administration chronique d'éthanol

Les effets d'une administration chronique d'EtOH sur la transmission DAergique sont plus compliqués à étudier, du fait d'importantes variations expérimentales dans les modèles utilisés dans la littérature scientifique (voie d'administration, fréquence, dose, durée de l'exposition et l'abstinence...). De nombreuses études chez l'animal ont mis en évidence une diminution de l'activité du système DAergique mésolimbique au cours du sevrage après une exposition chronique à l'alcool (Rossetti *et al.*, 1992; Diana *et al.*, 1993; Weiss *et al.*, 1996; Shen, Choong and Thompson, 2007). Les observations des différentes études sont cependant parfois contradictoires. Diana et collaborateurs ont montré une diminution importante de la signalisation tonique et phasique, caractérisée par une diminution globale de la fréquence de libération, mais aussi de la fréquence des événements phasiques (Diana *et al.*, 1993). Shen et collaborateurs ont quant à eux observé une diminution de la population active des neurones DAergiques de l'ATV, sans changement dans la fréquence ou le mode de libération (Shen, Choong and Thompson, 2007). Plus récemment, il a été observé *ex vivo* chez la souris que l'exposition chronique à des vapeurs d'EtOH diminue la libération phasique de DA et augmente sa recapture (Karkhanis *et al.*, 2015). Bien qu'aucune modification de libération n'ait été observée, une augmentation similaire de la recapture a aussi été observée *ex vivo* chez le rat (Budygin *et al.*, 2007), ainsi que chez le macaque (Siciliano, Calipari, Yorgason,

Lovinger, *et al.*, 2016). Cette recapture plus forte pourrait notamment être liée à une vitesse plus importante du DAT alors que son affinité pour la DA est inchangée (Budygin *et al.*, 2007). Les études d'imagerie chez l'Homme montrent également une diminution de la libération de DA dans le striatum de patients alcoolodépendants au cours du sevrage, ainsi qu'une diminution du taux de récepteurs D2 (Volkow, Wang, *et al.*, 1996; Volkow *et al.*, 2007). Il est important de noter que d'autres études ont cependant observé au contraire une augmentation du niveau basal extracellulaire de DA dans le NAcc après exposition chronique, mais principalement chez des lignées consanguines de rats alcool-préférants (Engleman *et al.*, 2003; Thielen *et al.*, 2004).

Globalement, ces résultats sont inconstants mais montrent que l'EtOH chronique pourrait conduire à un état hypoDAergique caractérisé par une diminution de la transmission DAergique mésolimbique. Les mécanismes impliqués ne sont pas encore totalement compris, mais il est mis en évidence que cet état pourrait être lié à des neuroadaptations en réponse à l'augmentation répétée de la concentration DAergique extracellulaire par l'EtOH. Ces neuroadaptations consisteraient notamment en des changements de plasticité synaptique à long terme, au niveau des neurones DAergiques de l'ATV, leurs zones de projection, et des afférences des systèmes de neurotransmission (pour revue, (Morikawa and Morrisett, 2010). L'augmentation de la régulation inhibitrice de la transmission DAergique mésolimbique serait ainsi une conséquence de ces mécanismes neuroadaptatifs. Il a par exemple été montré chez l'animal exposé chroniquement, que l'activité des autorécepteurs D2 est augmentée (Karkhanis *et al.*, 2015; Siciliano, Calipari, Yorgason, Lovinger, *et al.*, 2016). Plus spécifiquement, une augmentation de la contribution des récepteurs D2 par rapport aux D3, dans la régulation de la libération de DA dans le *core* du NAcc, a été observée (Siciliano, Calipari, Yorgason, Mateo, *et al.*, 2016). De plus, les neuroadaptations induites par l'EtOH chronique pourraient être spécifiques selon la région, l'effet d'augmentation de la recapture ayant été retrouvé de manière plus importante dans le *core* que dans le *shell* du NAcc (Melchior, Jones and Salem, 2018). Le système opioïdique pourrait également être impliqué dans les effets chroniques de l'EtOH, plusieurs études ayant montré une augmentation de l'activité des récepteurs kappa aux opioïdes, qui pourraient donc participer à la réduction de la transmission DAergique mésolimbique (Rose, A.N. Karkhanis, *et al.*, 2016; Rose, Anushree N. Karkhanis, *et al.*, 2016; Siciliano, Calipari, Yorgason, Lovinger, *et al.*, 2016).

c. Application aux effets renforçants de l'alcool : la « théorie dopaminergique » de l'addiction

Les différents résultats présentés précédemment montrent globalement que l'administration aiguë d'EtOH entraîne une augmentation importante de la signalisation tonique et phasique, en agissant sur les propriétés intrinsèques des neurones DAergiques de l'ATV, ainsi que sur les afférences synaptiques des systèmes de neurotransmission impliqués dans la régulation mésolimbique. Les modifications de plasticité induites sont plus robustes et prolongées que celles provoquées par les récompenses naturelles, et vont être répétées au fil des administrations. De cette manière, il est ainsi proposé que le système mésolimbique participe aux effets renforçants de l'alcool en lui attribuant, ainsi qu'à son environnement contextuel, une « plus-value » de plus en plus importante. Ce mécanisme commun aux drogues a conduit à de nombreuses théories de l'addiction, et pourrait en être un des substrats neurobiologiques (pour revue, (Wanat *et al.*, 2009; Willuhn *et al.*, 2010)). Il est ainsi suggéré que l'augmentation de la libération phasique par la drogue soit à l'origine de larges erreurs de prédiction positive ne s'atténuant pas malgré la répétition de l'administration, contrairement aux renforçants naturels. La drogue va ainsi continuer à être perçue par le cerveau comme un stimulus récompensant nouveau / inattendu. De même, au vu du rôle de cette même signalisation dans l'encodage de la magnitude d'une récompense (Tobler, Fiorillo and Schultz, 2005), il est proposé que sa modification donne une valeur anormalement récompensante à la drogue. Il s'en suit ainsi un « apprentissage aberrant », qui est également progressivement attribué à des indices contextuels contigus à la prise de drogue, qui sont d'abord neutres puis deviennent conditionnés et obtiennent une saillance motivationnelle anormale (Robinson and Berridge, 2001). Il est en effet bien mis en évidence que la présentation d'indices contextuels conditionnés à la prise de drogue est responsable d'une augmentation importante de la concentration extracellulaire de DA dans le NAcc (Redish, 2004; Di Chiara and Bassareo, 2007). L'augmentation spécifique de la libération tonique, qui est impliquée dans les aspects motivationnels du comportement dirigé vers un but (Salamone *et al.*, 2007), pourrait notamment quant à elle produire une augmentation de l'activité d'exploration de l'environnement qui est associé à la substance, et maintenir la motivation de l'organisme à recherche de la drogue, ou « *seeking* ». L'augmentation de la signalisation tonique et phasique pourrait ainsi aboutir à une fixation du comportement dans la

consommation de drogue, et contribuer au fur et à mesure à la perte du contrôle de la consommation caractérisant le TUA.

Dans ce sens, les études citées précédemment montrent que l'EtOH chronique est à l'origine de neuroadaptations dans le système DAergique mésolimbique, conduisant à un probable état hypoDAergique durant le sevrage. Les effets spécifiques sur la libération tonique et phasique ne sont pas clairement identifiés. Il est néanmoins suggéré que le tonus tonique est globalement réduit en sevrage et entraîne un état motivationnel diminué, mais que les associations aberrantes consolidées par la répétition des expositions à la drogue persistent, et entraînent une signalisation phasique plus « saillante » pour ces stimuli (Wanat *et al.*, 2009; Willuhn *et al.*, 2010) (Figure 17). Le système DAergique mésolimbique est alors « hypersensible » à la drogue et à ses indices contextuels conditionnés, tout en étant moins sensible aux récompenses naturelles. Cet état est communément considéré comme un « syndrome de déficit de récompense », et va « pousser » l'individu à ramener la concentration extracellulaire tonique de DA au niveau de base en consommant. Il a ainsi été montré par Schulteis et collaborateurs lors d'études par stimulation intra-crânienne chez le rat, que la consommation aiguë d'EtOH diminue le « seuil de récompense », tandis que sa consommation chronique l'augmente (Schulteis *et al.*, 1995). De même, plusieurs études ont montré qu'une réexposition à l'EtOH peut ramener la concentration extracellulaire tonique à son niveau de base, voire au-delà (Diana *et al.*, 1993; Weiss *et al.*, 1996), et il a ainsi été suggéré que les animaux augmentent leur consommation d'EtOH après sevrage pour compenser ce « déficit de récompense » (Melis, Spiga and Diana, 2005). Il est pressenti qu'un tel mécanisme est impliqué dans les phénomènes de rechute chez l'alcoolodépendant.

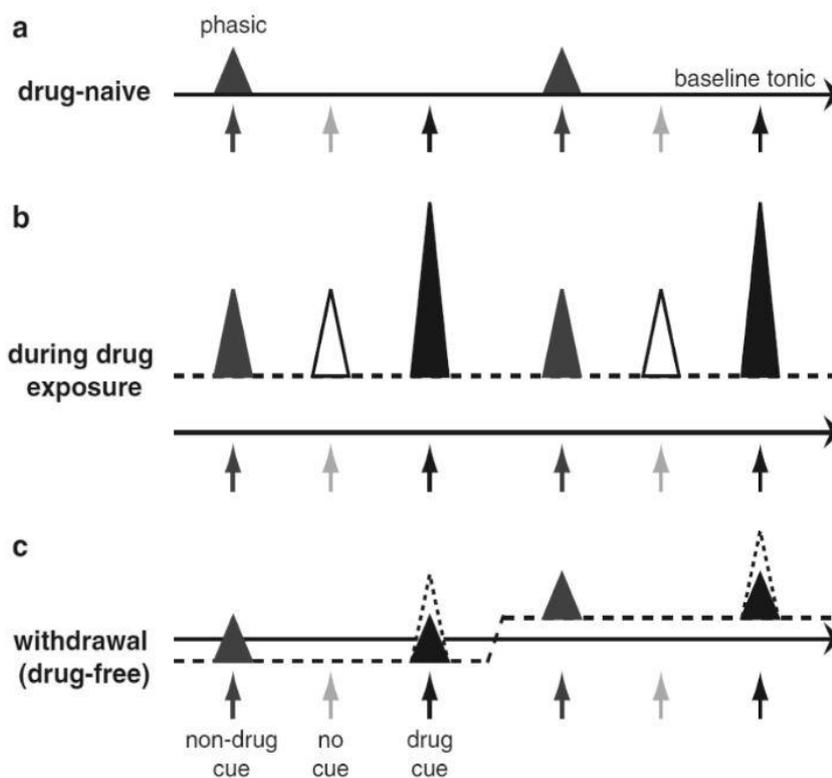


Figure 17 : Changements théoriques induits par la prise de drogue dans les transmissions DAergique tonique et phasique dans le NAcc. (a) Dans l'état naïf à la drogue, les signalisations phasiques (triangles) et toniques (ligne horizontale continue) sont normales. Quelques évènements phasiques sont observés (« no cue ») et un stimulus saillant (« non-drug cue ») peut provoquer la libération phasique de DA et le comportement dirigé vers un but. (b) La prise de drogue augmente les signalisations toniques (ligne en pointillés) et phasiques (triangles). Les indices non associés (« non drug-cue ») et associés à la drogue (« drug cue ») augmentent tous les deux les évènements phasiques, mais ceux associés provoquent une libération plus robuste. Le nombre d'évènements phasiques est également augmenté, ce qui peut aboutir à un apprentissage aberrant et un comportement anormal comme la prise compulsive de drogue. (c) Le sevrage a des effets variables sur la signalisation DAergique. Par exemple, le niveau tonique réduit en sevrage peut être récupéré au même niveau voire à un niveau supérieur par l'exposition à la drogue ou à un indice associé (de gauche à droite). Ces derniers entraînent une libération phasique plus importante (triangles en pointillés) comparée aux indices non associés. En conséquence, indépendamment du niveau tonique, la motivation pour la drogue est plus importante que celle pour les récompenses naturelles, ce qui peut promouvoir la rechute dans la prise de drogue (extrait de Willhun et al. 2010).

Les mécanismes de la « théorie DAergique » de l'addiction, présentés précédemment, constituent ainsi un substrat neurobiologique rejoignant bien les principales théories actuelles de l'addiction expliquant la perte progressive du contrôle de la consommation, notamment les théories des « apprentissages aberrants » (Robinson and Berridge, 2003; Everitt and Robbins, 2005), de la « sensibilisation motivationnelle » (Robinson and Berridge, 2001, 2003),

et des « processus opposants » (Solomon and Corbit, 1974; Koob and Le Moal, 2001). Le système DAergique mésolimbique serait donc impliqué au moins en partie de cette manière dans les effets renforçants de l'alcool, mais son rôle pourrait cependant être limité à l'acquisition de ce renforcement. Le NAcc est au carrefour du circuit de la récompense, avec d'autres voies DAergiques (mésostriatale et mésocorticale, de la SN vers respectivement le striatum dorsal et le cortex frontal) et d'autres circuits impliqués dans différents aspects de la prise d'alcool (hédonique, maintien du renforcement...), et faisant intervenir d'autres systèmes de neurotransmission (opioïdes et cannabinoïdes endogènes, glutamatergique, GABAergique...) (pour revue, (Spanagel, 2009)). Il a en effet été montré que la transmission DAergique dans le striatum ventral et dorsal régule différemment le renforcement à l'alcool (Spoelder, Hesselink, *et al.*, 2017). La théorie des apprentissages aberrants propose par exemple que dans l'addiction, la signalisation phasique dans le striatum ventral décline progressivement pour prendre place dans le striatum dorsal, et que le comportement dirigé vers un but devient alors inflexible et réflexe (Everitt and Robbins, 2005).

d. Effets du *Binge Drinking* sur le système dopaminergique mésolimbique

Les effets d'un mésusage particulier comme le *BD* sur le système DAergique mésolimbique ne sont pas bien connus à l'heure actuelle. Le peu d'études sur le sujet concerne principalement la période adolescente / jeune adulte, du fait de la prévalence du comportement dans cette tranche d'âge. Du fait du manque d'une définition clinique précise du *BD*, la recherche fondamentale souffre cependant d'un manque de modèles animaux pertinents de ce type d'alcoolisation (voir Matériel et méthodes, chapitre 1), et beaucoup d'études ne différencient pas *BD* et exposition chronique durant l'adolescence. Nous parlerons ici principalement de l'état des connaissances lié à des modèles forcés de type *binge*, qui sont plus représentatifs bien qu'ils ne modélisent pas fidèlement tous les critères du *BD*, comme le montre notre laboratoire (Jeanblanc *et al.*, 2018). Contrairement aux études sur l'exposition chronique citées précédemment, elles concernent néanmoins de fortes alcoolisations répétées (gavages ou injections produisant des éthanolémies dépassant 0,8 g/L) de manière aiguë ou sous-chronique, avec un caractère intermittent (faibles périodes d'abstinence entre les expositions). La fenêtre de l'adolescence chez le rat est classiquement

décrite entre le 28^e et le 50^e jour de vie (Spear, 2000). Ce modèle d'étude est communément appelé « *Adolescent Intermittent Ethanol Exposure* » (AIE). Comme nous l'avons abordé plus tôt au cours de ce manuscrit, la période d'adolescence est caractérisée par une vulnérabilité importante, avec une sensibilité plus forte aux effets positifs de l'alcool, et moins forte à ses effets négatifs. Il est ainsi suggéré que cette vulnérabilité puisse être liée en partie à une sensibilité plus importante du système DAergique mésolimbique. En effet, le tonus de la libération tonique et la concentration extracellulaire de DA dans le NAcc sont maximum durant l'adolescence, puis déclinent avec la maturation (Badanich, Maldonado and Kirstein, 2007; Philpot, Wecker and Kirstein, 2009). De même, la densité des récepteurs D1 et D2 (Teicher, Andersen and Hostetter, 1995) et du DAT (Tarazi, Tomasini and Baldessarini, 1998) dans le NAcc y est maximale.

Plusieurs études montrent que des *binges* répétés chez le rat (pour des doses de 0,5 à 3 g/kg i.p), à différents temps de l'adolescence, chez le jeune adulte et chez l'adulte entraînent une augmentation de la concentration DAergique extracellulaire tonique dans le NAcc (Badanich, Maldonado and Kirstein, 2007; Pascual *et al.*, 2009; Philpot, Wecker and Kirstein, 2009). La réponse basale ou à une administration aiguë d'EtOH du système DAergique est néanmoins variable selon les travaux. Philpot et collaborateurs ont montré une libération tonique mésolimbique en réponse à l'administration d'EtOH (0,5 à 2g/kg i.p) plus faible lorsque l'exposition a été réalisée pendant l'adolescence précoce (début à J21 ou J31), que lorsqu'elle a été réalisée pendant l'adolescence tardive (début à J45) ou au début de l'âge adulte (début à J60) (Philpot, Wecker and Kirstein, 2009). Pascual et collaborateurs n'ont pas trouvé de différence dans la réponse à l'alcool (3g/kg i.p) selon que l'exposition ait eu lieu durant l'adolescence précoce (début à J28) ou à l'âge adulte, mais ont néanmoins mis en évidence un niveau basal extracellulaire tonique plus important dans le premier cas (Pascual *et al.*, 2009). Il est important de noter que parmi les trois études citées, seule celle de Pascual et collaborateurs concerne une exposition avec un caractère réellement intermittent. Les deux autres sont également citées dans la littérature scientifique dans le cadre de l'AIE (Hiller-Sturmhöfel and Spear, 2017), mais les *binges* dans celles-ci sont pourtant réalisés quotidiennement (Badanich, Maldonado and Kirstein, 2007), voire plusieurs fois par jour (Philpot, Wecker and Kirstein, 2009). Ces résultats montrent néanmoins qu'une exposition de type *binge* perturbe possiblement la transmission DAergique mésolimbique à court terme, et

ce différemment selon l'âge de l'exposition. Ils ne donnent pas d'indication sur la persistance des effets observés sur le long terme.

Quelques travaux ont étudié les effets à long terme de procédures type *binge* sur le système DAergique mésolimbique. Notre laboratoire a montré que des injections intermittentes répétées (3g/kg i.p) durant l'adolescence précoce (J30-43), mais pas l'adolescence tardive (J45-58), entraînent une plus grande vulnérabilité à l'alcool à l'âge adulte, pouvant être associée à un syndrome de déficit de récompense (Alaux-Cantin *et al.*, 2013). Nous avons en effet observé une moindre immunoréactivité c-fos dans le *shell* du NAcc après réexposition à l'alcool (3g/kg i.p), traduisant une plus faible réactivation de cette structure et de possibles neuroadaptations. Plus récemment, Zandy et collaborateurs ont observé des effets variables de l'AIE selon la période d'exposition et la durée d'abstinence avant réexposition à l'alcool (Zandy *et al.*, 2016). Des doses modérées chez le rat (1g/kg i.p) à l'adolescence (J30-50), mais pas à l'âge jeune adulte (J60), ont entraîné une diminution de la libération tonique mésolimbique en réponse à l'alcool (3g/kg i.p), persistant après 7 jours et 14 jours d'abstinence, mais pas 28 jours. Comparé aux rats exposés à l'âge adulte, la libération de DA était également plus faible à tous les temps dans le groupe exposé à l'adolescence. De manière surprenante, de plus fortes doses (3g/kg i.p) à l'adolescence ont cependant entraîné une diminution similaire en réponse à l'alcool, et ne persistant pas après plus de 7 jours d'abstinence. Enfin, quelques études *in vivo* se sont intéressées aux effets à long terme d'une exposition de type *binge* sur la signalisation phasique mésolimbique. Shnitko et collaborateurs ont montré qu'une AIE (gavage i.g 4g/kg) débutant à l'adolescence précoce (J25-45) n'a pas modifié la signalisation phasique mésolimbique basale à l'âge adulte (J75), mais a perturbé la réponse à l'alcool (Shnitko *et al.*, 2016). En effet, une administration aiguë d'EtOH (2-4 g/kg i.p) a diminué significativement la libération phasique évoquée chez des rats naïfs, mais pas chez les rats exposés à l'adolescence, tandis que la recapture était diminuée de manière similaire chez les deux groupes. Les auteurs suggèrent ainsi que les expositions de type *binge* ont bloqué à long terme un possible mécanisme compensateur diminuant normalement la libération phasique évoquée en réponse à l'alcool. Il en résulterait donc une signalisation phasique plus large favorisant les effets renforçants de l'alcool. Il a également été montré récemment qu'une exposition de type *binge* avec des gavages répétés (3-5 g/kg) chez le rat

adulte, entraîne une augmentation des *transients* phasiques en réponse à un indice contextuel conditionné en tâche pavlovienne, par rapport à des rats contrôles (Fiorenza *et al.*, 2018).

En résumé, les résultats présentés précédemment montrent que des expositions de type *binge* peuvent possiblement perturber le système DAergique mésolimbique, que ce soit la signalisation tonique ou phasique, et ce différemment selon l'âge et la dose. Ils montrent également qu'elles peuvent être à l'origine de possibles neuroadaptations modifiant la réponse à l'alcool, avec une fenêtre de vulnérabilité particulièrement importante durant l'adolescence précoce. Ces observations contribuent à l'idée que le *BD* puisse être un facteur de risque au développement futur de TUA, de même qu'une initiation précoce de la consommation d'alcool. Il faut également noter que toutes les études citées ne concernent que des modèles forcés, qui peuvent provoquer un stress important, et qu'il a déjà été montré régulièrement que celui-ci peut influencer le système DAergique mésolimbique de manière significative (pour revue, (Ungless, Argilli and Bonci, 2010)). Il n'existe pas à ce jour d'études observant les effets du *BD* sur le système DAergique mésolimbique dans un modèle animal volontaire pertinent. Chez l'Homme, une étude d'imagerie récente n'a pas observé de différence dans la libération DAergique mésolimbique et la liaison aux récepteurs D2/D3 entre des consommateurs *bingers* et des consommateurs non *bingers* de 18-25 ans (Wai *et al.*, 2019). Cette étude présente cependant un faible effectif avec 14 participants dans chaque groupe, et inclut dans chacun d'eux des consommateurs de cannabis, avec une majorité chez les *bingers*.

Chapitre 4 : Capacités de prise de décision dans l'addiction à l'alcool et le *Binge Drinking*

A. Capacités de prise de décision dans le cadre de l'addiction à l'alcool

Au quotidien, lors de phases d'abstinence, les alcoolodépendants doivent fournir des efforts importants et constants pour ne pas boire et ne pas rechuter. Malgré ces efforts, ils optent pourtant généralement pour la gratification immédiate fournie par l'abus de substance, et continuent leur consommation nocive, et ce en dépit des conséquences négatives majeures à long terme. Le critère diagnostique du TUA dans le DSM-5 souligne particulièrement une atteinte dans le contrôle du comportement. Dans ce sens, de nombreux chercheurs conceptualisent l'addiction à l'alcool comme une maladie de détournement des capacités de PdD (Redish, Jensen and Johnson, 2008; Schultz, 2011). Des atteintes de cette fonction sont ainsi régulièrement décrites dans le cadre de l'addiction aux drogues (Bechara *et al.*, 2001; Bechara and Damasio, 2002; Clark and Robbins, 2002; Pirastu *et al.*, 2006). Durant leurs études, Bechara et Damasio avaient remarqué des troubles similaires entre les patients avec une lésion du cortex préfrontal ventromédian qu'ils observaient, et des patients diagnostiqués comme dépendants à diverses drogues (Bechara and Damasio, 2002; Bechara, Dolan and Hinde, 2002). Ces derniers présentaient ainsi également de mauvaises performances en *IGT* et la même « myopie du futur », qu'ils jugeaient possiblement liées à une hypersensibilité à la récompense. Il est désormais bien compris que les individus dépendants à l'alcool présentent de faibles capacités de PdD, ce qui a notamment été mis en évidence en laboratoire en utilisant l'*IGT*. Une méta-analyse a permis ainsi de montrer une association quasi systématique entre TUA et déficit dans les capacités de PdD en *IGT* (Kovács *et al.*, 2017). Les patients alcoolodépendants font plus de choix désavantageux que des individus sains, que ce soit après une détoxification récente et une abstinence de plusieurs semaines (Goudriaan *et al.*, 2005; Noël *et al.*, 2007; Kornreich *et al.*, 2013), ou une abstinence prolongée de plusieurs années (Fein, Klein and Finn, 2004) ; avec des déficits plus prononcés selon la sévérité de l'alcoolodépendance (Noël *et al.*, 2007). Cette association entre PdD et alcool a été bien démontrée dans des conditions incertaines (sans connaissance des

probabilités de gains et pertes), mais aussi dans des conditions risquées (probabilités connues) (Damien Brevers, Antoine Bechara, Axel Cleeremans, Charles Kornreich *et al.*, 2015). Il est important de noter que la polyconsommation de substances pourrait amplifier les mauvaises performances en *IGT* (Rotheram-Fuller *et al.*, 2004), et ne constitue pas un critère d'exclusion toujours respecté dans les études cliniques. De même, il a déjà été montré des effets différentiels de l'abstinence, qui peuvent améliorer (Bartzokis *et al.*, 2000) ou non (Verdejo-García *et al.*, 2007) les performances en test. Ces phases d'abstinence ainsi que le nombre de rechutes pourraient expliquer des différences inter-individuelles de PdD chez les consommateurs de substances (Bechara *et al.*, 2001).

Les individus avec des troubles d'usage de substance présentent des déficits dans les processus cognitifs qui sous-tendent les différentes phases de la PdD (pour revue, (Verdejo-García *et al.*, 2018)). Des tâches permettant d'évaluer l'impulsivité cognitive et la prise de risque montrent ainsi qu'ils utilisent moins d'informations, présentent une plus faible sensibilité au risque, et une plus forte sensibilité à la récompense que des personnes naïves lors de la formation de préférences. De même, ils montrent une plus faible motivation, auto-régulation et inhibition cognitive dans l'implémentation de leurs actions. Enfin, il a également été mis en évidence qu'ils n'évaluent pas correctement les conséquences de leurs choix, ce qui affecte significativement leur adaptation dans les choix suivants. Ils présentent en effet un fort comportement de persévération (c'est-à-dire la répétition d'une réponse malgré la cessation ou l'absence d'un stimulus), et apprennent plutôt des gains, pour lesquels ils ont une attention importante, mais pas des pertes, pour lesquelles ils ont une attention moindre. Au niveau neurobiologique, de nombreuses études d'imagerie montrent que l'alcool pourrait affecter la neuroplasticité et la signalisation neuronale dans les circuits impliqués dans le traitement des récompenses et l'adaptation du comportement par apprentissage (pour revue, (Galandra *et al.*, 2018)). En particulier, des anomalies de l'activité du striatum ventral et de la connectivité fronto-striatale en réponse à une variété de stimuli récompensants pourraient constituer un marqueur de PdD inadaptée dans le TUA. Peu d'études mettent néanmoins en évidence une association entre des changements structuraux et des atteintes de PdD. L'étude de Le Berre et collaborateur est notamment la première à avoir associé les atteintes de PdD retrouvées en *IGT* à une réduction du volume de matière grise dans plusieurs structures impliquées dans la fonction, comme le cortex préfrontal ventromédian, le cortex cingulaire

antérieur, le striatum ou encore l'hippocampe, montrant des altérations dans des circuits à la fois cognitifs et émotionnels (Le Berre *et al.*, 2014).

B. Capacités de prise de décision dans le cadre du *Binge Drinking*

Bien que les atteintes de PdD aient été bien mises en évidence chez les patients alcoolodépendants, peu d'études se sont concentrées sur les effets d'une consommation excessive chez les gens qui ne sont pas dépendants à l'alcool, dans un contexte de *BD*. Les résultats de la littérature scientifique sont peu nombreux, présentent certaines limites, et il n'existe pas de consensus à l'heure actuelle. Goudriaan et al. sont les premiers à avoir mené une étude longitudinale chez des étudiants de 18 à 21 ans pour examiner la relation entre PdD et différents modes de consommation, dans une population large et mixte avec quatre groupes allant d'un faible niveau de *BD* à un niveau important et stable, le critère utilisé étant la fréquence d'une consommation de 5 verres (50g) ou plus au cours d'au moins une occasion au cours des 30 derniers jours (Goudriaan, Grekin and Sher, 2007). Les résultats de l'*IGT* montrent un nombre de choix désavantageux plus important dans le groupe au plus haut niveau de consommation par rapport aux autres. Certains participants, notamment dans le groupe avec un haut niveau de *BD*, ont cependant été diagnostiqués avec des comorbidités addictives (nicotine, cannabis) et d'autres troubles psychiatriques, mais sans incidence sur les performances cognitives. Une autre étude du même groupe a observé que les faibles performances en *IGT* étaient prédictives d'un comportement de *BD* chez les étudiants mais pas chez les étudiantes (Goudriaan, Grekin and Sher, 2011), bien que cette différence liée au sexe puisse s'expliquer par une utilisation plus importante chez les premiers (que ce soit au niveau de la fréquence des épisodes de *BD* et de la quantité d'alcool consommée). Dans cette étude, les étudiants (21 à 23 ans) ont été catégorisés comme *bingers* s'ils déclaraient avoir consommé au moins sept verres (70g) en une occasion et au moins deux à trois fois les 30 derniers jours. Ils étaient catégorisés comme non *bingers* si la fréquence déclarée était inférieure à « deux ou trois fois ». Cette question leur a été posée une fois à chaque semestre pendant deux ans. Les étudiants déclaraient boire environ 15 à 20 verres par semaine (150 à 200g). Il a également été mis en évidence plus de choix désavantageux en *IGT* chez des adolescents chinois (Johnson *et al.*, 2008) ou des étudiants coréens (Yoo and Kim, 2016)

bingers par rapport à des non consommateurs. Le critère de *BD* utilisé n'y est cependant que de quatre verres standards consommés au cours d'au moins une occasion au cours des 30 derniers jours, aussi bien pour les hommes que les femmes. En utilisant en plus une variante de l'*IGT* dans laquelle les modalités de récompense ont été inversées (bons choix liés à une pénalité immédiate faible mais des récompenses imprévisibles plus fortes, et inversement pour les mauvais choix), où aucune différence entre les groupes n'a été mise en évidence, les auteurs de la première étude en sont venus à la conclusion que les atteintes de PdD seraient attribuables spécifiquement à une hypersensibilité à la récompense. De plus mauvaises performances en *IGT* ont également été observées par rapport à des consommateurs occasionnels (L. Xiao *et al.*, 2009; Xiao *et al.*, 2013), sans mettre en évidence de différence liée au sexe. Les auteurs ont notamment remarqué une plus forte activité des structures impliquées dans le circuit neuronal (amygdale gauche et insula bilatérale) jouant un rôle dans la PdD « affective ». A l'inverse, des études longitudinales n'ont observé aucune différence de performance en *IGT* entre des jeunes adultes *bingers* stables, des anciens *bingers* et des non *bingers* {Formatting Citation}. La dernière est notamment la seule à avoir utilisé un critère de vitesse de consommation pour caractériser le *BD*, qui y a été défini comme la consommation de six verres (60g) en une occasion au cours des 30 derniers jours, avec une vitesse d'au moins deux verres par heure. Ces résultats suggèrent qu'une pauvre capacité de PdD serait plutôt associée à une forme plus sévère ou extrême de consommation d'alcool comme observée dans l'alcoolodépendance (Damien Brevers, Antoine Bechara, Axel Cleeremans, Charles Kornreich *et al.*, 2015).

Au niveau fonctionnel, comme nous l'avons décrit plus tôt dans ce manuscrit, le *BD* est responsable d'une dégradation importante du fonctionnement cognitif et de nombreux processus impliqués dans la PdD (mémoire de travail, contrôle inhibiteur, planification...). Plus spécifiquement, il a été mis en évidence que le *BD* pourrait être responsable d'une diminution significative de l'activation cérébrale fronto-pariétale et du striatum dorsal pendant la PdD risquée (Jones, Cservenka and Nagel, 2016), ainsi que durant la réception d'une récompense (Cservenka, Jones and Nagel, 2015). Une autre étude récente a également montré qu'une plus forte activation du NAcc pendant la PdD (dans des conditions de risque et récompense importants) pourrait prédire une initiation précoce du *BD* chez des adolescents sans histoire substantielle de consommation d'alcool ou de drogue (Morales *et al.*, 2018). Les mêmes

auteurs ont ensuite émis l'hypothèse que cette activation accrue compenserait des anomalies d'intégrité microstructurelle préexistantes de la substance blanche, dans la connectivité du NAcc avec le reste du cerveau (Morales *et al.*, 2019). Il y aurait ainsi à l'adolescence, avec la maturation tardive du cortex préfrontal, moins de contrôle cortical sur la sensibilité striatale au risque et à la récompense, aboutissant à un impact sur la PdD.

L'inconstance des résultats dans les travaux précédemment mentionnés s'explique en partie par plusieurs limitations liées aux critères cliniques utilisés. Particulièrement, le manque d'une définition précise du *BD* entraîne des différences dans les critères choisis pour l'inclusion des sujets. La fréquence des épisodes de *BD*, le nombre de verres consommés par occasion ou encore la quantité d'alcool consommée peuvent ainsi varier, et aboutir au ciblage de niveaux différents de sévérité du comportement. De la même manière, toutes les études ne présentent pas les mêmes critères d'exclusion (autres désordres psychiatriques, polyconsommation de substances...), ni les mêmes scores d'inclusion pour les questionnaires utilisés. Il a également été suggéré qu'il serait peut-être nécessaire d'augmenter le nombre d'essais en *IGT* pour pouvoir spécifiquement observer des atteintes de PdD dans un tel désordre (Damien Brevers, Antoine Bechara, Axel Cleeremans, Charles Kornreich *et al.*, 2015).

C. Atteintes de la prise de décision : causes ou conséquences de la consommation d'alcool ?

Il est souvent difficile de distinguer les conséquences de l'alcool de la vulnérabilité pré morbide pour les atteintes de PdD observées. La grande majorité des études est transversale et il existe peu d'études longitudinales s'intéressant à ce sujet. Des résultats indiquent que ce n'est pas la substance elle-même, mais des déviations cognitives et des traits de personnalité (impulsivité, recherche de sensations, prise de risque, neuroticisme...) accompagnant l'addiction qui pourraient expliquer ces atteintes (pour revue, (Kovács *et al.*, 2017)). La PdD est également parfois considérée comme une facette et un reflet de l'impulsivité, et pourrait être un marqueur de vulnérabilité au développement de l'addiction. Comme nous l'avons déjà abordé plus tôt au cours de ce manuscrit, il apparaît aujourd'hui que des traits de personnalité peuvent constituer un endophénotype de vulnérabilité à la consommation d'alcool. Il a notamment déjà été montré qu'un trait de PdD impulsive pourrait être prédicteur d'une

alcooldépendance future (pour revue, (Verdejo-García, Lawrence and Clark, 2008)). De même, une consommation excessive d'alcool a déjà été associée à une augmentation de l'impulsivité chez l'adolescent (White *et al.*, 2011). En recherche préclinique, des rats ayant consommé de l'alcool chroniquement durant l'adolescence (accès à une gélatine alcoolisée en permanence pendant 20 jours) présentent, dans une tâche de choix simple, une plus forte PdD risquée à l'âge adulte que des rats naïfs, avec un effet plus prononcé lorsque l'exposition a eu lieu durant une phase précoce de l'adolescence (Nasrallah *et al.*, 2011; Clark *et al.*, 2012; Schindler, Tsutsui and Clark, 2014; Schindler *et al.*, 2016). Très peu d'études se sont cependant intéressées à une consommation de type *BD*, et utilisent des modèles différents. Plusieurs travaux utilisant des modèles d'*AIE* ont ainsi mis en évidence une augmentation de la PdD risquée dans une tâche de choix simple, après des expositions de type *binge* (Boutros *et al.*, 2015) ou un accès volontaire intermittent à l'alcool (McMurray, Amodeo and Roitman, 2014, 2016). Une plus forte prise de risque et impulsivité dans le choix a également été observée à l'âge adulte dans un modèle murin d'*IGT*, chez des souris ayant subi une *AIE* (Sanchez-Roige *et al.*, 2014). Les mêmes auteurs n'ont de plus trouvé aucun effet d'une injection aiguë d'EtOH (1g/kg) réalisée 15 minutes avant un test dans la même tâche (Peña-Oliver *et al.*, 2014). Mejia-Toiber et collaborateurs n'ont quant à eux observé aucun effet d'une exposition chronique intermittente de type *binge* sur la PdD impulsive basale, que ce soit à l'adolescence ou l'âge adulte, mais une augmentation de celle-ci en réponse à une réexposition à l'alcool à l'âge adulte dans le premier cas (Mejia-Toiber *et al.*, 2014). Les études de Spoelder et al. sont les seules à notre connaissance à avoir utilisé un modèle de *RGT* dans le cadre de l'alcool. Elles se sont intéressées aux effets d'une alcoolisation aiguë forcée avant le test, d'une alcoolisation forcée répétée avant chaque session durant l'acquisition, ou encore d'une consommation volontaire au préalable (Spoelder *et al.*, 2015; Spoelder, Dourojeanni, *et al.*, 2017). Elles ont néanmoins utilisé une version modifiée de la tâche de *RGT*, présentant seulement trois options pour distinguer de façon plus nette celle optimale de celle la plus risquée, et n'ont pas concerné une alcoolisation de type *BD*. Il y a été observé que l'alcoolisation aiguë avant le test ne modifie que modestement la PdD, tandis que celle répétée durant l'acquisition augmente significativement les choix risqués au moment du test (Spoelder *et al.*, 2015). Il y a également été montré que des rats avec une forte consommation volontaire présentent de meilleures performances en *RGT* que ceux avec une plus faible consommation, ainsi qu'un comportement plus fort de recherche de la récompense (Spoelder, Dourojeanni, *et al.*, 2017).

A notre connaissance, aucune étude n'a cependant utilisé de modèle volontaire pertinent de *BD* dans le cadre d'une tâche de choix complexe.

La relation entre impulsivité ou prise de risque préexistante et vulnérabilité à la consommation de substance n'est pas claire chez le rongeur. En effet, elle a été montrée de manière relativement faible et inconstante pour l'alcool et d'autres drogues (notamment la cocaïne), et le lien de causalité reste totalement incertain (pour revue, (Ahmed, 2018)). La majorité des études utilise de plus une situation d'AA où la drogue est le seul choix disponible, sans option alternative. Dans un contexte où le rongeur a le choix entre une haute dose intraveineuse de drogue ou une autre option récompensante alimentaire (en général du sucre), il s'avère qu'il choisit plutôt la seconde alternative, et ce même après une histoire de consommation de drogue. Une hypothèse récente, la « récompense retardée de la drogue » (« *drug delayed reward hypothesis* »), tente d'expliquer ce constat. Elle stipule que la drogue présente un effet récompensant avec un long délai, et que son choix par le rongeur dépend ainsi de sa sensibilité à ce délai ainsi que du contexte instrumental de la décision (Ahmed, 2018). Les modèles rongeurs doivent donc prendre en compte non seulement la situation de choix de prise de drogue, mais également de possibles différences spécifiques à l'espèce dans la PdD.

Objectifs

Les études cliniques portant sur les capacités de PdD dans le *BD* révèlent des résultats inconstants, et la relation causale entre PdD et consommation d'alcool est encore mal comprise. De plus, peu d'études ont recherché les différences liées au sexe, alors que celles-ci sont de plus en plus mises en évidence dans la sensibilité aux effets de l'alcool et constituent un enjeu important en recherche. L'utilisation de modèles précliniques rongeurs facilite la réalisation d'études longitudinales, dans lesquelles les facteurs individuels et environnementaux sont contrôlés, qui sont difficiles à mettre en place en clinique. Il existe cependant peu de modèles volontaires pertinents de *BD* chez l'animal, et la majorité des travaux sur la PdD porte sur des tâches de choix simple. Au niveau neurobiologique, seulement quelques études montrent que le *BD* pourrait modifier la transmission DAergique mésolimbique, notamment au cours d'une certaine fenêtre de vulnérabilité durant l'adolescence. Les modèles utilisés ne concernent néanmoins que des modèles d'administration d'alcool forcée, qui ne représentent pas fidèlement tous les critères du *BD* chez l'Homme, et les mécanismes impliqués restent mal compris.

En débutant cette thèse, nous avons mis en place pour la première fois au laboratoire une tâche de PdD complexe chez le rongeur, la *RGT*, ainsi qu'une technique de pointe permettant d'apprécier la transmission DAergique mésolimbique, la voltamétrie cyclique rapide *ex vivo* (*FSCV*). Nous avons montré au cours de nos travaux, en utilisant un modèle volontaire de *BD* développé au laboratoire, que des rats mâles s'étant auto-administrés chroniquement de l'alcool ont présenté à distance de plus faibles capacités de PdD en *RGT* que des rats naïfs (Jeanblanc *et al.*, 2019). Au niveau neurobiologique, bien que nous n'ayons pas observé d'effet du *BD* à distance, nous avons mis en évidence une libération phasique de DA plus faible dans le *core* du NAcc chez les rats avec un mauvais niveau de PdD. Ces résultats ne permettent néanmoins pas de savoir si les atteintes de PdD observées furent la conséquence du *BD*, ou si de mauvaises capacités préexistantes ont pu constituer un facteur de vulnérabilité à l'intensité du comportement de prise d'alcool. Le premier objectif de cette thèse était ainsi de répondre à cette interrogation, en mettant en place des études comportementales longitudinales de la relation entre capacités de PdD et consommation de type *BD*. Pour ce faire, nous avons utilisé deux modèles de *BD*, un protocole forcé

classiquement utilisé dans la littérature et avec lequel le laboratoire a déjà publié, et notre protocole volontaire opérant. Nous avons également essayé de caractériser au mieux le comportement de PdD et de consommation, en utilisant des tests mesurant l'anxiété et les capacités de mémorisation chez le rongeur. Ces études ont été réalisées à la fois chez des rats mâles et femelles. Toujours dans un objectif de caractérisation du modèle original de *BD* mis en place récemment au laboratoire, le travail de thèse a aussi été l'occasion de s'intéresser à des facteurs génétiques. Nous avons donc exploré parmi trois souches de rats celle qui pourrait être particulièrement vulnérable au *BD* et donc constituer un modèle idéal.

Le second objectif de cette thèse était de mieux comprendre les mécanismes neurobiologiques impliqués dans les effets du *BD* sur la transmission DAergique mésolimbique dans le NAcc. Nous avons ainsi utilisé la technique de *FSCV* pour apprécier des modifications de la libération phasique de DA dans la partie core du NAcc, chez des animaux naïfs à l'alcool et des animaux ayant subi les différentes procédures de *BD*. Nous avons étudié ces modifications dans la transmission basale de DA, mais également en réponse à des modulateurs pharmacologiques de celle-ci : d'une part en réponse à l'EtOH, mais aussi en réponse au quinpirole, un agoniste sélectif des récepteurs D2 et D3. Enfin, au vu de l'implication commune du système DAergique mésolimbique dans la PdD et les effets neurobiologiques du *BD*, nous avons voulu apprécier si des atteintes de PdD observées au niveau comportemental pouvaient être reliées à des modifications de la transmission dans ce système.

MATÉRIELS ET METHODES

Chapitre 1 : Modélisation animale du *Binge Drinking* et de la prise de décision, et mesure expérimentale de la transmission dopaminergique

Tout d’abord, avant de présenter les matériels et méthodes utilisés dans le présent travail de thèse, il paraît important de rappeler les modèles et techniques utilisés actuellement dans la littérature scientifique pour mettre en perspective nos choix stratégiques et méthodologiques.

A. Intérêts et nécessité de la modélisation animale

La modélisation animale est une part fondamentale de la recherche, née de la nécessité de mettre au point de nouvelles stratégies thérapeutiques, et de mieux comprendre les processus neurobiologiques impliqués dans la pathogénèse de différents désordres. L’*American National Research Council Committee on Animals Models for Research and Aging* définit ainsi le modèle animal en recherche biomédicale comme « un modèle permettant l’étude de données de référence sur la biologie ou le comportement, ou chez lequel on peut étudier un processus pathologique spontané ou induit, celui-ci ayant un ou plusieurs aspects communs avec un phénomène équivalent chez l’humain ou d’autres espèces animales ». Bien que des méthodes alternatives soient désormais développées pour améliorer, réduire, voire supprimer l’utilisation d’animaux; l’expérimentation animale reste encore une nécessité absolue à l’heure actuelle. La complexité du vivant rend les méthodes de substitution encore trop limitées, et il est de ce fait impossible par leur biais d’étudier des systèmes dans leur entièreté, même avec des systèmes biologiques reconstitués. L’étude du fonctionnement cérébral demande notamment une analyse à de nombreuses échelles, la culture cellulaire ou les modèles *in silico* restant largement insuffisants pour répondre à des questions abordant

les aspects les plus élémentaires et complexes. De plus, les essais cliniques pour des thérapies innovantes nécessitent une phase préclinique pour s'assurer de la réalisation possible chez l'Homme, l'absence de risques inconsidérés et l'efficacité d'un traitement. Le modèle animal permet ainsi un travail de recherche fondamentale dans des conditions aux paramètres contrôlés et en utilisant des méthodes ne pouvant pas être appliquées à l'Homme, que ce soit au niveau éthique, technique ou pratique. Le modèle rongeur, sur lequel se concentrera ce chapitre, permet notamment de travailler sur de larges effectifs, d'avoir des résultats hautement reproductibles, et est particulièrement adapté pour des études de variabilité inter-individuelle. Un tel modèle doit cependant présenter à ce titre une certaine validité, et il existe trois principaux critères nécessaires : la validité d'apparence (les comportements doivent être similaires à ceux observés chez l'Homme), la validité de construction (les processus impliqués doivent être équivalents au niveau fonctionnel entre l'Homme et l'animal), et la validité prédictive (les traitements doivent avoir un effet similaire chez l'Homme et chez l'animal).

L'expérimentation animale est réalisée dans un cadre éthique strict, au sein de structures accréditées et conformes à la législation. Une ligne directrice dite « humaine » a été développée en 1959 par W.M.S Russell et RL. Burch, et est encore utilisée aujourd'hui. Il s'agit de la « règle des 3R » : Réduire (réduction du nombre d'animaux utilisés), Raffiner (optimisation de l'expérimentation concernant la méthodologie appliquée) et Remplacer (encouragement à utiliser des modèles *in vitro*, *in silico* ou des animaux moins développés). Des « points limites » ont également été mis en place dans le but d'éviter ou limiter au maximum la douleur / souffrance subie par les animaux. Ils ont été définis par le Conseil Canadien de Protection des Animaux (CCPA) comme étant « le moment auquel la souffrance et/ou la détresse d'un animal d'expérimentation est arrêtée, minimisée ou diminuée en prenant des mesures comme celles d'euthanasier de façon humanitaire l'animal, de mettre fin à une procédure qui le fait souffrir, ou en le traitant de manière à soulager sa souffrance et/ou sa détresse ».

B. Modélisation animale du *Binge Drinking*

Le manque d'une définition claire du *BD* pose également problème à la recherche préclinique, et limite la pertinence de la modélisation animale d'un tel comportement. Il

n'existe pas d'étude à ce jour chez l'animal ayant établi un seuil d'éthanolémie nécessaire à une intoxication observable au niveau comportemental, néanmoins la définition du NIAAA chez l'Homme a déjà été utilisée pour des études chez le rongeur et est considérée comme représentant une consommation « excessive » (Crabbe, Harris and Koob, 2011). Il est cependant important de noter que les rongeurs métabolisent l'alcool bien plus rapidement que l'Homme (3 fois plus rapidement chez le rat, 5,5 fois plus rapidement chez la souris), et qu'ils ne consomment pas facilement des quantités suffisamment importantes pour obtenir un niveau d'alcool pertinent dans le sang (Jeanblanc *et al.*, 2018). Les principaux modèles animaux de *BD* peuvent être divisés en deux grandes catégories selon le mode d'administration : modèles d'administration forcée / passive et modèles d'administration volontaire / active. Ces modes d'administration ne produisent pas forcément les mêmes modifications neurobiologiques et comportementales, mais sont pourtant tous les deux utilisés pour décrire le même phénomène dans la littérature scientifique malgré leurs différences.

1. Modèles d'administration forcée / passive

Ces modèles permettent d'administrer de fortes doses d'alcool pour amener à une augmentation rapide de l'éthanolémie et des signes clairs d'intoxication. Ces procédures ont l'avantage d'être rapides, simples et de ne pas nécessiter de matériel particulier. Elles peuvent néanmoins pour la plupart être invasives et provoquer un stress important chez l'animal si l'expérimentateur n'est pas bien entraîné. On distingue notamment parmi les modèles d'administration forcée de *BD* : le gavage intra-gastrique, les injections intra-péritonéales, l'inhalation de vapeurs d'alcool et la consommation forcée.

Le gavage intra-gastrique est une procédure simple consistant en l'introduction d'un guide-canule dans l'œsophage de l'animal, pour pouvoir lui injecter directement une dose d'alcool dans l'estomac (en général une solution concentrée à 10 ou 20% d'EtOH). L'absorption par le tractus digestif permet d'obtenir une augmentation rapide de l'éthanolémie et un profil pharmacocinétique similaire à celui observé chez l'Homme. Il existe cependant des différences majeures entre souris et rats pour cette procédure, les premières présentant une augmentation plus rapide et plus importante de l'éthanolémie, ainsi qu'une

élimination plus forte ; tandis que les rats retiennent l'EtOH dans leur circulation sanguine pendant plus longtemps et montrent un profil pharmacocinétique plus graduel (Livy, Parnell and West, 2003). Il est important de noter que, bien que le gavage intra-gastrique puisse être utilisé aussi bien de manière aiguë que chronique, la répétition de la procédure produit une inflammation importante et peut provoquer des dégâts au niveau de différents organes (estomac, intestins, foie, poumons...) (Chen *et al.*, 2013). Les résultats obtenus sont de plus, tout comme chez l'Homme, dépendants du contenu gastrique au moment du gavage, avec des différences importantes au niveau pharmacocinétique et de l'éthanolémie atteinte, et donc également au niveau des conséquences comportementales (Roine *et al.*, 1991).

L'injection intra-péritonéale est la procédure d'administration forcée la plus utilisée dans la littérature scientifique de par sa facilité et un stress induit moins important que le gavage intra-gastrique. Une solution d'EtOH (en général concentrée entre 10% et 20%) est injectée directement dans le péritoine pour diffuser ensuite rapidement dans la circulation sanguine. Bien que la validité de construit de la technique soit moins bonne que la procédure de gavage pour du *BD* (il n'y a aucun passage oral de l'alcool), elle permet d'obtenir un pic d'éthanolémie et une élimination plus rapide (Livy, Parnell and West, 2003). Des différences similaires à celles observées pour le gavage existent entre rats et souris, dans des proportions pouvant être encore plus importantes. De la même manière que pour la première technique décrite, la répétition de la procédure peut être à l'origine de douleurs locales ainsi que d'une irritation et une inflammation importantes (Chen *et al.*, 2013). Cette procédure a notamment été utilisée dans notre laboratoire pour mimer les effets d'un double épisode de type *binge*, par deux injections intra-péritonéales d'EtOH consécutives (3g/kg, 20%) séparées de 9h, dans l'étude des effets du *BD* sur la mémoire (Ferron *et al.*, 2015). Le modèle « *polybinge* » d'AIE développé par Pascual et al. (deux injections consécutives sur deux jours, avec 48h de repos entre chaque période d'injection, pour huit injections au total) est fréquemment utilisé dans la littérature scientifique pour modéliser une exposition de type *binge* à l'adolescence (Pascual *et al.*, 2007, 2009). Ce procédé aboutit notamment à des altérations comportementales associées à des dégâts cérébraux, en lien avec des phénomènes d'apoptose et de neuroinflammation. Notre laboratoire et d'autres études ont également montré qu'il induit une vulnérabilité à consommer de l'alcool à l'âge adulte (Alaux-Cantin *et al.*, 2013; Pandey *et al.*, 2014). Il s'agit du modèle forcé que nous avons décidé d'utiliser au cours de cette thèse.

Il existe également des procédures de consommation forcée, dans lesquelles l'alcool est la seule source de fluide disponible pour les rongeurs dans leur cage de stabulation, les forçant à la consommer pour survivre. On distingue ainsi le protocole de « *Scheduled High Alcohol Consumption* », où l'accès à l'eau est restreint à seulement certaines heures (Cronise *et al.*, 2005) ; ou encore l'« *alcohol liquid diet* », une procédure développée par Lieber et DeCarli où la seule source de calories pour le rongeur est une bouteille contenant de l'alcool (4-9% w/v) et les nutriments nécessaires à sa survie (Lieber and DeCarli, 1975). Bien que les consommations atteintes par le rongeur soient fortes, il n'a cependant jamais été démontré que les animaux présentent un comportement typique de *BD*, l'alcool étant disponible pendant des journées entières et pas seulement durant une période restreinte. Il a également été montré que la réduction de fluide total consommé provoquée par ce genre de procédure peut provoquer une déshydratation modérée et un stress, modifiant par conséquent le comportement (Blank, Duncan and Meadows, 1991). Enfin, de nombreux modèles forcés utilisent un paradigme d'inhalation intermittente de vapeurs d'alcool, mais ceux-ci sont largement utilisés pour induire des signes de dépendance physique chez l'animal et une addiction à l'alcool, et sont trop prolongés pour modéliser des intoxications de type *binge* (Simon-O'Brien *et al.*, 2015).

2. Modèles d'administration volontaire / active

Contrairement aux modèles d'administration forcée, les modèles d'administration volontaire permettent à l'animal de choisir s'il souhaite ou non consommer. Cependant, ces modèles sont peu nombreux, et bien qu'une éthanolémie pertinente pharmacologiquement puisse être obtenue à un moment donné, les niveaux de consommation ne sont souvent pas suffisants pour observer une intoxication visible et/ou des atteintes motrices chez des lignées non consanguines de rongeurs. En effet, de nombreuses études utilisent des animaux sélectionnés génétiquement pour leur « alcoolopréférence » et préfèrent des souches consanguines, limitant par conséquent l'évaluation de la vulnérabilité inter-individuelle qui est propre au *BD*. Les faibles niveaux de consommation sont notamment dus au « titrage » réalisé par le rongeur lorsqu'il a accès à l'alcool sur une période prolongée (en général 24h). Il existe néanmoins des méthodes permettant d'augmenter significativement la consommation,

et la restriction des périodes d'accès à l'alcool en est une efficace de longue date (Le Magnen, 1960). Des modèles ont ainsi été développés pour obtenir des éthanolémies élevées à différents temps, en s'inspirant du concept d' « *happy hour* » (période d'une ou plusieurs heures où des débits de boissons, notamment alcoolisées, sont proposés à des prix réduits), qui a été montré comme favorisant largement le *BD* (Thombs *et al.*, 2008). On distingue notamment parmi les modèles d'administration volontaire de *BD* : l'accès intermittent à l'EtOH avec choix de deux bouteilles, le modèle de « *drinking-in-the-dark* », et AA opérante.

- a. Modèle d'accès intermittent à l'éthanol avec choix de deux bouteilles (« *two-bottle choice intermittent access model* », IA2BC)

L'IA2BC est un modèle d'AA non opérante d'alcool, qui se fait en libre choix et sans effort pour le rat (pas de travail ni de motivation nécessaire). Ce protocole a été décrit pour la première fois par Roy Wise en 1973, où les rats ont accès un jour sur deux pendant quatre semaines dans leur cage de stabulation à une bouteille remplie d'eau du robinet, et une bouteille remplie d'une solution d'EtOH à 20% (Wise, 1973). Ils sont ainsi libres de consommer ou non de l'alcool, et au moment qui leur convient. Il s'agit d'un modèle fréquemment utilisé car très simple à mettre en place et hautement reproductible, permettant de développer une appétence pour l'alcool chez l'animal et d'étudier sa consommation (qui peut s'élever jusqu'à 6g/kg/24h) ainsi que sa préférence pour ce fluide. Les rats vont ainsi consommer progressivement et de manière intermittente des quantités de plus en plus fortes, constituant un modèle intéressant de transition vers une consommation excessive d'alcool. La concentration d'EtOH utilisée constitue un facteur important, un pourcentage trop faible n'aboutissant pas à des effets pharmacologiques suffisants, et un pourcentage trop fort pouvant créer une aversion gustative / olfactive chez le rongeur et donc une consommation moindre. L'appétence pour l'alcool est également très dépendante de la souche de rongeur utilisée, bien qu'il existe des protocoles utilisant des concentrations croissantes en alcool pour essayer de contourner ce problème (Yoneyama *et al.*, 2008). Les souches Long-Evans et Wistar sont ainsi les plus utilisées en recherche (Carnicella, Ron and Barak, 2014), bien qu'il semblerait que la première soit plus adaptée à ce genre de protocole et produise des éthanolémies et une variabilité inter-individuelle plus importantes (Simms *et al.*, 2008).

La procédure classique d'*IA2BC* est utilisée pour étudier une consommation sur 24h. Cependant, les animaux consomment une large portion de leur total journalier durant les premières heures. Il existe ainsi des études modélisant un comportement de *BD* en analysant les données de consommation sur les premières 30 minutes (Simms *et al.*, 2008; Carnicella, Amamoto and Ron, 2009), la première heure (Sabino *et al.*, 2013) ou encore les deux premières heures (Hwa *et al.*, 2011). Il est intéressant de noter que l'escalade de la consommation retrouvée dans ce genre de protocole pourrait être associée à des phénomènes de sensibilisation (processus d'apprentissage non-associatif dans lequel l'administration répétée d'un stimulus résulte dans une amplification progressive de la réponse). Le comportement s'établit en effet en quelques semaines jusqu'à un plateau, puis peut perdurer plus de 40 jours même avec arrêt de l'alcool (Simms *et al.*, 2008). De plus, il a été montré que l'*IA2BC* produit des neuroadaptations au niveau cellulaire, moléculaire et comportemental, en faisant un modèle pertinent dans le cadre des troubles liés à l'usage de l'alcool et du *BD* (Carnicella, Ron and Barak, 2014). Ce modèle présente ainsi une bonne validité d'apparence; une validité de construit de par une haute corrélation entre éthanolémie et consommation et l'aboutissement à des neuroadaptations ; ainsi qu'une validité prédictive, de nombreuses études montrant une diminution de la consommation d'alcool dans ce protocole par des traitements utilisés dans le cadre de l'alcoolodépendance, comme le naltrexone et l'acamprosate (Simms *et al.*, 2008; Sabino *et al.*, 2013).

b. Modèle de « drinking-in-the-dark » (DID)

Le *DID* est actuellement le protocole non opérant le plus utilisé dans la littérature scientifique pour modéliser le comportement de type *BD*, notamment du fait de sa simplicité et de sa courte durée (en général une semaine). Ce protocole se base sur le fait que les rongeurs ingèrent la majeure partie de leur alimentation et de leur eau durant la phase sombre de leur cycle circadien, avec un maximum au début et à la fin de celle-ci (Armstrong, 1980). Dans le *DID*, les rongeurs consomment ainsi de larges quantités d'alcool durant les premières heures de leur cycle de nuit, immédiatement après que les lumières soient éteintes pour le rat, ou quelques heures après pour la souris, et montrent des éthanolémies supérieures à 0,8 g/L (Thiele, Crabbe and Boehm, 2014). On distingue dans la littérature

scientifique des paradigmes utilisant une (Rhodes *et al.*, 2005; Crabbe, Harris and Koob, 2011), deux (Burnham and Thiele, 2017) voire quatre bouteilles (Colombo *et al.*, 2014), avec également des variations dans l'heure de départ de la consommation (une à quatre heures après le début du cycle de nuit) et la longueur des épisodes (deux à quatre heures) (Rhodes *et al.*, 2005). L'heure de départ de la procédure joue un rôle important dans la quantité d'alcool consommée, puisqu'il a notamment été montré une consommation plus forte chez la souris si la session démarrait trois heures après la fin du cycle de nuit, plutôt qu'une (Rhodes *et al.*, 2005) ; ou encore une consommation jusqu'à trois fois plus forte chez le rat si la session débutait une heure avant la fin du cycle de nuit plutôt qu'au début de celui-ci (Colombo *et al.*, 2014). Il a également été mis en évidence que, tout comme pour l'IA2BC, la consommation est la plus forte avec une concentration d'EtOH de 20% par rapport à 10 ou 30% (Rhodes *et al.*, 2005).

La validité prédictive du *DID* a été démontrée en mettant en évidence une diminution dose-dépendante de la consommation d'alcool chez la souris par utilisation du naltrexone (traitement reconnu dans l'addiction à l'alcool) et le GBR 12909 (bloqueur de la recapture de DA) (Kamdar *et al.*, 2007). Elle n'a cependant pas été montrée pour le nouveau modèle « *High* » *DID* développé chez des lignées de souris spécifiquement générées pour obtenir des éthanolémies plus fortes, et supposé mieux modéliser le *BD* (Jeanblanc *et al.*, 2018). De plus, le *DID* présente plusieurs limites, la principale reposant dans le fait que cette procédure ne semble produire des niveaux d'intoxication suffisants que chez certaines souches consanguines de rongeurs présentant une préférence importante pour l'alcool, dont la réponse est transmissible héréditairement. Il a ainsi été montré qu'une éthanolémie pertinente pharmacologiquement n'était obtenue que chez la souris C57BL/6J par rapport à 11 autres souches de souris (Rhodes *et al.*, 2007). Il est alors difficile dans un tel contexte d'évaluer des profils de vulnérabilité inter-individuelle de *BD*. La faible durée du *DID* fait également qu'il n'y a pas d'installation d'un comportement chronique et robuste de consommation excessive d'alcool typique du *BD*, diminuant l'apparence de validité du modèle à ce niveau.

c. Auto-administration opérante d'éthanol

L'AA opérante, ou conditionnement opérant, est une procédure inventée par Skinner en 1938 dans laquelle le rongeur doit effectuer une tâche et produire un travail pour obtenir une récompense, à savoir une drogue. Les modèles d'administration volontaire précédemment décrits ne demandent aucun travail et, bien qu'ils permettent d'obtenir une éthanolémie suffisante pour aboutir à une intoxication, ne fournissent donc aucune information concernant les comportements complexes associés à la consommation d'alcool. La tâche d'AA opérante constitue au contraire un reflet direct des propriétés renforçantes d'une drogue et permet d'apprécier des paramètres comme la motivation, la recherche de la substance (« *seeking* »), la perte de contrôle de la consommation, ou encore la rechute après extinction du comportement. La procédure est réalisée au sein d'une boîte de conditionnement (ou boîte de Skinner) équipée d'un seul (Carrillo *et al.*, 2008) ou de deux leviers (Carnicella, Amamoto and Ron, 2009; Carnicella, Yowell and Ron, 2011; O'Brien *et al.*, 2011) (Figure 18). C'est ce dernier paradigme qui est le plus classiquement utilisé, où les animaux ont accès à un levier « actif » avec appui renforcé, c'est-à-dire aboutissant à l'obtention d'une dose d'EtOH dans un distributeur ; et un levier « inactif » avec appui non renforcé, qui est sans effet et permet de vérifier le bon apprentissage de la tâche. Le rongeur va ainsi au fur et à mesure associer son comportement d'appui sur le levier actif avec les propriétés renforçantes de l'alcool et augmenter la fréquence de ses appuis. L'association est en général facilitée par l'utilisation « d'indices » (« *cues* ») environnementaux, à savoir des stimuli comme une lumière ou un son indiquant la disponibilité de la drogue après sa distribution.

L'apprentissage de la tâche d'AA opérante est classiquement réalisé en utilisant un ratio fixe d'appuis, c'est-à-dire que l'animal doit appuyer un nombre de fois défini sur le levier actif pour obtenir sa récompense. L'augmentation du ratio fixe (un puis trois appuis pour une récompense) et la diminution de la durée des sessions d'AA permettent de demander un effort fourni plus important au rongeur et d'augmenter sa motivation à consommer. Les modèles classiques d'AA opérante d'EtOH ont pendant longtemps utilisé des sessions longues d'une heure et une solution d'EtOH concentrée à 10%, pour obtenir des niveaux seulement modérés de consommation (0,3-0,4 g/kg). C'est avec la résurgence de l'IA2BC à la fin des années 2000 que de nouveaux modèles plus représentatifs de consommation excessive d'alcool sont apparus, associant ce paradigme avec des sessions d'AA plus courtes (30

minutes) et avec de l'EtOH plus concentré (20%) (Simms *et al.*, 2008; Carnicella, Amamoto and Ron, 2009). Les niveaux de consommation obtenus chez des souches non consanguines de rats, bien que plus importants (0,6-0,7 g/kg), aboutissent néanmoins à des éthanolémies atteignant à peine le seuil d'intoxication définissant le *BD* (Carnicella, Amamoto and Ron, 2009; Jeanblanc *et al.*, 2009, 2015; Carnicella, Ron and Barak, 2014). Les auteurs d'une étude récente ont développé un modèle d'AA opérante de type *BD*, en mixant leur solution d'EtOH à 10% avec du glucose (3%) et du saccharose (0,125%), pour obtenir des consommations supérieures à 1 g/kg/30 min et des éthanolémies autour de 0,8 g/L (Gilpin, Karanikas and Richardson, 2012). Il est cependant important de noter qu'il semblerait que l'utilisation de sucrose et de saccharose puisse interagir avec les conséquences neurobiologiques et comportementales de l'AA d'EtOH, et est ainsi déconseillée par certains auteurs (Carnicella, Ron and Barak, 2014).

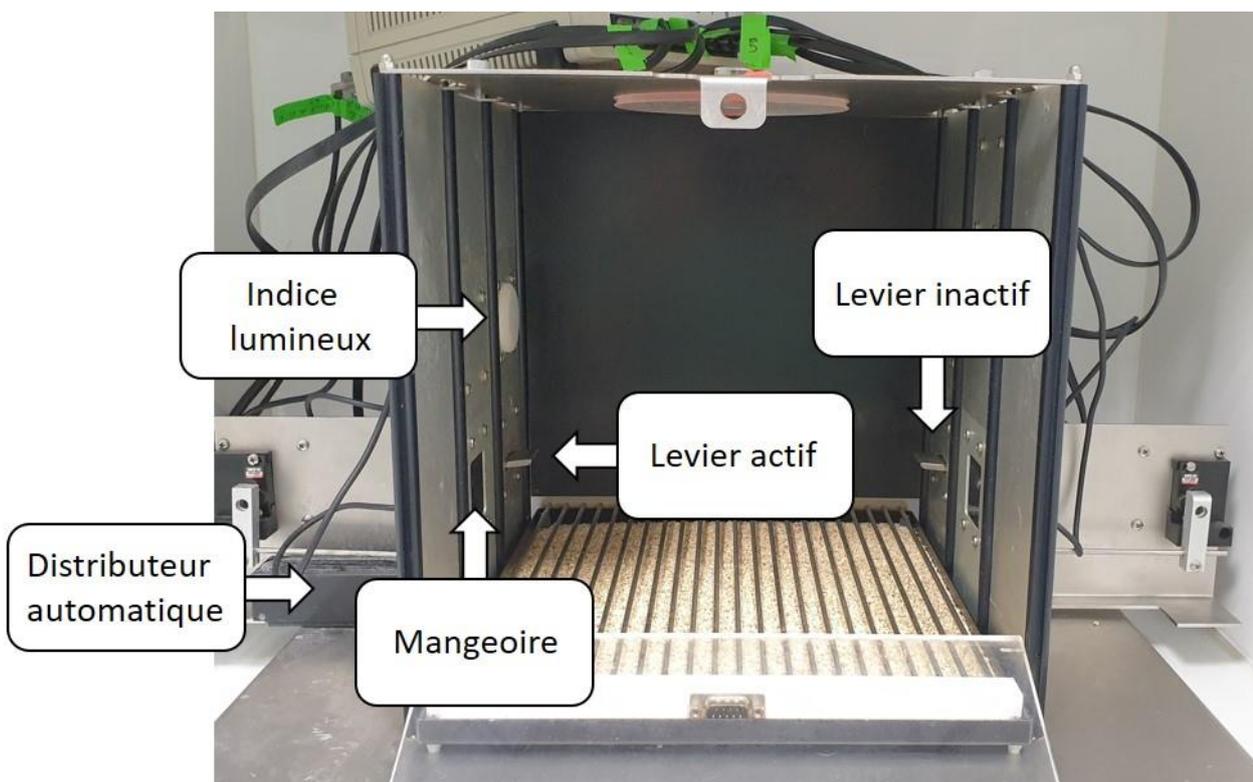


Figure 18 : Chambre d'AA opérante utilisée au laboratoire. L'appui sur le levier actif entraîne la distribution d'une solution d'EtOH dans la mangeoire, indiquée au rat par l'indice lumineux. L'appui sur le levier inactif n'a aucune conséquence.

Dans l'intention de mieux représenter le comportement humain de type *BD*, notre laboratoire a développé un modèle associant une escalade de la consommation en *IA2BC* à un entraînement en *AA* amenant jusqu'à des sessions encore plus réduites (ratio fixe 3 pendant 15 minutes) (Lebourgeois *et al.*, 2018; Jeanblanc *et al.*, 2019). Il avait en effet été suggéré que lors de sessions de 30 minutes avec de l'EtOH à 20%, environ 70% de la consommation des rats se fait pendant les dix premières minutes (Carnicella, Ron and Barak, 2014). Nous avons ainsi observé dans notre modèle des niveaux de consommation atteignant jusqu'à 1,2 g/kg en 15 minutes chez le rat Long Evans, avec des signes clairs de sédation et d'ataxie (perte de la coordination motrice). Après de nombreuses semaines d'*AA*, ces rats présentaient également des signes de sevrage (agressivité, vocalisations) ; une plus forte motivation à consommer (observée en appréciant le « point de rupture » chez le rat, c'est-à-dire le nombre d'appuis maximum qu'il est capable de réaliser pour obtenir une récompense) que dans les modèles de consommation excessive (sessions de 30 minutes), et ce même pour de fortes concentrations d'EtOH (30%); ainsi que des dégâts somatiques sous la forme d'une stéatose hépatique (Jeanblanc *et al.*, 2019). L'étude des atteintes de la coordination motrice a permis de mettre en évidence que la vitesse de consommation constitue le véritable facteur clé du comportement de *BD*. En effet, aucune ataxie n'a été observée dans les modèles de consommation excessive, même chez les rats dépassant une consommation de 0,8 g/kg, tandis que les rats dépassant ce seuil dans le modèle de *BD* ont présenté des atteintes de la coordination motrice. Enfin, nous avons montré que notre modèle présente une bonne validité prédictive, puisque de nombreuses pharmacothérapies actuellement utilisées dans l'addiction (Acamprosate, (R)-Baclofène, acide gamma-hydroxybutyrique, Nalméfène, Naltrexone et N-acétylcystéine) ont diminué la consommation d'EtOH dans la tâche opérante (González-Marín *et al.*, 2018; Lebourgeois *et al.*, 2018). Toutes sauf l'Acamprosate ont également diminué la motivation à consommer, et le (R)-Baclofène, l'acide gamma-hydroxybutyrique, la N-acétylcystéine et la Naltrexone ont diminué la réacquisition du comportement après abstinence.

d. Critères proposés pour un modèle animal pertinent de *Binge Drinking*

Comme abordé précédemment, le manque d'une définition claire et précise du *BD* amène à de grandes différences dans les modèles utilisés pour mimer un tel comportement dans la littérature scientifique, que ce soit au niveau du mode d'administration de l'EtOH, du protocole, ou encore de la souche de rongeurs utilisée. Ces différences posent des problèmes pour la comparaison entre les différentes études, et notre laboratoire a ainsi proposé dans une revue récente les critères que nous pensons nécessaires pour obtenir un modèle rongeur valide, représentatif du comportement humain de *BD* (Jeanblanc *et al.*, 2018):

- La consommation d'EtOH doit être volontaire et se faire par voie orale. Il existe en effet des différences pouvant être importantes dans les neuroadaptations produites par l'administration d'une drogue, selon qu'elle soit active ou passive. Deux formes de plasticité neuronale peuvent ainsi être distinguées, une première résultant directement de l'effet pharmacologique de la drogue, et une seconde causée par les processus cognitifs associés avec la prise active de la substance (Jacobs *et al.*, 2003). Cette seconde ne sera ainsi pas présente dans des modèles forcés, et l'administration active est donc généralement considérée comme plus appropriée dans le cadre de la modélisation de l'addiction (Jacobs *et al.*, 2003). L'étude de Gilpin et ses collaborateurs a par exemple mis en évidence une augmentation de la consommation à l'âge adulte chez des rats s'étant auto-administré volontairement de l'EtOH durant l'adolescence, mais pas dans le cadre d'une administration forcée (Gilpin, Karanikas and Richardson, 2012). La tâche d'AA opérante permet de plus d'étudier tout un ensemble de critères propres à la transition vers la dépendance, ce qui constitue un critère fondamental quand le *BD* est considéré comme un possible facteur de vulnérabilité au développement d'une alcoolodépendance (Crabbe, Harris and Koob, 2011; Kuntsche *et al.*, 2017). Il est également conseillé de ne pas utiliser de restriction alimentaire et d'adultération de l'EtOH avec du saccharose, du fait des interactions possibles avec le comportement et ses conséquences. Enfin, l'ingestion orale de l'EtOH représente une validité d'apparence plus forte pour un modèle, puisque naturellement plus proche du comportement humain.

- La quantité d'alcool consommée doit être suffisante pour atteindre une éthanolémie pertinente pharmacologiquement ($>0,8\text{g/kg}$) et aboutir à des signes comportementaux visibles d'intoxication (sédation, ataxie...).
- L'épisode de consommation doit être court et la consommation de ce fait rapide. Comme déjà indiqué précédemment, les rongeurs métabolisent plus rapidement que l'Homme (3 fois plus rapidement pour le rat, 5,5 fois plus rapidement pour la souris), et des sessions trop longues d'AA ne vont donc pas aboutir à une éthanolémie similaire à celle pouvant être retrouvée dans un épisode de *BD*, diminuant la validité d'apparence du modèle.
- Les épisodes de consommation doivent être à la fois intermittents (avec des jours sans consommation) et répétés de nombreux jours par semaine (durée sous-chronique à chronique), pour être représentatifs du comportement observé dans la population adolescente (Courtney and Polich, 2009). Il est maintenant bien connu que le caractère intermittent de la consommation joue un rôle important dans les dégâts cognitifs produits par le *BD* (Reynolds *et al.*, 2015).
- Le modèle animal doit présenter des dégâts cérébraux / déficits cognitifs, ainsi que des dégâts somatiques, en accord avec l'ensemble des études ayant déjà démontré ce genre d'atteintes provoquées par le *BD* dans la littérature scientifique.
- Le modèle doit présenter une large variabilité inter-individuelle étudiable, au vu des données récentes mettant en évidence une forte hétérogénéité dans la population de *bingers* (Gierski *et al.*, 2017).

C. Modélisation animale de la prise de décision: le « Rat Gambling Task »

1. Le modèle de labyrinthe à quatre bras parallèles

Ce protocole est le premier à avoir été utilisé dans le but de reproduire certaines caractéristiques de l'IGT chez le rat, notamment le conflit entre récompense et punition, et a été développé par Van Den Bos et ses collaborateurs (Van Den Bos *et al.*, 2006). La tâche se déroule au sein d'un labyrinthe manuel, découpé en trois zones pouvant être séparées par une cloison: une zone libre, une zone de choix et une zone divisée en quatre bras parallèles (Figure 19). Chaque bras est équipé d'indices visuels (symboles de forme et couleurs différentes), permettant au rongeur de les distinguer facilement, et contient une mangeoire dans laquelle peuvent être distribuées soit une récompense sous la forme d'une pastille de saccharose, soit une punition sous la forme d'une pastille adultérée par la quinine (leur donnant un goût amer). Aucun entraînement n'est demandé, les animaux sont simplement habitués au goût des pastilles de saccharose (ceux persistant à consommer les pastilles adultérées sont retirés de l'expérience) et libres d'explorer le labyrinthe avant le test pendant dix minutes. Lors des sessions de test (dix sessions journalières de 10-20 essais), les rongeurs sont autorisés à explorer librement la zone de choix, le choix étant considéré comme réalisé après qu'ils aient traversé ensuite au moins un tiers de la longueur du bras dans lequel ils s'introduisent (auquel cas celui-ci est clos par une cloison). Les modalités de récompense et de punition sont associées selon un ordre aléatoire prédéfini de distribution de pastilles de saccharose ou de pastilles adultérées pour chaque bras visité. De cette manière, le test présente ainsi un bras « avantageux » (faible récompense immédiate mais gain net sur le long terme, représenté par la distribution d'une pastille de saccharose deux fois sur dix essais et de pastilles adultérées le reste du temps) et un bras « désavantageux » (haute récompense immédiate mais perte nette sur le long terme, représenté par la distribution de trois pastilles de saccharose une fois sur dix essais et de pastilles adultérées le reste du temps), ainsi que deux bras vides servant simplement de contrôle de l'exploration non spécifique du labyrinthe. L'incertitude dans la récompense et la punition est représentée dans le test par la variation de la séquence de distribution des différentes pastilles de saccharose par blocs de dix essais. Il existe également une variation de ce test pour la souris au sein d'un labyrinthe radial à huit

bras (Van Den Bos *et al.*, 2006), et un test similaire opérant a également été mis en place pour apprécier l'impulsivité des rongeurs dans le même temps (Adriani *et al.*, 2009).

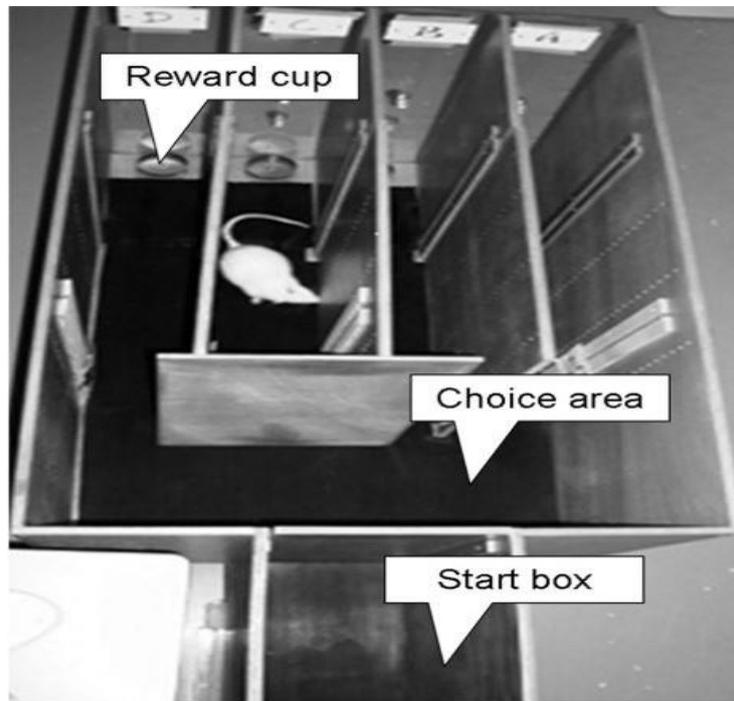


Figure 19 : La RGT en labyrinthe à quatre bras parallèles. Lorsque l'animal a fait un choix, le bras en question est fermé par une cloison coulissante pour l'empêcher de retourner dans la zone de choix avant d'explorer la mangeoire (extrait de De Visser *et al.* 2011).

2. Le modèle de chambre opérante à deux leviers

Ce modèle a été développé un peu plus tard par Pais-Vieira et ses collaborateurs chez le rat, pour mesurer plus spécifiquement la préférence pour une forte ou faible probabilité d'obtenir une récompense similaire sur le long terme (Pais-Vieira, Lima and Galhardo, 2007). Le test se déroule au sein d'une chambre opérante octogonale divisée en deux parties par un séparateur central, chaque partie étant équipée d'une mangeoire (connectée à un distributeur automatique) et d'un levier (Figure 20). La chambre centrale est connectée à un couloir de départ dont elle est séparée par une porte automatique. Les animaux sont entraînés à comprendre les modalités de la tâche au cours de sessions qui débutent en les plaçant au sein de ce couloir, puis se poursuivent par leur choix entre les deux compartiments de la chambre et l'appui sur le levier correspondant. Durant l'entraînement, qui dure 20 à 25 jours,

un levier aboutit à la distribution de pastilles de saccharose et l'autre n'aboutit à aucune récompense. Une fois l'entraînement terminé, le test se déroule au cours d'une session unique de 90 essais (un essai se terminant par la collection de la récompense ou non par l'animal puis son placement à nouveau dans le couloir de départ, avec un intervalle inter-essai), au cours duquel les modalités de récompense et de punition sont modifiées. L'un des leviers est ainsi associé à une faible récompense fréquente (une pastille de saccharose lors de huit essais sur dix) et l'autre à une large récompense peu fréquente (trois pastilles de saccharose lors de trois essais sur dix), les deux leviers aboutissant globalement à un gain quasiment similaire sur le long terme (huit versus neuf pastilles de saccharose par dix essais). Comme chez l'Homme en *IGT*, les animaux présentant un bon niveau de PdD vont ainsi progressivement décaler leur préférence initiale pour les larges récompenses peu fréquentes vers les faibles récompenses fréquentes dans la seconde partie du test (Pais-Vieira, Lima and Galhardo, 2007).

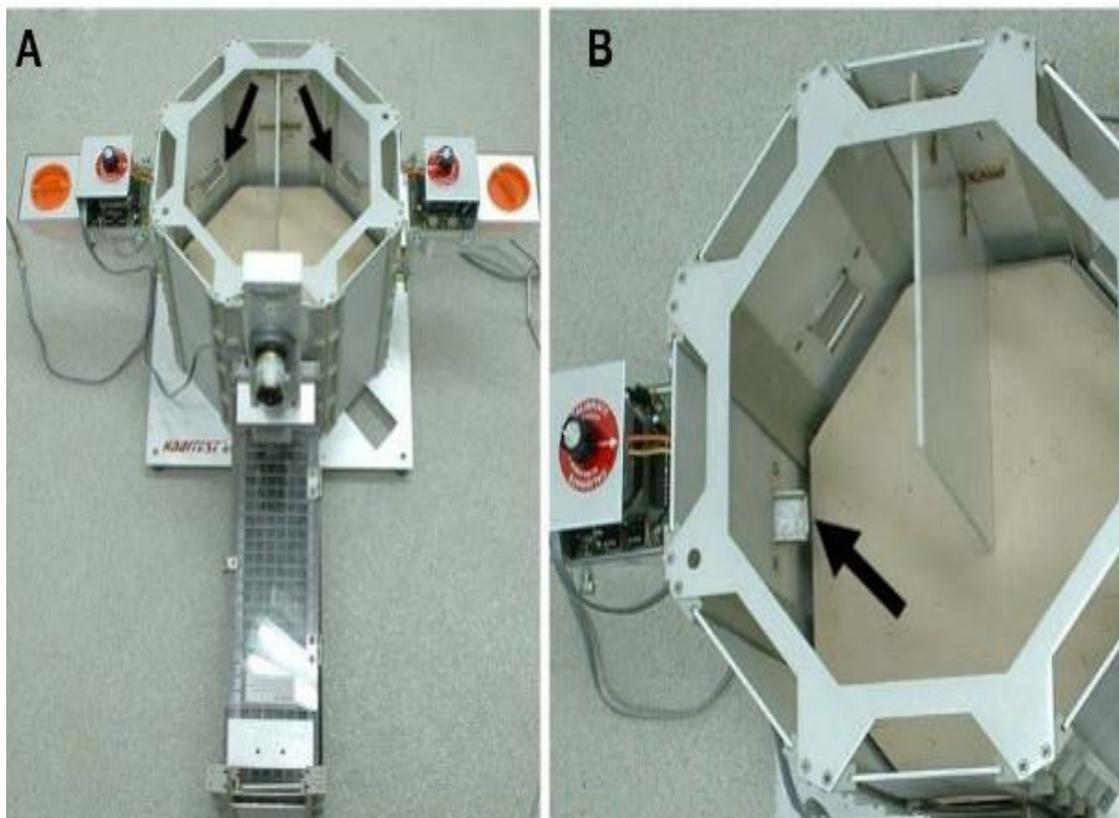


Figure 20 : La RGT en chambre opérante à deux leviers. (A) Arène octogonale connectée au couloir de départ. Les leviers sont indiqués par les flèches. (B) L'arène est divisée en deux parties par un séparateur central, chacune contenant un levier et une mangeoire (flèche) reliée à un distributeur automatique de pastilles de saccharose (extrait de De Visser et al. 2011).

3. Les modèles de chambre opérante à orifices

Ces deux modèles ont été développés respectivement par Rivalan et ses collaborateurs (Rivalan, Ahmed and Dellu-Hagedorn, 2009) et Zeeb et ses collaborateurs (Zeeb, Robbins and Winstanley, 2009), et sont ceux qui représentent le mieux le choix conflictuel proposé par l'*IGT* chez l'Homme. Ce sont les deux protocoles qui ont été utilisés au cours des travaux de cette thèse, et qui seront décrits en détails plus loin. Les deux tâches prennent place au sein d'une chambre opérante similaire, avec un mur équipé d'une mangeoire (reliée à un distributeur automatique) et le mur opposé équipé d'orifices à « nose-poke », les deux étant séparés par une cloison ouverte en son centre (Figure 21). Dans les deux *RGT*, les rats vont devoir apprendre à visiter les différents orifices pour obtenir une récompense sous la forme de pastilles de saccharose, ou être punis sous la forme d'une période de « *time-out* » pendant laquelle la chambre est inactive. Chaque orifice va ainsi être associé à une certaine probabilité d'être récompensé ou puni, ce qui va permettre de définir des options « avantageuses » (faible récompense immédiate mais associée à de faibles punitions, pour un gain net sur le long terme) et « désavantageuses » (forte récompense immédiate mais associée à de fortes punitions, pour une perte nette sur le long terme). Le rongeur doit donc se restreindre de choisir les options les plus récompensantes à court terme pour maximiser son gain de pastilles de saccharose sur le long terme.

Les modalités d'entraînement, de récompense et punition ainsi que de test présentent néanmoins de grandes différences entre les protocoles. Dans la *RGT* de Rivalan, les rats sont entraînés seulement environ une semaine à associer la visite dans un orifice avec la distribution d'une pastille de saccharose dans la mangeoire, et un travail plus important est demandé (une puis deux visites consécutives pour valider un choix dans ce protocole, contre une seule visite nécessaire pour le protocole de Zeeb). Les rats ne prennent de plus connaissance des modalités de récompense / punition que lors du test, qui est réalisé au cours d'une session unique d'une heure. Cette version du *RGT* est celle qui possède ainsi le plus de validité d'apparence par rapport à l'*IGT*. Dans la *RGT* de Zeeb, les sessions sont divisées sous la forme d'essais (pouvant mettre en évidence des omissions et des réponses prématurées) et nécessitent un entraînement plus poussé pouvant s'étaler sur un voire deux mois. De plus, contrairement au *RGT* de Rivalan, les rats prennent déjà connaissance des modalités de récompense et punition associées aux différents orifices au cours de l'entraînement, et sont

donc conscients des différentes contingences de la tâche au moment de passer le test. Celui-ci ne se déroule non pas sur une session unique, mais sur des sessions journalières de 30 minutes jusqu'à obtenir un comportement stable de choix. Les deux versions du *RGT* ne présentent de plus pas les mêmes probabilités ni magnitude de récompense et punition. L'ensemble de ces variations implique des différences pouvant être importantes dans la validité de la tâche par rapport à l'*IGT*, et par conséquent dans l'étude de la PdD et de ses mécanismes neurobiologiques chez le rongeur. Ce point et les limites du *RGT* seront abordés plus précisément dans la partie discussion et perspectives.

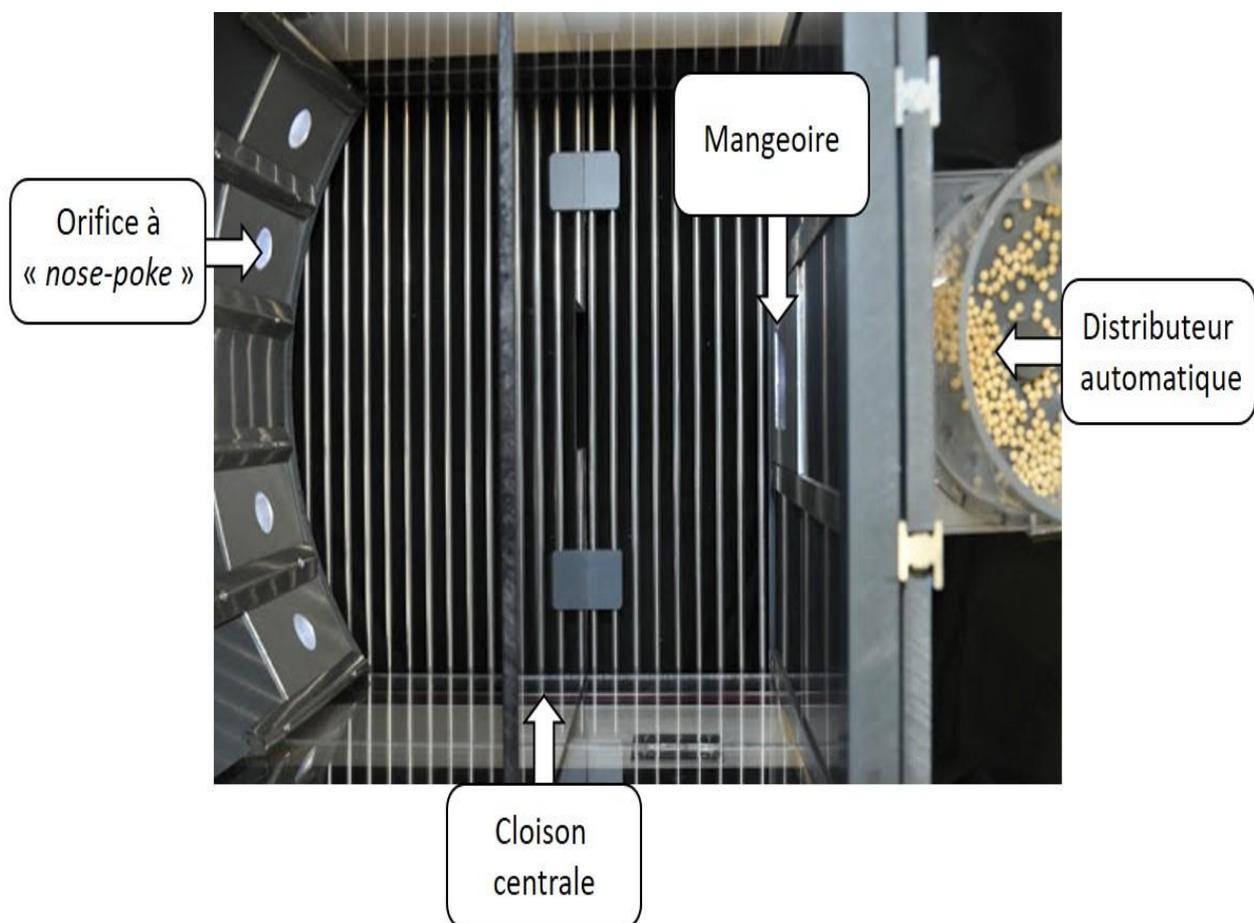


Figure 21 : La RGT en chambre opérante à orifices. La tâche prend place au sein d'une chambre séparée en deux par une cloison centrale, ouverte en son centre. L'animal doit « nose-poker » dans l'un des orifices pour déclencher la distribution d'une pastille de saccharose dans la mangeoire par un distributeur automatique (adapté de Immetronics).

D. Mesure expérimentale de la transmission dopaminergique

1. Mesure expérimentale chez l'Homme

Chez l'Homme, l'appréciation de la transmission DAergique se fait principalement par l'utilisation de méthodes d'imagerie, principalement la Tomographie par Émission de Positons (TEP). La DA ne traversant pas la barrière hémato-encéphalique, l'étude est indirecte et se base sur l'utilisation de radiotraceurs pour cibler les récepteurs DAergiques, le DAT, les précurseurs de la DA ou encore des composants chimiques ayant une spécificité pour les enzymes de dégradation synaptique de la DA (Volkow, Fowler, *et al.*, 1996). Ces méthodes exploitent ainsi la compétition entre la libération endogène du neurotransmetteur et un ligand radioactif spécifique d'un des composés cités précédemment, comme le raclopride, un antagoniste des récepteurs D2 pouvant être marqué à l'isotope carbone 11 pour apprécier la fixation de DA à leur niveau. Du fait de cette compétition, l'augmentation ou la diminution de la libération endogène de DA va modifier la concentration du ligand radioactif. La mesure de cette concentration dans différentes aires cérébrales va ainsi indiquer le niveau de libération endogène du neurotransmetteur à cet endroit. Ces techniques d'imagerie ne permettent cependant pas d'apprécier la transmission DAergique en « temps réel ». De nouvelles techniques d'imagerie moléculaire dynamique en « scan unique » ont néanmoins été développées récemment, et sembleraient pouvoir permettre de détecter, cartographier et mesurer la DA libérée durant la réalisation de tâches (Badgaiyan, 2013).

2. Mesure expérimentale chez l'animal

a. Technique de microdialyse

Chez l'animal, des méthodes invasives permettent d'apprécier la transmission DAergique. La technique la plus répandue pour mesurer la libération tonique de DA est la microdialyse *in vivo* (Darvesh *et al.*, 2011). Elle se base sur la loi de diffusion de Fick, et le passage passif de molécules à travers un gradient de concentration. Une sonde contenant une membrane semi-perméable à l'eau et aux petites molécules est implantée chirurgicalement, et est perfusée en permanence à très faible vitesse par une pompe, pour devenir l'interface entre le milieu

extracellulaire cérébrale et le liquide de perfusion (Figure 22). La direction des mouvements de diffusion dépend quasi uniquement du gradient de concentration de part et d'autre de la membrane, et un « dialysat » est recueilli après équilibre pour être analysé. Malgré une excellente sensibilité et spécificité pour la détection de DA, cette technique souffre cependant d'une faible résolution temporelle (de l'ordre de la minute), ce qui explique pourquoi elle est principalement adaptée pour l'analyse de niveaux extracellulaires libérés toniquement et changeant lentement. Elle ne permet cependant pas d'apprécier la signalisation DAergique particulière intervenant lors de la libération phasique (Wanat *et al.*, 2009).

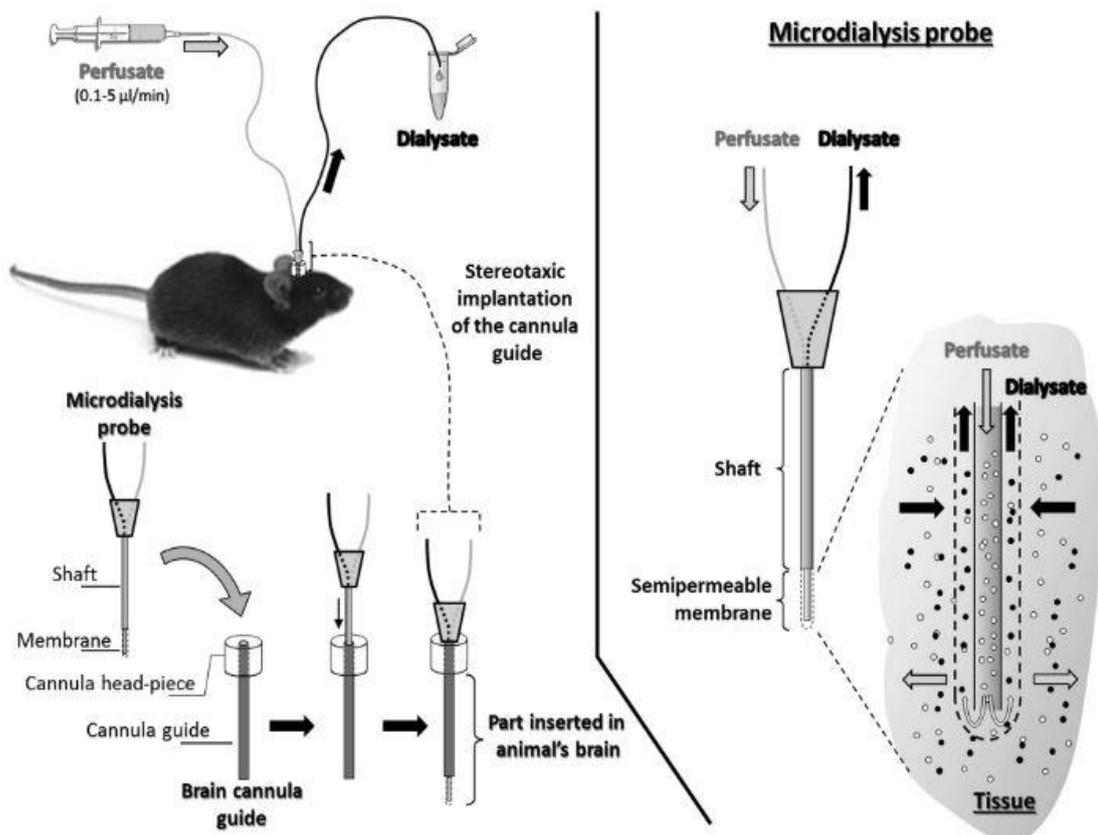


Figure 22 : Principe de la microdialyse cérébrale. (Gauche) : un guide-canule est inséré dans la zone d'intérêt du cerveau par stéréotaxie. Une sonde de microdialyse est introduite dans le guide-canule et perfusée par une solution saline via une seringue (perfusate). La solution quittant la sonde (dialysat) est récupérée à intervalles de temps réguliers pour analyse. (Droite) : lorsque la sonde est insérée dans le tissu d'intérêt, de faibles solutés traversent sa membrane semi-perméable par diffusion passive et sont progressivement récupérés (extrait de (Penicaud *et al.*, 2013)).

b. Techniques électrochimiques : focus sur la voltamétrie cyclique rapide

Au contraire, des techniques électrochimiques offrent une excellente résolution temporelle pour apprécier la signalisation DAergique, et peuvent être utilisées aussi bien *ex vivo* sur tranche, qu'*in vivo* sur animal anesthésié ou éveillé après chirurgie. Ces techniques se basent sur la mesure du flux de courant résultant de l'oxydoréduction répétée de la DA, sous l'effet d'une variation contrôlée de la différence de potentiel entre deux électrodes. En effet, un potentiel modeste (environ 200 mV vs Ag/Cl) suffit à provoquer l'électrolyse de la DA de par son oxydation en DA-o-quinone (John and Jones, 2007). Les électrons libérés par cette oxydation permettent ainsi de détecter un courant électrique mesurable et quantifiable, proportionnel au nombre de molécules de DA oxydées. Différents types de potentiels imposés sont utilisés selon la technique électrochimique, le plus simple étant un potentiel continu et constant en ampérométrie. Cette variante possède une résolution temporelle de l'ordre de la microseconde mais présente le gros défaut d'offrir une faible sélectivité chimique, détectant n'importe quel composant oxydé. Une méthode plus sélective et très répandue est la FSCV, qui présente une forte résolution spatiale (de l'ordre du micron) et temporelle (100ms). Elle permet d'apprécier des changements DAergiques transitoires dans des structures très proches, comme le *core* et le *shell* du NAcc (John and Jones, 2007), et d'apprécier à la fois libération et recapture. Elle permet également d'étudier d'autres neurotransmetteurs monoaminergiques (sérotonine et noradrénaline). En utilisant un potentiel triangulaire imposé entre -0,4V et 1,3V à une électrode de travail composée d'une microfibre de carbone (en opposition avec une électrode de référence composée d'argent), la FSCV produit deux pics électrochimiques spécifiques du neurotransmetteur présent à la surface de l'électrode (Figure 23). Il s'agit de la technique utilisée pour analyser la transmission DAergique au cours des expériences réalisées dans cette thèse.

Une stimulation électrique des terminaisons DAergiques en provenance de l'ATV, en utilisant des paramètres spécifiques mimant le « burst » de décharge des neurones (haute fréquence et multiples trains de stimulation), permet d'apprécier la libération phasique « évoquée » de DA sur tranche et animal anesthésié (Ferris *et al.*, 2013). Les techniques électrochimiques *in vivo* sur animal éveillé ne nécessitent pas d'évoquer la libération de DA de cette manière, et permettent d'enregistrer les *transients*, c'est-à-dire l'activité phasique spontanée des neurones DAergiques. Cette activité est en effet prévenue par l'anesthésie, qui semble

capable de moduler la signalisation DAergique (Ferris *et al.*, 2013). La concentration de DA libérée durant ces *transients* est néanmoins plus faible que lorsqu'elle est évoquée. Bien que la stimulation électrique manque de spécificité et pourrait activer d'autres récepteurs impliqués dans la modulation de la libération de DA (NMDA, GABA...), elle présente néanmoins l'avantage d'être plus robuste et de provoquer une saturation du DAT. De cette manière, elle permet de mieux apprécier les mécanismes de recapture intervenant au niveau terminal. C'est particulièrement le cas *ex vivo*, l'utilisation de tranche permettant notamment d'avoir un meilleur design expérimental pour la pharmacologie (plusieurs tranches pour un même animal, changement facile de site, effets doses...), et d'explorer plus profondément des circuits locaux impliqués dans la région isolée. Sa principale limitation réside dans l'absence de la régulation réalisée par le reste des circuits cérébraux.

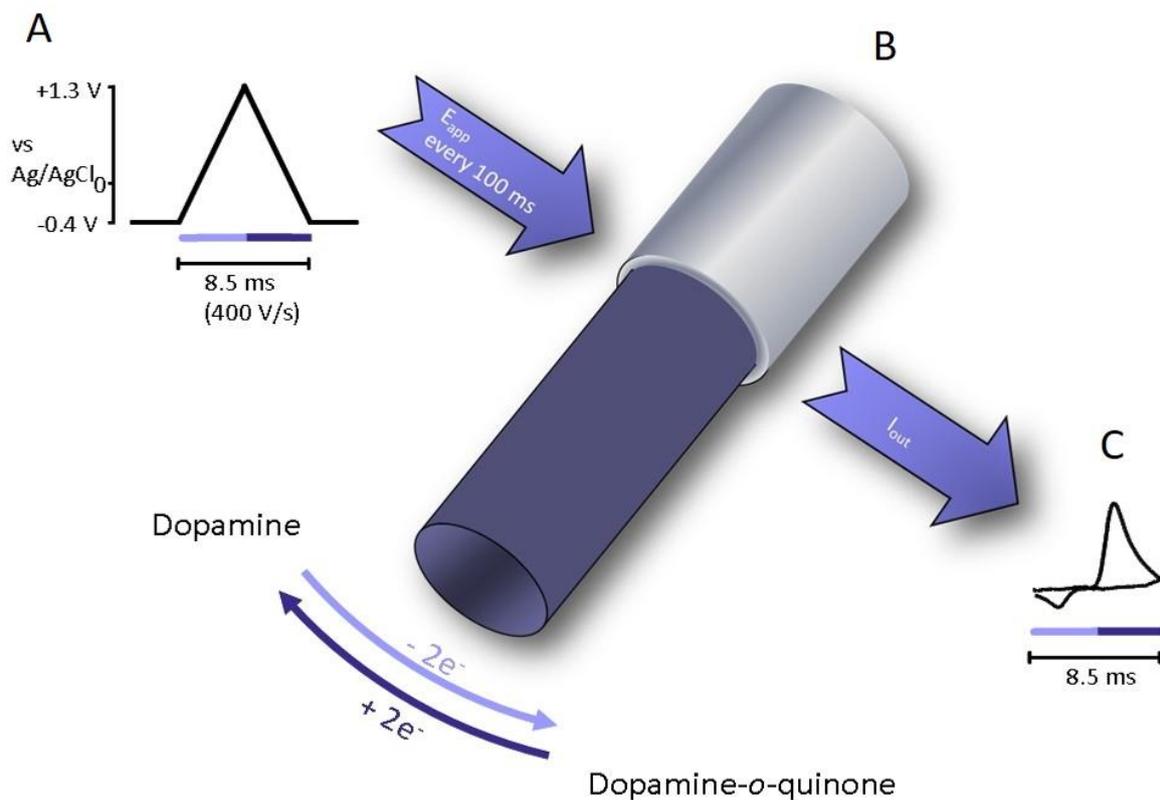


Figure 23 : Principe de la FSCV. L'application d'un potentiel triangulaire (A) imposé entre -0.4V et 1.3V à une électrode de travail à microfibre de carbone (B) induit l'oxydoréduction répétée de la DA en contact en DA-o-quinone, et la libération de deux électrons permettant la détection d'un courant électrique mesurable et quantifiable. Cette oxydoréduction produit deux pics électrochimiques (C) spécifiques de la DA (extrait de Clark Lab Research).

Chapitre 2 : Modèles et techniques utilisés au cours de la thèse

A. Animaux et conditions d'élevage

Pour les études présentées dans cette thèse, nous avons utilisé des rats mâles de souche Wistar et Sprague-Dawley, ainsi que des rats mâles et femelles de souche Long-Evans, en provenance des laboratoires Janvier (Le Genest-Saint-Isle, France) et arrivés à l'âge de huit semaines (âge adulte) avec un poids initial compris entre 250 et 300g. Les rats Wistar ont été choisis pour leur forte réponse à l'induction d'un phénotype d'alcoolodépendance par une procédure d'inhalation par vapeurs d'alcool (Aufrère *et al.*, 1997). Les rats Long Evans ont été choisis pour leur forte caractéristique d'alcoolopréférence et leur capacité rapide d'apprentissage de la tâche d'AA opérante de drogue (Simms *et al.*, 2010). Les rats Sprague-Dawley ont été choisis du fait de leur utilisation en électrophysiologie au sein du laboratoire.

Les animaux ont été hébergés individuellement et sans enrichissement tout le long de l'expérience dans des cages de stabulation (NexGen, Allentown, inc.), conditions permettant une plus forte consommation d'EtOH et une analyse individuelle (Deehan Jr *et al.*, 2007). L'hébergement isolé a également permis d'avoir un cycle œstral libre chez les femelles, pour limiter l'impact des phases du cycle en l'absence d'ovariectomie. L'ensemble des animaux a été placé dans un environnement avec une température ($21 \pm 0,5$ °C), une humidité ($55 \pm 10\%$) et un cycle de lumière jour/nuit de 12h/12h contrôlés. Ils ont été pesés chaque début de semaine, habitués quotidiennement à la manipulation et ont eu accès ad libitum à de l'eau (en dehors des périodes de consommation d'alcool) et de la nourriture.

Les expériences ont été réalisées avec un nombre minimum d'animaux en limitant au maximum le stress et les souffrances potentielles de l'animal, et ce dans le strict respect des recommandations du Care and Use of Laboratory Animals (NIH) de l'European Community Regulations for animal use in research (CEE N°86/609). Ces projet ont été validés par le Comité Régional D'Ethique en Matière d'Expérimentation Animale de Picardie (CREMEAP) sous le numéro 2145 et autorisé par le Ministère en charge de la Recherche.

B. Agents pharmacologiques

L'EtOH à 20% (v/v) utilisé pour les modèles volontaires de consommation a été préparé en diluant de l'EtOH à 96% (VWR chemicals, Prolabo, Fontenay-sous-Bois, France) avec de l'eau du robinet. L'EtOH à 20% (v/v) utilisé pour les injections intra-péritonéales et les gavages intragastriques a été préparé en diluant de l'EtOH à 96% (VWR chemicals, Prolabo, Fontenay-sous-Bois, France) avec une solution saline de NaCl 0,9% (Laboratoire Aguetant, Lyon, France).

Pour les études de *FSCV*, la solution d'EtOH 100mM a été préparée en diluant de l'EtOH 96% (VWR chemicals, Prolabo, Fontenay-sous-Bois, France) avec de la solution de liquide céphalo-rachidien artificiel (ACSF). La solution de quinpirole 1 μ M a été préparée en diluant du quinpirole (Sigma Aldrich, Saint Quentin Fallavier, France) avec de la solution d'ACSF.

C. Exposition à l'alcool

Le paradigme volontaire développé au laboratoire (Jeanblanc *et al.*, 2019) utilisé pour mimer au mieux la consommation excessive d'alcool de type *BD* chez le rat comprend deux phases : une phase d'accès intermittent à l'EtOH (20% v/v) pendant trois semaines, permettant de développer une appétance pour l'EtOH et de faciliter l'escalade de la consommation (Wise, 1973; Carnicella, Ron and Barak, 2014), puis une phase d'AA opérante en boîte de Skinner de plusieurs mois, pendant laquelle les rats s'auto-administrent volontairement une solution d'EtOH (20% v/v).

1. Accès intermittent à l'EtOH avec choix de deux bouteilles (« two-bottle choice intermittent access model », IA2BC)

L'*IA2BC* a eu lieu dans les cages de stabulation où les rats ont eu accès à deux biberons, un rempli d'une solution d'EtOH (20% v/v) et l'autre d'eau du robinet. Cet accès a été donné pendant trois semaines au cours de sessions de 24h, trois fois par semaine (lundi, mercredi et vendredi), soit une période sans EtOH de 24 à 48h entre chaque session. A la fin de chacune d'elles, les biberons étaient pesés et remplacés par des biberons d'eau et la consommation d'EtOH (quantité d'EtOH pur / kg de poids / 24h), d'eau (quantité d'eau / kg

de poids / 24h) ainsi que la préférence (consommation d'EtOH / consommation totale de fluide) ont été mesurés. La position des biberons a été inversée entre chaque session afin d'éviter la mise en place d'un biais de latéralité. Deux biberons contrôles placés sur des cages vides ont permis de mesurer les pertes d'EtOH et d'eau liées aux manipulations.

2. Tâche d'auto-administration opérante d'EtOH

L'AA opérante d'EtOH s'est déroulée dans des boîtes opérantes de Skinner (Med-associatees, Hampton, UK). Ces boîtes sont situées au sein de boxes ventilés et insonorisés dans une pièce dédiée au comportement. Chaque boîte est équipée de deux leviers rétractables, un actif et l'autre inactif, localisés de chaque côté d'une mangeoire centrale et tous les deux surmontés d'une lumière servant de stimulus visuel conditionné durant le protocole (voir Figure 18 précédemment). Chaque boîte est également munie d'un éclairage programmable. L'appui sur le levier actif entraîne la distribution (« récompense ») de 100 μ L d'une solution d'EtOH (20% v/v) dans la mangeoire par l'intermédiaire d'une seringue placée sur un pousse-seringue programmable, ainsi que l'éclairage de la lumière le surmontant, de la mangeoire et le déclenchement d'un son aigu bref pendant deux secondes. Les appuis consécutifs sur le levier actif pendant cette fenêtre de temps ainsi que les appuis sur le levier inactif sont enregistrés mais n'aboutissent pas à la distribution d'EtOH. Le nombre d'appuis sur les leviers ainsi que le nombre de récompenses ont été enregistrés pendant les sessions d'AA en utilisant le logiciel PC-MED IV.

Pendant leur entraînement progressif, les rats ont appris à fournir un travail de plus en plus important au cours de sessions de plus en plus courtes pour obtenir de l'EtOH. Il ont d'abord été entraînés au cours d'au moins deux sessions longues de nuit (overnight, 16h) pour leur permettre d'expérimenter un nombre important d'appuis sur les deux leviers, et ainsi d'acquérir petit à petit la contingence entre l'appui sur le levier actif et l'obtention d'une récompense. Tous les renforcements se sont faits selon un schéma de ratio fixe d'AA administration FR1 (un appui pour une récompense). La tâche s'est ensuite poursuivie par des sessions quotidiennes cinq fois par semaine d'une heure sous un ratio fixe FR1, puis en augmentant le travail demandé au rat sous un ratio fixe FR3 (trois appuis pour une récompense) lors de séances de plus en plus courtes (une heure pendant 5-7 jours, 30min

pendant 5-7 jours, puis 15min). Cette contrainte de temps a ainsi incité les rats à consommer de grandes quantités d'alcool en un minimum de temps, afin d'atteindre des niveaux de consommation supérieurs à 1g d'EtOH / kg et des niveaux d'alcoolémie similaires à ceux obtenus après *BD* chez l'Homme. Les sessions de FR3 15min se sont poursuivies sur plusieurs mois jusqu'à obtenir un comportement stable de *BD* chez les animaux. La consommation a été considérée comme stable en cas d'une variation strictement inférieure à 20% lors de trois sessions consécutives.

3. Alcoolisations forcées de type *Binge* : modèle chronique forcé d'injections i.p intermittentes et alcoolisations aiguës

Le modèle forcé chronique d'alcoolisation de type *binge* utilisé lors des études comportementales est basé sur le protocole validé et développé par Pascual (Pascual *et al.*, 2009) et déjà utilisé au laboratoire (Alaux-Cantin *et al.*, 2013). Les animaux ont reçu des injections intra-péritonéales d'EtOH (20% v/v) à la dose de 3g/kg une fois par jour à la même heure pendant deux jours consécutifs, avec un intervalle de 48 heures entre chaque épisode de *binge*. A la fin du traitement, les rats ont ainsi reçu un cycle consistant dans un total de huit injections sur une période de deux semaines. Les études comportementales ont été réalisées 24h après la fin d'un cycle.

Les alcoolisations aiguës de type *binge* ont consisté en une injection intrapéritonéale unique d'EtOH (20% v/v) à la dose de 1g/kg, ou un gavage intra-gastrique unique d'EtOH (20% v/v) à la dose de 1g/kg. Les études comportementales ont été réalisées 15 minutes après la fin des alcoolisations aiguës, au moment du pic maximum d'éthanolémie chez l'animal.

D. Test de prise de décision : *Rat Gambling Task*

La tâche de *RGT* s'est déroulée au sein de quatre chambres identiques (Imetronic, Pessac, France, 28x30x34cm) placées dans une pièce calme (voir Figure 21 précédemment). Chaque cage est placée dans une enceinte obscure, ventilée et insonorisée. Ces cages sont équipées de quatre orifices largement illuminés en leur sein par une LED blanche, dans lequel un rat peut passer son museau et réaliser un « *nose poke* » (visite). Ces derniers sont localisés sur un

mur courbé d'un côté de la boîte, à équidistance d'une mangeoire située sur le mur opposé. Les deux compartiments sont séparés par une partition centrale de Plexiglas (0,5x29,5x30cm) parallèle au mur courbé et ouverte en son centre (7cm x 7cm). Une distance égale vers chaque orifice est ainsi assurée, évitant un comportement de thigmotactisme du rat (comportement lié aux vibrisses consistant à raser les murs pour analyser son environnement), et la préférence spontanée pour les trous latéraux est réduite. Chaque orifice est équipé d'une cellule photoélectrique connectée à un distributeur externe sous commande informatique, permettant de délivrer une pastille de saccharose (45mg, Test Diet, Cambridge Univ., UK) dans la mangeoire à la suite d'une visite dans un orifice. La collection des données est automatisée par l'utilisation du logiciel POLY (Imetronic, Pessac, France) sur ordinateur, permettant également de visionner le déroulement des expériences des cages simultanément.

Deux protocoles distincts de *RGT* ont été utilisés au cours de cette thèse, le protocole 1 tiré des études de Rivalan (Rivalan, Ahmed and Dellu-Hagedorn, 2009), et le protocole 2 tiré des études de Zeeb (Zeeb, Robbins and Winstanley, 2009). Nous avons utilisé le premier protocole dans notre étude princeps sur le *BD* et la *PdD* (Jeanblanc *et al.*, 2019), mais nous sommes rendu compte durant cette thèse que celui-ci n'est pas répétable dans le temps, et n'est pas adapté à une étude longitudinale (cet aspect sera abordé plus en détails dans la discussion). Nous avons ainsi utilisé le second protocole dans nos études suivantes. Avant de s'engager dans l'entraînement pour la *RGT*, les rats ont été placés en restriction alimentaire (calculée en fonction de l'évolution pondérale standard, de façon à les maintenir à environ 90% de leur poids théorique), le test nécessitant l'utilisation d'un renforcement alimentaire. Cette restriction s'est poursuivie pendant toute la durée des expériences. Pour les deux protocoles, les animaux ont d'abord été habitués à la chambre opérante durant deux sessions de 30 minutes où des pastilles de saccharose avaient été placées dans les orifices et la mangeoire.

1. Protocole 1 (Rivalan & al, 2009)

a. Phase d'entraînement

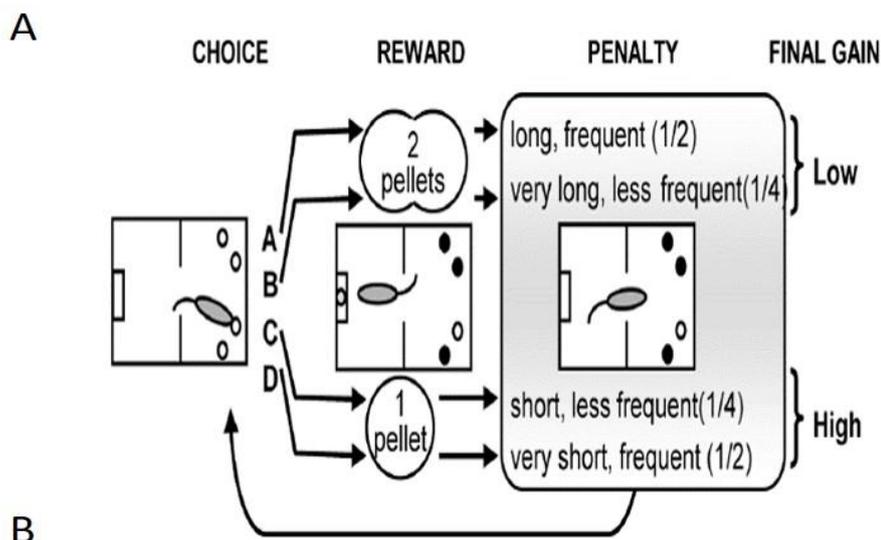
Les rats ont commencé par apprendre au cours d'une session quotidienne unique de 30 minutes cinq fois par semaine à associer une visite dans l'un des quatre orifices illuminés avec la distribution d'une pastille de saccharose dans la mangeoire. Après une visite, seul l'orifice sélectionné reste illuminé tandis que les autres deviennent inactifs jusqu'à ce que la récompense soit collectée. Cette première phase de l'entraînement s'est poursuivie jusqu'à ce que l'animal atteigne un critère de performance de 100 pastilles de saccharose obtenues au cours d'une session. Au cours de la seconde étape de l'entraînement, la condition expérimentale est passée à deux visites consécutives dans un orifice pour obtenir une pastille de saccharose, de manière à s'assurer d'un choix volontaire par le rat. Les sessions se sont ainsi poursuivies jusqu'à ce que le critère de performance soit à nouveau atteint. Les deux premières phases de l'entraînement ont duré en moyenne deux semaines.

La dernière phase de l'entraînement a consisté en deux courtes séances consécutives de 15 minutes. Durant la première, deux pastilles de saccharose ont été distribuées après une visite, de manière à habituer le rat à la quantité de pastilles pouvant être obtenue lors du test. Une seule pastille de saccharose a été distribuée après une visite au cours de la deuxième session. La phase d'entraînement a duré en moyenne une quinzaine de jours. Le test a été réalisé le jour suivant la fin de la phase d'entraînement pour chaque rat.

b. Phase de test

La phase de test ajoute à la tâche des probabilités de récompense et punition différentes pour chaque orifice. Au cours d'une session unique d'une heure, les rats ont pu choisir librement parmi les quatre orifices (A – D) (Figure 24), avec un critère de 250 pastilles de saccharose distribuées au maximum. Les choix C et D aboutissaient à la distribution de deux pastilles de saccharose, tandis que les choix A et B aboutissaient à la distribution d'une seule, mais ces derniers pouvaient être suivis d'une pénalité imprévisible et très forte (time-out respectifs de 222s et 444s) par rapport aux choix C et D (time-out respectifs de 12s et 6s). Les

pénalités survenaient avec une faible probabilité (1/4) pour les choix B et C, et avec une forte probabilité pour les choix A et D (1/2). Au cours d'une pénalité, toutes les lumières étaient éteintes et les orifices inactifs, mais celui choisi demeurait illuminé de manière à faciliter l'association entre le choix et ses conséquences. Une extinction brève de cette lumière signalait la fin du time-out à l'animal. Le gain théorique maximum est le même pour les choix considérés « avantageux » C et D, et cinq fois plus élevé que pour les choix considérés comme « désavantageux » A et B. Le niveau de PdD a été différencié sur la base du pourcentage de bons choix réalisés, >66% pour « bon » et <33% pour « mauvais », durant les 20 dernières minutes du test. Un score intermédiaire reflète une indécision. Les rats avec un comportement de choix biaisé au cours du test (>75% de visites dans le même orifice) ont été exclus du protocole.



B

Trou	Pastille	Pénalité: durée (probabilité)	Bénéfice théorique maximum (pastilles)
A	2	222s (50%)	60
B	2	444s (25%)	60
C	1	12s (25%)	300
D	1	6s (50%)	300

Figure 24 : Principe (A) et modalités (B) du protocole RGT de Rivalan et al (extrait de Rivalan et al. 2009)

2. Protocole 2 (Zeeb & al)

a. Phase d'entraînement

Contrairement au premier protocole, les sessions de *RGT* durant le deuxième protocole utilisent un système d'essais. Les rats ont commencé par être entraînés au cours d'une session quotidienne unique de 30 minutes et 100 essais maximum cinq fois par semaine, pour comprendre les différents paramètres de la tâche. Chaque essai était initié par la visite de la mangeoire illuminée, déclenchant le début d'un intervalle inter-essai de cinq secondes (permettant d'éviter un comportement compulsif de l'animal) et la brève illumination d'un orifice au hasard. Pour obtenir une récompense (une pastille de saccharose dans la mangeoire), le rat devait alors visiter l'orifice en question. Une réponse dans le bon orifice était enregistrée comme « correcte » et aboutissait à la récompense, tandis qu'une réponse dans un autre orifice était enregistrée comme « incorrecte » et n'aboutissait à aucune distribution. L'essai se poursuivait ensuite jusqu'à ce que la récompense soit récupérée dans la mangeoire. Une absence de réponse dans les dix secondes était enregistrée comme une « omission », tandis qu'une réponse durant l'intervalle inter-essai était enregistrée comme « prématurée », les deux terminant l'essai en cours et n'aboutissant pas à la distribution d'une pastille de saccharose. Cette première phase d'entraînement s'est poursuivie jusqu'à atteindre des critères de performances de 80% ou plus de réponses correctes et 20% ou moins d'omissions. La première phase de l'entraînement a duré en moyenne un à deux mois.

Les rats ont ensuite été entraînés au cours de sept sessions en « choix forcé », durant lesquelles des probabilités de récompense et de punition pour chaque orifice étaient ajoutées à la tâche, différentes du premier protocole. Durant ces sessions, seulement un orifice était illuminé par essai, en suivant le même ordre chronologique (premier orifice durant le premier essai, second orifice durant le second essai...). De cette manière, il était assuré que les animaux aient une expérience égale des modalités de chaque orifice, évitant le développement d'un biais de préférence.

Les choix P1 et P2 aboutissaient à la distribution d'une faible récompense immédiate (respectivement une et deux pastilles de saccharose), tandis que les choix P3 et P4 aboutissaient à la distribution d'une forte récompense immédiate (trois et quatre pastilles de saccharose), mais ces derniers pouvaient être suivis d'une pénalité imprévisible plus forte

(time-out respectifs de 30 et 40s) par rapport aux choix P1 et P2 (time-out respectifs de 5 et 10s). Les pénalités survenaient avec une faible probabilité (0,1 et 0,2 respectivement) pour les choix P1 et P2 et avec une forte probabilité (0,5 et 0,6 respectivement) pour les choix P3 et P4. Au cours d'une pénalité, toutes les lumières étaient éteintes et les orifices inactifs, mais celui choisi clignotait à une fréquence de 0,5 Hz de manière à faciliter l'association entre le choix et ses conséquences. La fin du time-out était signalée à l'animal par l'arrêt du clignotement et l'illumination à nouveau de la mangeoire. Les rats ont été séparés aléatoirement en deux groupes de même nombre recevant une configuration différente dans l'espace des orifices, de manière à s'assurer de l'absence de biais spatial ou de préférence. Les rats ayant terminé les sept sessions de « choix forcé » pouvaient ensuite passer à la phase de test.

b. Phase de test

La phase de test a consisté en sessions quotidiennes de 30 minutes cinq fois par semaine en « choix libre ». Comme pour les sessions de « choix forcé », les animaux initiaient un essai en visitant la mangeoire, déclenchant le début d'un intervalle inter essai de cinq secondes, mais cette fois tous les orifices étaient illuminés (Figure 25). Une réponse dans l'un d'eux aboutissait à l'extinction des orifices et la distribution du nombre de pastilles de saccharose ou à une période de time-out correspondant à la modalité de l'orifice en question. Ces sessions se sont poursuivies jusqu'à obtenir un comportement stable de choix entre les quatre options. Le comportement était considéré comme stable en cas d'une variation <20% dans le choix des options lors de trois sessions consécutives. Les rats avec un comportement toujours instable au bout d'un mois ont arrêté la phase de test et ont été considérés comme « indécis ».

P1 et P2 sont considérés comme les choix « avantageux », alors que P3 et P4 comme ceux « désavantageux ». Si un rat venait à choisir une seule option durant une session, le plus grand nombre de pastille de saccharose qu'il pourrait obtenir viendrait de l'option P2 (411, option optimale), puis P1 (295), P3 (135) et P4 (99, option la moins optimale).

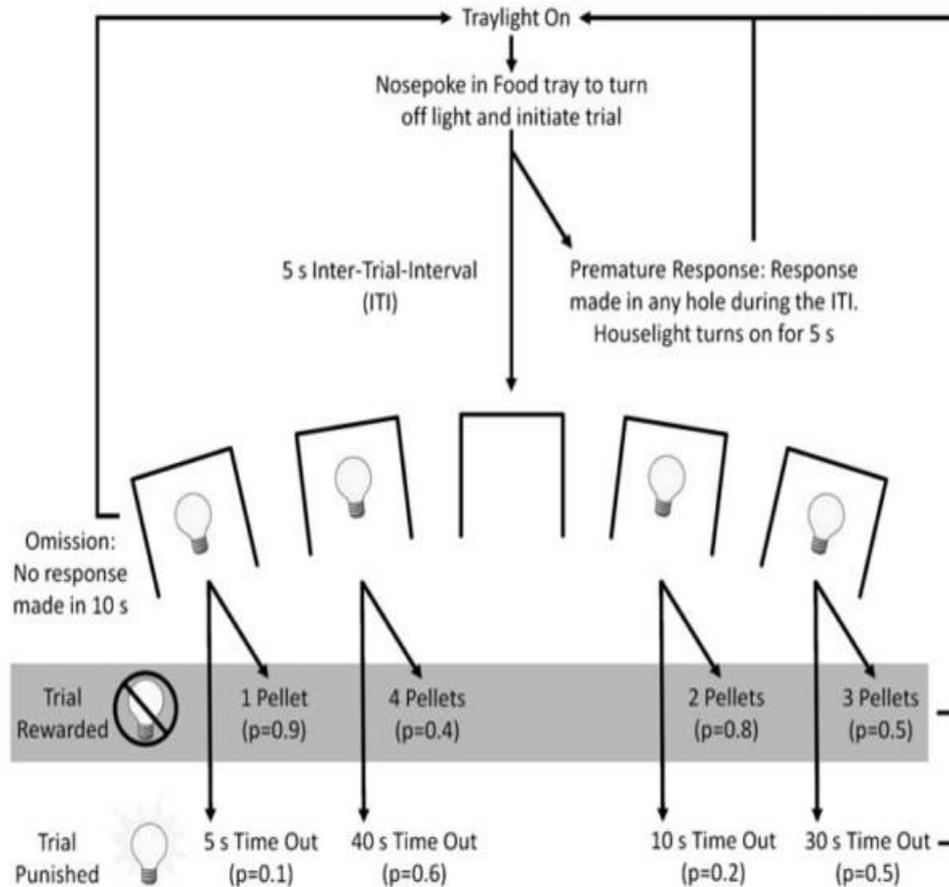


Figure 25 : Principe et modalités du protocole RGT de Zeeb et al. (extrait de Zeeb et al. 2009).

La phase de test a duré en moyenne deux à trois semaines (ou une seule semaine lorsqu'elle a volontairement été limitée). Les paramètres comportementaux, mesurés à partir des trois dernières sessions de test sélectionnées, ont été les suivants :

- Le nombre total d'essais initiés.
- Le pourcentage de choix d'une option particulière : nombre de choix de l'option particulière / nombre total d'essai x100.
- Le pourcentage de choix avantageux : nombre de choix des options P1 + P2 / nombre de choix des options P3 + P4 x100.
- Le pourcentage d'omissions : nombre d'essais omis / nombre total d'essais x100.
- Le pourcentage de réponses prématurées : nombre d'essais prématurés / nombre total d'essais x100.

E. Test d'anxiété : boîte sombre et éclairée (« Light/Dark box test »)

Le niveau d'anxiété chez le rat a été mesuré en utilisant le test de la boîte noire et blanche (*LDB*) (Figure 26), basé sur la préférence innée du rongeur pour les endroits fermés et sombres, son aversion innée pour les endroits éclairés exposés aux prédateurs, mais aussi sa tendance à explorer son espace. Le conflit de ces émotions aboutit à l'expression de symptômes similaires à de l'anxiété. Le test a été réalisé dans une pièce calme, au sein de deux boîtes opaques en plexiglas (45x45x45cm) divisées en deux compartiments de même surface par une porte centrale (15x15 cm) : un compartiment largement éclairé par la lumière de la pièce (30 lux) et ouvert, ainsi qu'un compartiment sombre (2 lux) et fermé. Les rats ont été habitués quotidiennement une semaine pendant une heure à la pièce d'expérimentation dans leur cage de stabulation, et ont été transférés dans celle-ci 30 minutes avant le début du test le jour même.

Le test d'anxiété a consisté en une session unique de cinq minutes au début de laquelle le rat a été placé dans le compartiment lumineux, dos à la porte donnant sur le compartiment sombre. Les rats ont ainsi été autorisés à circuler librement entre les deux compartiments et ont été filmés et enregistrés à l'aide d'un système d'acquisition vidéo (Pinnacle Studio HD v.15) tout le long du test. Après chaque passage, les boîtes ont été nettoyées pour chasser les odeurs et ainsi éviter un biais créé par le guidage olfactif chez le rat.

Les paramètres comportementaux mesurés au cours du test ont été les suivants, avec comme critère de transition entre les compartiments le passage entier des quatre membres de l'animal :

- La latence de la première entrée dans le compartiment sombre : plus cette latence est faible, plus le rat présente un comportement d'évitement / de fuite.
- Le temps passé dans chacun des compartiments : plus un rat passe de temps dans le compartiment sombre, plus son niveau d'anxiété est considéré comme élevé.
- Le nombre de transitions entre les compartiments, représentatif de l'activité locomotrice du rat dans la boîte.

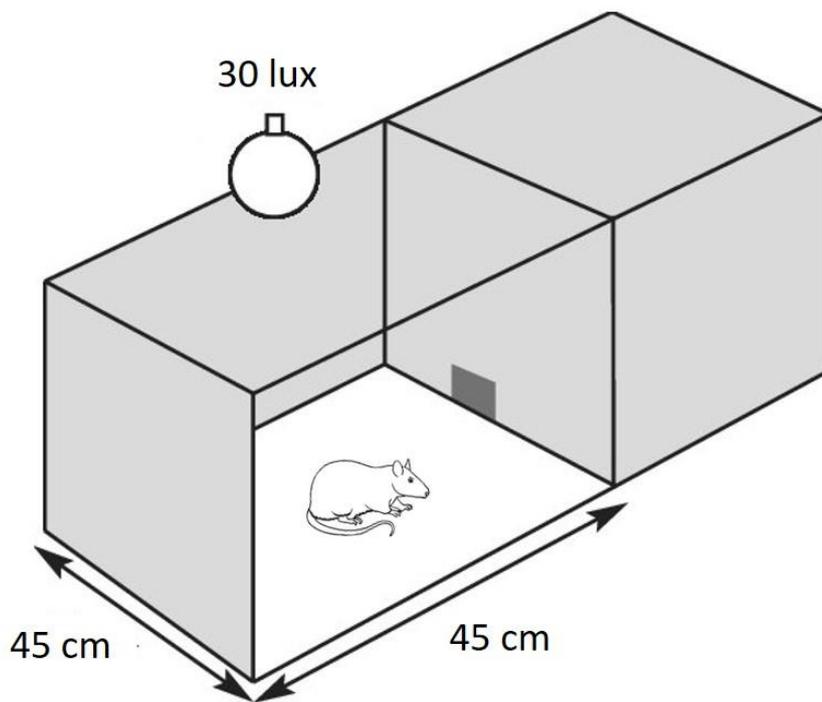


Figure 26 : Représentation schématique du test de la LDB. Le rat est placé dans la partie éclairée de la boîte et autorisé à l'explorer librement. Un temps majoritairement passé dans la partie sombre indique de l'anxiété (adapté de Coombs 2014).

F. Test de mémoire et d'apprentissage : reconnaissance du nouvel objet (« Novel Object Recognition task »)

L'étude de la mémoire et des capacités d'apprentissage chez le rat a été réalisée en utilisant la tâche de reconnaissance du nouvel objet (NOR), basée sur la préférence innée du rongeur pour la nouveauté et sa capacité à ainsi reconnaître un objet nouveau dans son environnement. La tâche a été réalisée dans une pièce calme, au sein de deux boîtes ouvertes opaques en plexiglas (45x45x45cm) largement éclairées (30 lux). Les rats ont été transférés dans la pièce systématiquement 30 minutes avant le début des expériences dans leur cage de stabulation. La tâche s'est déroulée en trois phases sur trois jours consécutifs : habituation, acquisition et test.

Lors de la phase d'habituation, les rats ont été accoutumés aux boîtes en étant placés individuellement au centre de chacune d'entre elles pendant dix minutes et ont pu y circuler et explorer librement. Lors de la phase d'acquisition, deux objets de tailles, formes et structures différentes (A et B), trop lourds pour être déplacés, ont été positionnés dans les

boîtes dans des coins opposés et symétriques, à équidistance des murs. Les rats ont ainsi été autorisés à explorer librement les deux objets. Lors de la phase de test, pendant dix minutes, l'un des deux objets (contrebalancé A pour une boîte et B pour l'autre) a été remplacé par un nouvel objet (C) de même taille et structure mais de forme différente des deux autres et trop lourd pour être déplacé. Le pourcentage de temps d'exploration de chaque objet lors de la phase d'acquisition a été mesuré, afin de discriminer toute préférence pour l'un des deux objets, ainsi que le pourcentage de temps d'exploration du nouvel objet (C) par rapport à l'objet familier (A ou B) lors de la phase de test. Ces mesures se sont faites sur les cinq premières minutes du test lorsque la nouveauté était encore présente pour le rat. Un animal passant plus de temps à explorer le nouvel objet montre ainsi de bonnes capacités d'apprentissage et de mémoire. Les animaux ayant passé moins de dix secondes sur les deux objets au cours d'une session ont été retirés de l'expérience.

Les rats ont été filmés et enregistrés à l'aide d'un système d'acquisition vidéo (Pinnacle Studio HD v.15). Tout comportement de reniflement, léchage et contact par le rat a été enregistré comme interaction avec un objet. Après chaque passage, les boîtes et les objets ont été nettoyés pour chasser les odeurs et ainsi éviter un biais créé par le guidage olfactif chez le rat.

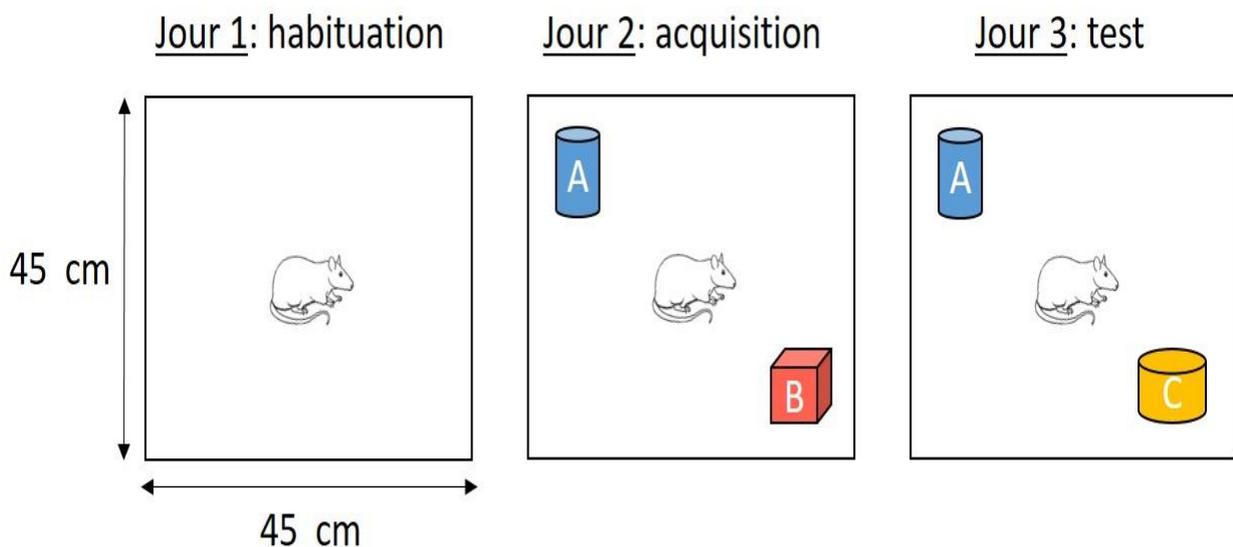


Figure 27 : Principe du test de NOR. Lors de l'habituation, le rat est placé dans la boîte vide. Lors de l'acquisition, deux objets (A et B) sont placés dans la boîte et le rat est autorisé à les explorer. Lors du test, l'un des deux objets familiers (A ou B) est remplacé par un nouvel objet (C). Un temps d'exploration majoritaire du nouvel objet indique de bonnes capacités d'apprentissage et de mémorisation.

G. Voltamétrie cyclique rapide ex vivo

1. Chirurgie et préparation des tranches coronales de cerveau

Les rats ont été anesthésiés par vapeurs d'isoflurane (Iso-Vet, 5%) avant d'être décapités en vue de récupérer les cerveaux. La boîte crânienne a été ouverte, le cerveau extrait, et le cervelet a été ensuite retiré à l'aide d'un scalpel perpendiculairement à l'axe du cerveau. Le bulbe olfactif et une partie du cortex préfrontal ont également été retirés pour permettre un accès direct au NAcc. Le cerveau a ensuite été déposé sur un papier absorbant pour faciliter sa fixation par de la colle cyanoacrylate sur un support de coupe. Les tranches ont été coupées à l'aide d'un vibratome (Leica, VT 1200S) dans le sens caudo-rostral, au sein d'une solution de coupe d'ACSF (tableau 1) maintenue à 4°C par un bac de glace et saturée en oxygène par bullage au gaz carbogène (95% O₂, 5% CO₂). Deux à trois tranches de 250 µm d'épaisseur ont été récupérées puis immédiatement coupées en deux pour séparer l'hémisphère droit du gauche. Les tranches ont été ensuite placées au repos pendant au moins une heure dans une solution d'ACSF plus fortement concentrée en calcium (tableau 1), oxygénée au carbogène et maintenue à 31°C à l'aide d'un bain marie. Après repos, une tranche a été placée dans la chambre d'enregistrement d'un poste d'ampérométrie et immobilisée par un cavalier en platine à trois branches en nylon, la plaquant sur un plateau en nylon. La tranche a continuellement été perfusée par la même solution d'ACSF à raison d'un débit de 3ml/min et à une température maintenue à 31°C. La chambre d'enregistrement était située au sein d'une cage de Faraday montée sur table à coussin d'air, permettant de neutraliser les perturbations mécaniques et électromagnétiques. Tous les appareils électriques utilisés étaient reliés à la terre électrique pour limiter au maximum les bruits électriques dans les signaux.

	ACSF de coupe	ACSF d'enregistrement
NaCl	126 mM	126 mM
KCl	2,5 mM	2,5 mM
NaH ₂ PO ₄	1,1 mM	1,1 mM
MgCl ₂	1,4 mM	1,4 mM
CaCl ₂	2,4 mM	0,5 mM
NaHCO ₃	18 mM	18 mM
Glucose	11 mM	11 mM
Acide ascorbique	0,4 mM	x

Osmolarité : 300 mOsm, pH : 7,2-7,4

Tableau 1 : Concentrations (mM) des différents constituants des ACSF de coupe et d'enregistrement utilisés pour les expériences de FSCV.

2. Préparation des électrodes

Une triade d'électrodes a été utilisée pour les enregistrements de FSCV: électrode de travail à microfibre de carbone, électrode de référence à fil d'argent et électrode de stimulation. L'électrode de travail a été fabriquée en aspirant une fibre de carbone unique (7 μm de diamètre, GoodFellow, Huntington, Royaume-Uni) au sein d'un capillaire de verre (Harvard Apparatus 1,5mm OD x 1,17mm I.D, Phymep, France), ensuite étiré en deux électrodes. La partie exposée de la fibre de carbone a été coupée à une taille d'environ 100 à 150 μm à l'aide d'un scalpel et d'un microscope inversé au grossissement x40. Un point de colle cyanoacrylate a été ajouté à la pointe du verre étiré pour s'assurer que le joint soit parfaitement étanche. Avant d'être utilisée, l'électrode a été remplie d'une solution de NaCl 3M et un fil d'argent a été inséré pour obtenir une connexion électrique avec la fibre de carbone. Avant d'effectuer les enregistrements, l'électrode de travail a été équilibrée dans le bain de LCRa de la chambre d'enregistrement. Pour ce faire, un courant triangulaire à voltage contrôlé entre -0.4V et 1,3V avec une vitesse de balayage de 400 V/s a été appliqué par un générateur de courant (Scott Ng-Evans, Electronics and Materials Engineering Shop, Seattle, WA, USA) à l'aide du logiciel Tarheel CV (Scott Ng-Evans, Electronics and Materials Engineering

Shop, Seattle, WA, USA) à une fréquence de 60 Hz pendant 25 minutes, puis à une fréquence de 10Hz pendant 15 minutes.

3. Protocoles d'enregistrement de la libération phasique de dopamine dans le noyau accumbens

Les enregistrements ont été conduits avec l'application du courant triangulaire à 10 Hz pendant toute la session. Une électrode de stimulation bipolaire (SNEX-200x100mm, Phymep, France) couplée à un stimulateur électrique (Stimulus Isolator A360, WPI, Royaume-Uni) a été descendue pour affleurer avec les fibres afférentes des neurones DAergiques de l'ATV vers la partie *core* du NAc (Figure 28). L'électrode de travail a été insérée à environ 100 μ m au-dessus de l'électrode de stimulation.

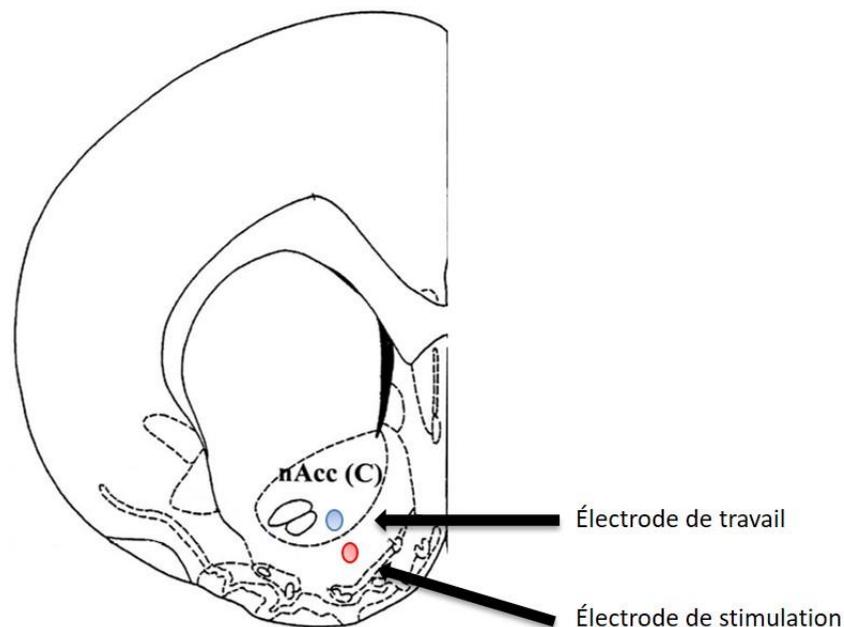


Figure 28 : Représentation schématique du placement des électrodes au cours des enregistrements en FSCV dans le NAcc core.

La libération phasique de DA a été évoquée toutes les cinq minutes par une stimulation monophasique (24 impulsions de 2ms de long) pendant 0,5 ms avec une intensité de 300 μ A et une fréquence de 60Hz. Une « ligne de base » a été systématiquement réalisée de cette manière pour chaque tranche, jusqu'à obtenir un signal stable sur trois stimulations

consécutives. Pour les études de pharmacologie en voltamétrie, les agents pharmacologiques (EtOH 100mM et quinpirole 100nM) ont été appliqués pendant au moins 30 minutes et les trois derniers enregistrements stables ont été analysés.

Le signal recueilli a été amplifié, filtré puis transmis au logiciel Tarheel CV. La contribution stable du courant produit par oxydation et réduction des molécules de DA à la surface de la fibre de carbone a été ainsi obtenue par mesure différentielle (soustraction du bruit au signal) réalisée par le logiciel Tarheel CV (Figure 29). Le « voltamogramme » (évolution du courant en fonction du voltage) a permis d'identifier ces molécules, la DA possédant ainsi une véritable « carte d'identité » avec un pic d'oxydation au potentiel compris entre 0,5 et 0,7 V, et un pic de réduction au potentiel compris aux alentours de -0,2 V (John and Jones, 2007). La concentration extracellulaire de DA dans le NAcc a été calculée sur la base d'une courbe standard obtenue pour chaque microélectrode dans une solution étalon de 0,25, 0,5 et 1 μ M de DA avant chaque session d'enregistrement.

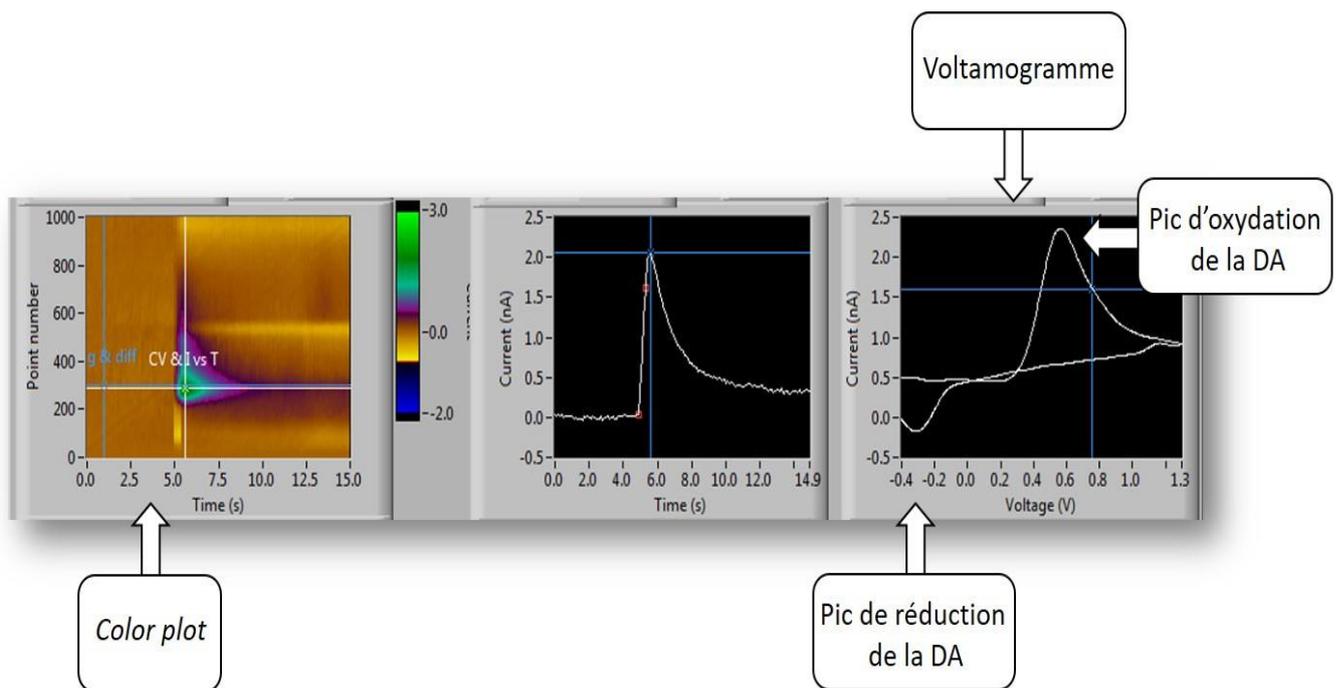


Figure 29 : Interface du logiciel Tarheel CV lors des enregistrements en FSCV dans le NAcc core. (Gauche) Évolution du courant (nA) en fonction du temps (s), exprimée sous la forme de couleurs (« color plot »). La stimulation a eu lieu à 5s et déclenche la libération phasique de DA (vert), qui est immédiatement recapturée (retour au marron). (Milieu) Tracé d'évolution du courant (nA) en fonction du temps (s). (Droite) Evolution du courant (nA) en fonction du voltage (V) (« voltamogramme »). Un pic d'oxydation aux alentours de 0,7V et de réduction autour de -0,2V est spécifique de la DA, et constitue sa « carte d'identité ».

4. Analyse du signal

Toutes les analyses du signal ont été réalisées sur les tracés de concentration en fonction du temps. Ces tracés ont été adaptés à un modèle décrivant la signalisation DAergique comme un équilibre entre libération et recapture, en utilisant l'équation cinétique de Michaelis-Menten, comme décrite dans la littérature scientifique (Wu *et al.*, 2001), via le logiciel Lvit (Scott Ng-Evans, Electronics and Materials Engineering Shop, Seattle, WA, USA) (Figure 30). Cette équation est la suivante:

$$d[DA]/dt = f[DA]_p - V_{max}/((K_m/[DA]) + 1)$$

[DA] est la concentration extracellulaire instantanée de DA libérée, f est la fréquence de stimulation, $[DA]_p$ est la concentration de DA libérée par chaque *pulse* de stimulation, et V_{max} et K_m sont les constantes de vélocité et d'affinité du DAT respectivement. L'équation de Michaelis-Menten se base sur trois principes :

- Chaque *pulse* individuel de stimulation libère une quantité fixe de DA des terminaisons pré-synaptiques.
- La recapture est un mécanisme qui n'est pas infini et est saturable.
- La recapture par le DAT est le mécanisme prédominant dans la clairance de la DA extracellulaire.

Nous avons ainsi pu analyser spécifiquement les données de libération et de recapture dans la signalisation DAergique. Le K_m a été fixé à une valeur constante de 200 nM, comme décrit pour le striatum ventral (Wu *et al.*, 2001), puisque la littérature scientifique montre que l'alcool ne modifie pas l'affinité pour le DAT (E. A. Budygin *et al.*, 2001; Budygin *et al.*, 2005, 2007). V_{max} constitue donc la seule variable dans le mécanisme de recapture par le DAT. Les valeurs de $[DA]_p$ et V_{max} ont ainsi été modulées jusqu'à ce que nos tracés soient adaptés au modèle de Michaelis-Menten, avec un coefficient de corrélation strictement supérieur à 0,8 entre le modèle et nos données expérimentales. Le pic de [DA] a été extrait avant adaptation au modèle pour chaque tracé afin d'obtenir une valeur $[DA]_{max}$, reflétant la concentration extracellulaire maximale de DA et un paramètre de la libération de DA.

Nous avons donc analysé nos données de FSCV par l'extraction de trois variables en ligne de base, et pour chaque agent pharmacologique utilisé: $[DA]_{max}$, $[DA]_p$ et V_{max} . Les données

obtenues pour chaque ligne de base ont été exprimées en unité de concentration, tandis que celles pour chaque agent pharmacologique ont été exprimées en pourcentage de variation par rapport à la ligne de base.

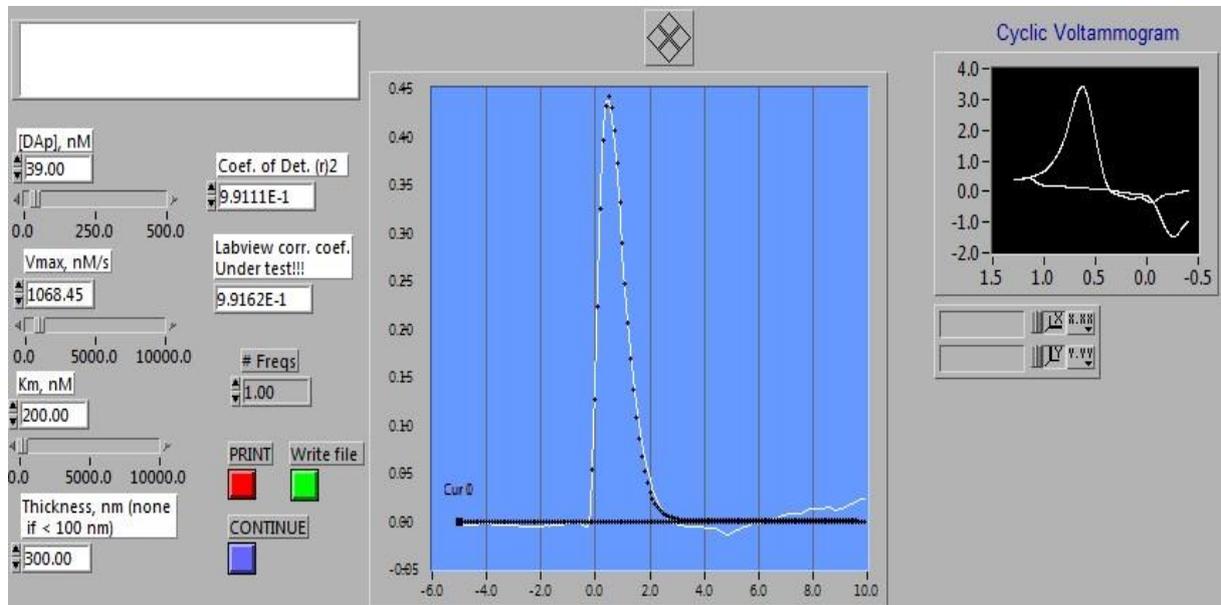


Figure 30 : Interface du logiciel Lvit. Le tracé (ligne noire en pointillés) est adapté à un modèle (ligne blanche) suivant l'équation de Michaelis-Menten en modulant les valeurs de [DA]p et Vmax, tandis que le Km reste constant. La correspondance entre tracé et modèle n'est considérée comme acceptable qu'avec un coefficient de corrélation strictement supérieur à 0,8.

RÉSULTATS

Article 1: Face validity of a pre-clinical model of operant binge drinking : just a question of speed

Publié dans *Addiction Biology*

Résumé :

Notre première étude transversale a été publiée dans le cadre d'un article caractérisant notre procédure volontaire d'AA mimant le *binge*. Cette étude a été réalisée avant le début de la thèse et a posé les bases pour la suite de celle-ci. Nous avons comparé les conséquences comportementales du *BD* avec le comportement de rats soumis à une consommation modérée (*moderate drinking*) ou excessive (*heavy drinking*) d'alcool. Nous avons montré que la motivation à consommer est supérieure chez les rats *bingers*, et que la vitesse de consommation est le facteur clé du *BD* chez le rongeur. Des atteintes locomotrices avaient en effet été spécifiquement retrouvées chez les rats *bingers* malgré un niveau de consommation similaire aux rats du groupe d'*heavy drinking*. Les capacités de PdD avaient également été évaluées chez ces animaux dans la *RGT* (protocole de Rivalan et al.) après une période de *BD* chronique en AA opérante, en comparaison avec des rats naïfs. De même, des modifications de la transmission DAergique dans la partie *core* du NAcc avaient été étudiées en *FSCV*. Nos résultats ont montré que les rats *bingers* ont fait significativement moins de choix avantageux dans la *RGT* que les rats naïfs, mais nous n'avions cependant pas mis en évidence de différence dans la signalisation DAergique du NAcc. Néanmoins, nous avons observé une plus faible libération phasique de DA chez les individus avec un mauvais niveau de PdD en *RGT*, indépendamment de la consommation d'alcool. Globalement, cette première étude nous a ainsi permis de démontrer une bonne validité d'apparence dans notre paradigme volontaire de *BD*, et de l'associer une première fois à de plus faibles capacités de PdD.

Face validity of a pre-clinical model of operant binge drinking: just a question of speed

Jérôme Jeanblanc¹ , Pierre Sauton¹, Virginie Jeanblanc², Rémi Legastelois¹, Victor Echeverry-Alzate¹, Sophie Lebourgeois¹, Maria del Carmen Gonzalez-Marin¹ & Mickaël Naassila¹ 

Research Group on Alcohol and Pharmacodependences–INSERM U1247, University of Picardie Jules Verne, Amiens, France¹ and PlatAnN, C.U.R.S., University of Picardie Jules Verne, Amiens, France²

ABSTRACT

Binge drinking (BD) is often defined as a large amount of alcohol consumed in a ‘short’ period of time or ‘per occasion’. In clinical research, few researchers have included the notion of ‘speed of drinking’ in the definition of BD. Here, we aimed to describe a novel pre-clinical model based on voluntary operant BD, which included both the quantity of alcohol and the rapidity of consumption. In adult Long–Evans male rats, we induced BD by regularly decreasing the duration of ethanol self-administration from 1-hour to 15-minute sessions. We compared the behavioral consequences of BD with the behaviors of rats subjected to moderate drinking or heavy drinking (HD). We found that, despite high ethanol consumption levels (1.2 g/kg/15 minutes), the total amounts consumed were insufficient to differentiate HD from BD. However, consumption speed could distinguish between these groups. The motivation to consume was higher in BD than in HD rats. After BD, we observed alterations in locomotor coordination in rats that consumed greater than 0.8 g/kg, which was rarely observed in HD rats. Finally, chronic BD led to worse performance in a decision-making task, and as expected, we observed a lower stimulated dopaminergic release within nucleus accumbens slices in poor decision makers. Our BD model exhibited good face validity and can now provide animals voluntarily consuming very rapidly enough alcohol to achieve intoxication levels and thus allowing the study of the complex interaction between individual and environmental factors underlying BD behavior.

Keywords animal model, binge drinking, decision making, fast cyclic voltammetry, operant self-administration.

Correspondence to: Jérôme Jeanblanc, Research Group on Alcohol and Pharmacodependences–INSERM U1247, CURS, CHU Amiens Sud, Chemin du Thil, 80000 Amiens, France. E-mail: jerome.jeanblanc@u-picardie.fr

INTRODUCTION

Alcohol use disorders (AUDs) have widespread negative consequences for public health. For two decades, an increasingly globalized, pervasive culture of intoxication has emerged among young people. Binge drinking (BD) is one subtype of problematic alcohol use, but to date, no exact, unique definition has been accepted worldwide, either for diagnostic or for research purposes (Rolland & Naassila 2017). BD is mostly defined clinically in terms of drinking frequencies, typical drinking quantities, frequencies of heavy drinking (HD) and alcohol-related aftermaths. Indeed, the National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism (NIAAA) defines BD as a pattern of drinking that raises the blood ethanol concentration (BEC) levels to 0.8 g/l (the legal intoxication level in the

United States) in a short period (2 hours). This BEC can typically be achieved by consuming 60 or 70 g of pure ethanol for women and men, respectively. The World Health Organization (WHO) has defined BD as heavy, episodic alcohol use. Heavy episodic drinking is defined as six or more WHO standard-drinks per occasion (World Health Organization 2014). Of note, a recent study has shown that, compared with the WHO criteria, the NIAAA criteria for BD identify subjects with more severe drinking patterns and alcohol aftermaths (Rolland *et al.* 2017). In the research context, the impact of BD on brain and cognitive functioning has been evaluated based on a more behavioral definition of BD. In research, the BD score includes both the quantity of alcohol consumed and the speed of consumption (Townshend & Duka 2002; Smith *et al.* 2017). In this context, brain

damage and cognitive alterations were shown to be more severe with BD compared with social drinking. Those findings revealed that both the level of intoxication and drinking speed, which is possibly the most important factor, were crucial factors in BD behavior.

Animal models are meant to parallel the human condition; it is very interesting to note that the NIAAA definition of BD in humans has also been used in different studies on animals (Crabbe, Harris, & Koob 2011). However, rodents do not readily consume sufficient amounts of ethanol to achieve intoxicating relevant BEC. Moreover, pre-clinical research on AUD is limited by the lack of a clear definition of BD behavior. Developing relevant animal models of BD is a priority for gaining a better characterization of the neurobiological and psychobiological mechanisms underlying this dangerous and harmful behavior. Moreover, this research could lead to better pharmacotherapies.

Wise (1973) first described an every-other-day access procedure for facilitating escalation of alcohol intake using highly concentrated alcohol solution (20 percent) creating an animal model of high levels of consumption. This procedure is now largely used by several laboratories (Simms *et al.* 2008; Hopf *et al.* 2010; Carnicella, Ron, & Barak 2014; Jeanblanc *et al.* 2014; Jeanblanc *et al.* 2015; Spoelder *et al.* 2016; Lebourgeois *et al.* 2017; Spoelder *et al.* 2017). Previously, human observations showed that the 'happy hour' facilitated BD (Kuo *et al.* 2003); moreover, animal studies showed that scheduled availability was useful in getting rodents to consume sufficient amounts of ethanol to achieve human drinking behavior (Holloway, Bird, & Devenport 1984). Based on those findings, we created a BD model by combining every-other-day access with very short time periods of ethanol availability in operant ethanol self-administration sessions. Indeed, it was previously suggested that, in 30-minute sessions of operant self-administration of a 20 percent ethanol solution, animals consumed 70 percent of the ethanol within the first 10 minutes, and BECs ranged from 0.25 to 0.85 g/l (mean 0.60 g/l) (Carnicella *et al.* 2014).

The present study aimed to set up a new animal model of voluntary operant BD, where animals displayed high-speed drinking and signs of intoxication. In order to model different patterns of consumption, we chose to use different procedures inducing different levels of ethanol self-administration. Until the mid-2000s, the gold standard for ethanol self-administration studies was the use of long-lasting (1 hour) session with a 10 percent ethanol solution to lead to moderate levels of alcohol consumption (usually around 0.3–0.4 g/kg). With the revival of the use of the intermittent access paradigm by the Bartlett's lab first and then the Ron's lab and others, self-administration paradigms shifted to shorter sessions

(30 minutes) with higher concentration of ethanol (20 percent) leading to higher consumption (0.6–0.7 g/kg). In order to mimic what is happening with human binge drinkers, we decided to reduce the accessibility to the drug to even shorter sessions (15 minutes) similarly to the 'happy hours' phenomenon, which leads to BD behavior. Our objectives were to achieve good face validity regarding high-speed alcohol consumption; to determine the levels of intoxication and a BEC threshold; and to identify the level of motivation (reinforcing efficacy of ethanol) for consuming highly concentrated ethanol solutions. Furthermore, we explored the negative consequences of BD by evaluating two hallmarks of AUDs and alcohol dependence: performance in a decision-making task and potential alterations in dopaminergic (DA) transmission within the nucleus accumbens (NAcc).

MATERIALS AND METHODS

Animals

Male Long–Evans rats (initial weight: 280–300 g; Janvier Laboratories, France) were individually housed under a light : dark cycle of 12 hours, with lights on at 7:00 AM. Food and water were available *ad libitum*. All animal procedures were in accordance with the European Community Regulations for Animal Use in Research (CEE N° 86/609) and approved by the local ethics committee (#260912-10).

Reagents

Ethanol (96 percent) was purchased from VWR (France), and sucrose was purchased from Sigma-Aldrich (France).

Moderate drinking

Initiation of moderate ethanol drinking (MD) was introduced with an ethanol 10 percent/sucrose two-bottle choice with a sucrose fading paradigm adapted from a previous study (Samson 1986) and described recently (Jeanblanc *et al.* 2014). Next, this first cohort of rats was trained to self-administer ethanol under a fixed ratio of 3 (three lever presses to obtain one reward of 0.1 ml of a 10 percent ethanol solution) in daily 1-hour sessions. For a more detailed description, see the Supporting Information.

Heavy drinking

To generate HD behavior, another cohort of rats was first submitted to a two-bottle choice protocol for 4 weeks with intermittent access to 20 percent ethanol, as described previously (Wise 1973). Then, rats were trained to self-administer ethanol (20 percent ethanol solution v/v) under a fixed ratio of 3 in daily 30-minute sessions.

For a more detailed description, see the Supporting Information.

Binge drinking

Binge drinking behavior was generated with a protocol similar to that described for HD. A third cohort of rats was used to generate BD rats. After the rats reached a stable baseline of ethanol self-administration (approximately 3 weeks), the session time was reduced to 15 minutes. Rats continued to self-administer the 20 percent ethanol solution (0.1 ml per delivery under a fixed ratio of 3).

Blood ethanol concentration

Blood was collected 10 minutes after the end of the self-administration sessions for all rat groups. An additional group of HD rats was used in order to evaluate the BECs 15 and 30 minutes after the beginning of the self-administration session to compare with the BECs of the BD (15-minute sessions). Rats were moderately sedated (5 percent isoflurane for 2 minutes); then, we collected 200- μ l blood from the lingual vein in heparinized tubes. Samples were centrifuged and stored on ice. Serum alcohol concentrations were determined with an ANALOX system (Imlab SARRL, Lille, France).

Rotarod

Rotarod training was performed in the morning at least 3 hours prior to self-administration sessions. In two sessions (one per day), BD rats were trained to remain on a rotating rod (7.62-cm diameter, Rotarod, IITC, Woodland Hills, CA, USA), which rotated at a fixed speed of 5 rpm. Then, rats were submitted to five sessions: one session at 10 rpm, one session at 15 rpm and finally three sessions, where the speed increased from 5 to 25 rpm over 300 seconds. The day after training, this same series of tests was performed immediately after a BD session. The times that rats remained on the rotating rod during the test session were subtracted from the times achieved in the last session of training.

Progressive ratio

The reinforcing efficacy of ethanol was evaluated with a progressive ratio (PR) paradigm. In this paradigm, the ratio of lever presses to one reward (i.e. the effort required for a single portion of ethanol) was successively increased after each reward delivery, as follows: 3, 4, 5, 7, 9, 12, 15, 17, 20, 22, 25, 28, 30, 33 and 35 (Jeanblanc *et al.* 2014). At some point, the animals stopped pressing the lever without receiving a reward. This point was called the breaking point, and it served as an index of the animal's motivation to consume ethanol. We choose to test the reinforcing efficacy with sessions of the same duration

of the self-administration ones, 15 and 30 minutes, keeping the level of ethanol consumed relatively moderate avoiding any interference of the total amount of ethanol consumed and the behavior. In addition, we already observed a plateau effect after 15 minutes in the 30-minute sessions of PR with HD (Jeanblanc *et al.* 2015).

Motivation for high ethanol concentrations

Rats were submitted to changes in the ethanol concentration between different self-administration sessions (FR3 schedule, 15 minutes), and we evaluated the amount of ethanol consumed. They had access to the regular 20 percent ethanol solution, then the solution was switched to a 10 percent ethanol solution for three consecutive sessions and finally a 30 percent ethanol solution for another three consecutive sessions. The data from the last session of each of the ethanol concentrations were used for the analysis.

Rat Gambling Task

This experiment was performed as described by Rivalan, Ahmed, & Dellu-Hagedorn (2009). For a detailed description, see the Supporting Information. Rats stopped completely the BD sessions before the Rat Gambling Task (RGT) started and were not re-exposed to any alcohol during the whole RGT experiment. Briefly, naïve (control) and BD rats were trained to nose-poke to obtain a sucrose pellet from four different holes, with no specific rules during the entire training phase (7–12 days). On the test day, a rule was attributed to each hole. Two holes led to advantageous choices for the rats; they received one pellet immediately, and a short time-out was imposed before they could obtain the next reward. The two other holes led to disadvantageous choices; they received two pellets immediately, but the time-out was long. A score was calculated as the number of advantageous choices per 10-minute segment, over a 1-hour test session. For a detailed description, see the Supporting Information.

Ex vivo fast-scan cyclic voltammetry

After performing the RGT experiment (BD and alcohol-naïve groups), rats were euthanized, and brains were collected. Fast-scan cyclic voltammetry experiments were performed, as described previously (Gibb *et al.* 2011). Briefly, coronal slices of the NAcc core were collected to measure electrically stimulated DA release. For a detailed description, see the Supporting Information.

Statistical analysis

When a significant effect was observed, normally distributed data with equal variances were analyzed (SigmaPlot

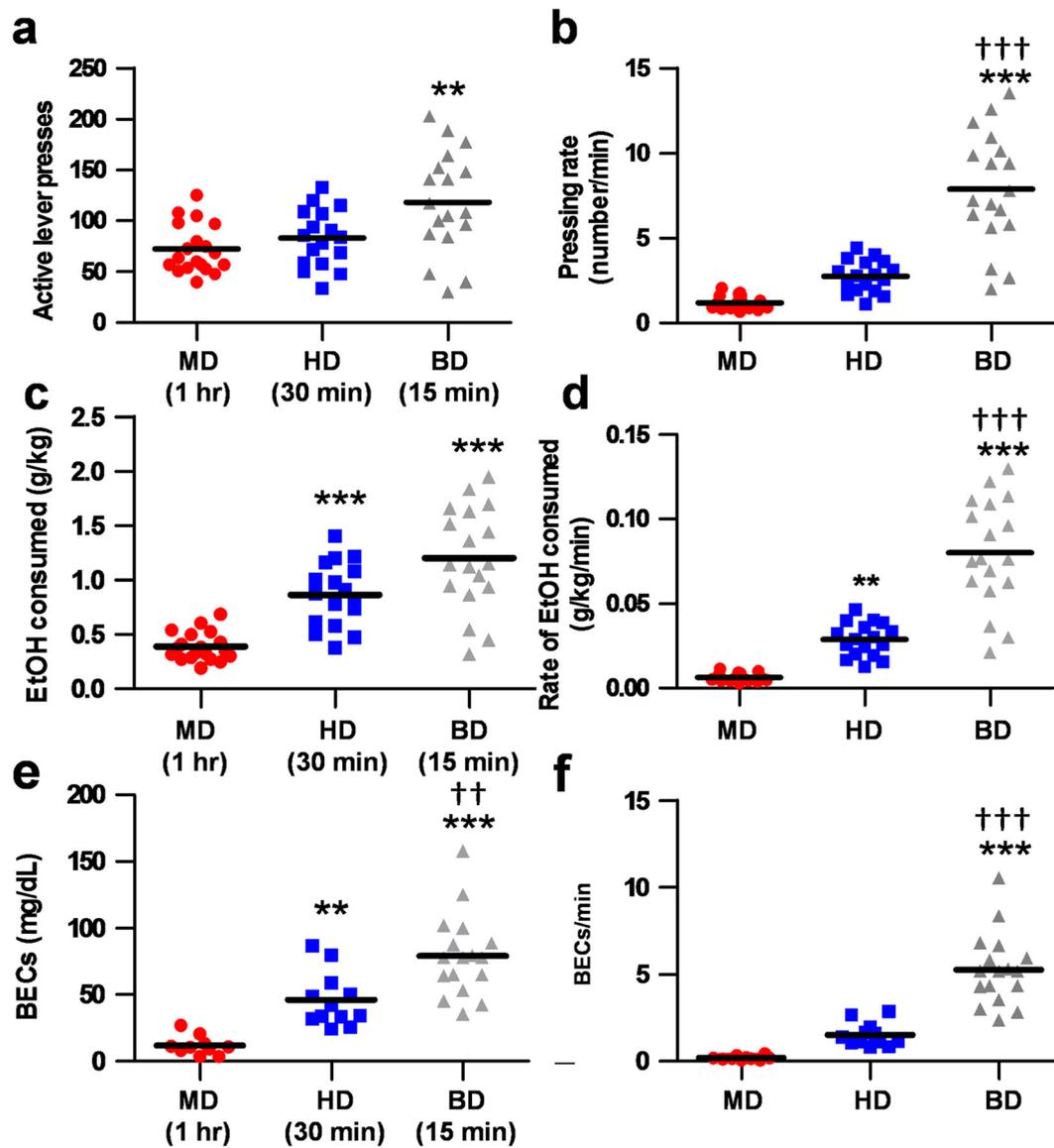


Figure 1 Alcohol self-administration comparisons between moderate drinking (MD), heavy drinking (HD) and binge drinking (BD). (a) Number of active lever presses obtained by the MD in 1-hour session under a FR3 schedule for a 10 percent ethanol solution, by the HD in 30-minute sessions under a FR3 schedule for a 20 percent ethanol solution and by the binge drinker in 15-minute sessions under a FR3 schedule for a 20 percent ethanol solution. Results are expressed as mean \pm SEM number of active lever presses. ** $P < 0.01$ versus MD. (b) Number of total active lever presses is depicted as a rate of pressing to evaluate the speed of consumption. Results are expressed as mean \pm SEM of number of active lever presses per minute. *** $P < 0.001$ versus MD, ††† $P < 0.001$ versus HD. (c) Amount of pure ethanol consumed by the MD in 1-hour session under a FR3 schedule for a 10 percent ethanol solution, by the HD in 30-minute session under a FR3 schedule for a 20 percent ethanol solution and by the binge drinker in 15-minute session under a FR3 schedule for a 20 percent ethanol solution. Results are expressed as mean \pm SEM ethanol consumed in g/kg. *** $P < 0.001$ versus MD. (d) Consumption rate of ethanol is represented as a function of time expressed in g/kg/minute. ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ versus MD, ††† $P < 0.001$ versus HD. (e) Blood alcohol concentration obtained by the MD after a 1-hour session under a FR3 schedule for a 10 percent ethanol solution, by the HD after a 30-minute session under a FR3 schedule for a 20 percent ethanol solution and by the binge drinker after a 15-minute session under a FR3 schedule for a 20 percent ethanol solution. Results are expressed as mean \pm SEM blood alcohol concentration in mg/dL. ** $P < 0.01$ and *** $P < 0.001$ versus MD; †† $P < 0.01$ versus HD. (f) Blood ethanol concentrations (BECs) are depicted in this figure as an increase rate of BECs along the 15-minute sessions. Results are expressed as mean \pm SEM of gain of BECs in mg/dL/minute. *** $P < 0.001$ versus MD, ††† $P < 0.001$ versus HD. For a, b, c and d: MD $n = 19$, HD $n = 17$, BD $n = 18$. For e and f: MD $n = 10$, HD $n = 12$, BD $n = 17$

11.0, Systat Software, Inc.) San José, CA, USA with one-way or two-way analyses of variance (ANOVAs), with or without repeated measures, followed by a Tukey multiple

comparison test. When a normal distribution was not observed, data were analyzed with a non-parametric analysis (Kruskal Wallis and Dunn's tests). For single comparisons,

we used a Student's *t*-test (two-tailed). Correlations were evaluated with Pearson's correlation test. Significance was set at $P < 0.05$.

RESULTS

Comparison of different models of ethanol self-administration

First, we recorded the numbers of active lever presses (Fig. 1a) in the three groups of rats (MD, HD and BD). The BD group performed the greatest number of active lever presses. A one-way ANOVA revealed a significant effect of the group: $F_{(2, 51)} = 8.29, P < 0.001$. The *post hoc* analysis indicated a significant difference between the MD and BD groups ($P < 0.01$). Because the session durations were different for each group, we represented the lever-pressing rates for each group of rats (Fig. 1b). Again, a one-way ANOVA indicated a main effect of the group: $F_{(2, 51)} = 54.94, P < 0.001$. The *post hoc* analysis revealed no significant difference between the MD and HD groups. However, the pressing rate of the BD group was significantly different from both the MD and HD groups ($P < 0.001$).

We then studied the amounts of ethanol consumed in each group. We observed that both the HD and BD groups consumed greater amounts of ethanol than the MD group (Fig. 1c). The equal variances criterion was not fulfilled in these data; therefore, we performed a Kruskal Wallis analysis and found a significant effect of the group ($H = 30.06, P < 0.001$). The *post hoc* analysis (Dunn's multiple comparison test) indicated a significant difference between the MD group and both the HD and BD groups ($P < 0.001$). We then analyzed the increase in the rate of ethanol consumed for each group (Fig. 1d). A one-way ANOVA conducted on these data revealed a significant effect of the group: $F_{(2, 51)} = 71.17, P < 0.001$. The *post hoc* analysis indicated a significant difference between the MD group and both the HD and BD groups ($P < 0.01$ and $P < 0.001$, respectively) and between the HD and BD groups ($P < 0.001$).

Blood samples were collected 10 minutes after the self-administration sessions and analyzed to determine BECs (Fig. 1e). A one-way ANOVA revealed a significant effect of the group $F_{(2, 36)} = 25.96, P < 0.001$. The *post hoc* analysis indicated a significant difference between the MD group and both the HD and BD groups ($P < 0.01$ and $P < 0.001$, respectively) and between the HD and BD groups ($P < 0.01$). The rates of increase in BECs were analyzed with a one-way ANOVA (Fig. 1f); this analysis revealed a significant effect of the group: $F_{(2, 36)} = 47.50, P < 0.001$. The *post hoc* analysis indicated a significant difference between the BD group and both the MD and HD groups ($P < 0.001$ for both).

The cumulative lever-press analysis (Fig. 2a) indicated a slow increase in the number of lever presses observed in the MD group, up to about 60 presses for the 10 percent ethanol solution. In contrast, the rate of lever presses was higher in the HD group, and a plateau was reached at about 15 minutes after the beginning of the session. Only a few presses were observed during the last 15 minutes, and the maximum was about 80 presses for the 20 percent ethanol solution. In the BD group, the rate of lever pressing increased steadily during the 15-minute session, and the maximum was 120 presses for the 20 percent ethanol solution. Typical examples of ethanol consumption showed that the MD and HD groups consumed in small bouts, every 5–10 minutes; in contrast, the BD group exhibited continuous consumption during the whole session of self-administration (Supporting Information Fig. S1a).

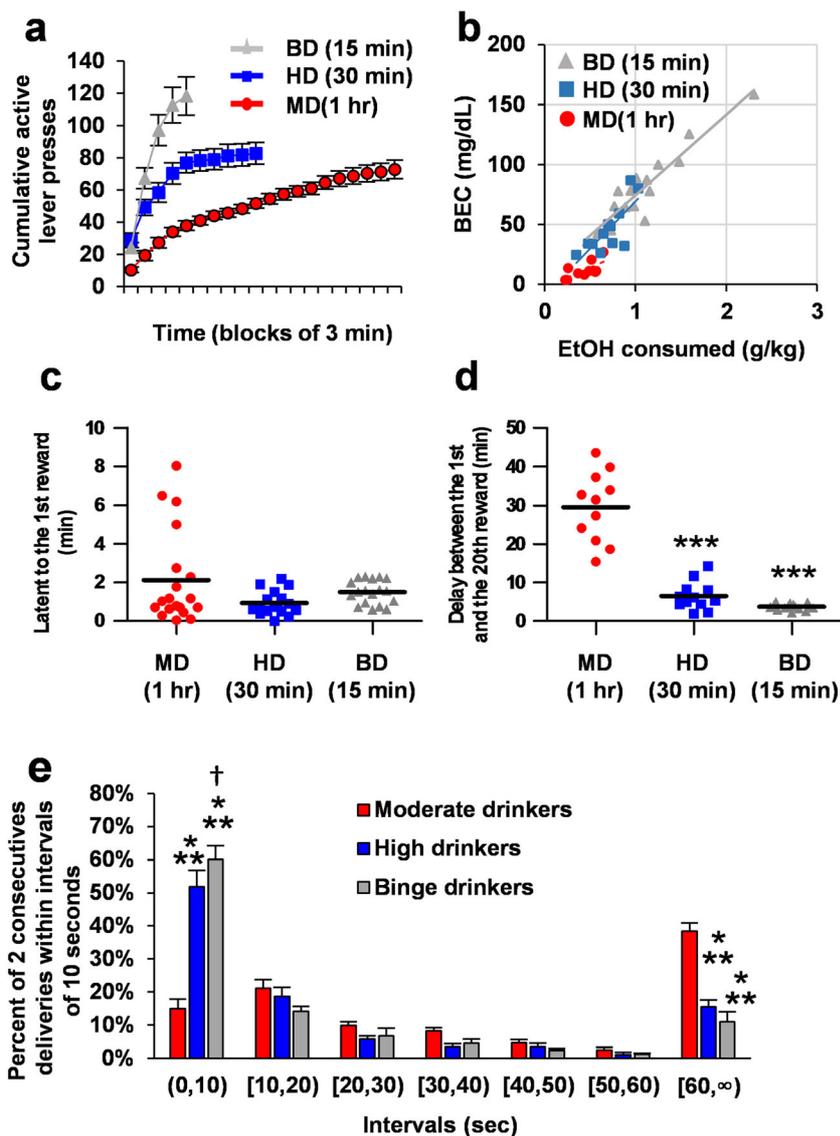
The BECs were directly correlated with the amounts of ethanol consumed in each group (Fig. 2b; Pearson's test: MD, $r = 0.69, P < 0.05$; HD, $r = 0.77, P < 0.01$; and BD, $r = 0.94, P < 0.001$).

Within the group HD, we performed an analysis of the BECs 15 and 30 minutes after the beginning of the self-administration. We found that, in two groups of 10 rats that self-administer similar amount of alcohol (Supporting Information Fig. S1b; *t*-test, $P > 0.05$), there was no difference in the BECs at 15 and 30 minutes (Supporting Information Fig. S1c; *t*-test, $P > 0.05$) despite the small number of presses performed at the end of the 30-minute session.

It is noteworthy that the latency to receiving the first reward (Fig. 2c) was not significantly different among the three groups ($F_{(2, 51)} = 2.75, P = 0.07$). In contrast, the delays between the 1st and 20th rewards (Fig. 2d) were significantly shorter in both the HD and BD groups, compared with the MD group. The one-way ANOVA conducted on these data revealed a significant effect of the group: $F_{(2, 35)} = 85.86, P < 0.001$. The *post hoc* analysis indicated a significant difference between the MD group and both the HD and BD groups ($P < 0.001$).

We then analyzed the intervals between two consecutive deliveries (Fig. 2e). We observed an interval of 10 seconds for about 15, 50 and 60 percent of deliveries in the MD, HD and BD groups, respectively. A two-way ANOVA analysis with repeated measures revealed a significant effect of the intervals ($F_{(6, 306)} = 115.93, P < 0.001$) and the group ($F_{(2, 306)} = + \text{inf}, P < 0.001$). Moreover, we found a significant interaction between these two factors ($F_{(12, 306)} = 25.95, P < 0.001$). The *post hoc* test indicated that the first interval duration was significantly different between the MD group and both the other groups ($P < 0.001$ for both) and between the HD and BD groups ($P < 0.05$). The last interval duration was also significantly different between the MD group and both the other groups ($P < 0.001$ for both).

Figure 2 Pattern of self-administration for moderate drinking (MD), heavy drinking (HD) and binge drinking (BD). (a) Cumulative active lever presses for the different groups over the self-administration sessions. Results are expressed as mean \pm SEM of number active lever presses. MD $n = 19$, HD $n = 17$, BD $n = 18$. (b) Correlation between the amounts of ethanol consumed expressed in g/kg and the blood ethanol concentrations (BECs) expressed in mg/dl for each of the groups. MD (red dots) $n = 10$, HD (blue squares) $n = 12$, BD (gray triangles) $n = 17$. (c) Latency to obtain the first reward. Results are expressed in mean \pm SEM of the time (minute) between the beginning of the session and the delivery of the first reward. MD $n = 19$, HD $n = 17$, BD $n = 18$. (d) Delay between the 1st and 20th delivery. To measure the speed of self-administration, we evaluated the delay between the 1st and 20th delivery of ethanol in the three groups. Results are expressed in mean \pm SEM of the delay (minute). MD $n = 11$, HD $n = 12$, BD $n = 15$. *** $P < 0.001$ versus the MD. (e) The pattern of drinking is different between the three groups. Results are expressed as mean \pm SEM relative number of inter-ethanol delivery intervals (IEDIs) a measure of the time between each successive ethanol reinforcer delivery, expressed as a percentage of total IEDIs with all intervals presented in 10-second time bins if ≤ 60 seconds, and all the IEDIs > 60 seconds grouped together. MD $n = 19$, HD $n = 17$, BD $n = 18$. *** $P < 0.001$ versus MD, † $P < 0.05$ versus HD



Binge drinking alters the reinforcing efficacy of ethanol

Next, we evaluated the motivation to self-administer ethanol. The HD and BD groups underwent a progressive ratio paradigm. The previous sessions lasted 15 minutes for the BD group and 30 minutes for the HD group. To facilitate comparisons, we conducted one 15-minute and one 30-minute session for the BD group and one 30-minute session for the HD group (Fig. 3a). The analysis revealed a main effect of the group ($F_{(2, 48)} = 14.83$, $P < 0.001$). The multiple comparison test indicated a significant difference between the performances of the HD and BD groups in both the 15-minute ($P < 0.05$) and

30-minute ($P < 0.001$) sessions. Of note, when the BD group was allowed to press the active lever for 30 minutes, they exhibited higher motivation than they exhibited in the 15-minute session ($P < 0.05$).

We then evaluated the motivation in the BD group for consuming different solutions of ethanol, one 10 percent and one 20 percent (Fig. 3b). We found that these rats exhibited a higher breaking point for the 20 percent ethanol solution than for the 10 percent ethanol solution ($P < 0.01$). Finally, rats were tested for three different concentrations of ethanol solutions (10, 20 and 30 percent). A one-way ANOVA with repeated measures revealed a significant effect of the ethanol solution ($F_{(2,$

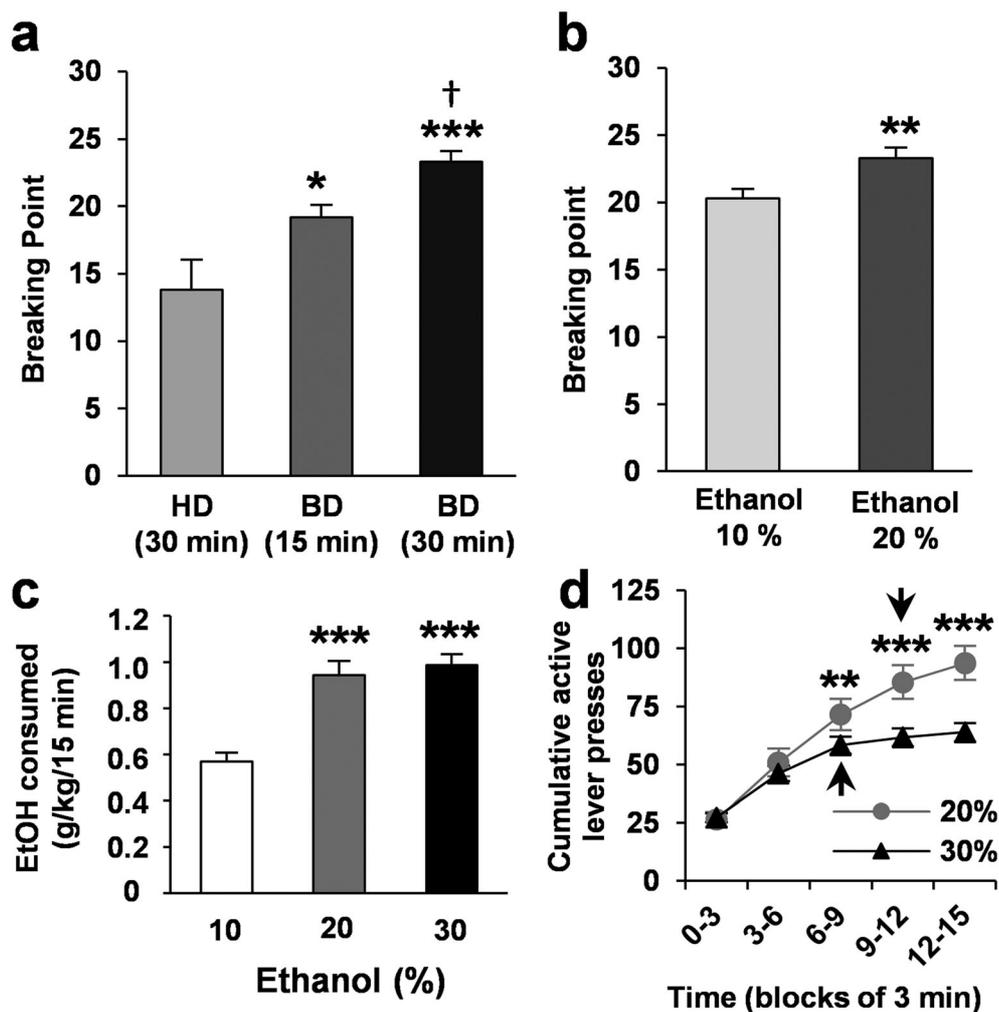


Figure 3 The BD rats are more motivated to consume ethanol than the heavy drinking (HD) rats. (a) Motivation to consume in a progressive ratio paradigm. Because the sessions for the binge drinking (BD) group are shorter than for the HD, we tested the rats during a 15-minute session (as usually) but also during a 30-minute session to allow the BD rats to have the same amount of time to press on the levers. Results are expressed as mean \pm SEM of the breaking point. HD $n = 10$, BD 15 minutes $n = 18$, BD 30 minutes $n = 23$. * $P < 0.05$ and *** $P < 0.001$ versus the HD and † $P < 0.05$ versus the BD group (15-minute session). (b) BD rats are more motivated to consume a 20 percent ethanol solution than a 10 percent ethanol solution. Results are expressed as mean \pm SEM of the breaking point. ** $P < 0.01$ versus ethanol 10 percent solution, $n = 23$. (c) Rats were submitted to changes in the ethanol concentration between different self-administration sessions (FR3 schedule, 15 minutes), and we evaluated the amount of ethanol consumed. They had access to the regular 20 percent ethanol solution, then the solution was switched to a 10 percent ethanol solution for three consecutive sessions and finally a 30 percent ethanol solution for another three consecutive sessions. Only the last session for each of the concentration was analyzed and depicted in Fig. 3c. BD rats reduce their pressing on the active lever for a 10 percent ethanol as compared with a 20 percent or even a 30 percent ethanol solution. Results are expressed as mean \pm SEM ethanol consumed in g/kg/15 minutes. *** $P < 0.001$ versus ethanol 10 percent, $n = 23$. (d) Cumulative active lever presses during the sessions of self-administration of a 20 or 30 percent ethanol solution. ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, $n = 23$. Arrows indicate the end of significant differences between the timepoints within each group

$_{44}) = 42.63$, $P < 0.001$); the *post hoc* test indicated a significant difference between the BD group that received 10 percent ethanol and both the other groups ($P < 0.001$). No difference was found between the BD groups that received 20 and 30 percent ethanol (Fig. 3c; $P > 0.05$). We analyzed the cumulative active lever presses (Fig. 3d) performed for the 20 and the 30 ethanol solution, the two different solutions leading to the same level of pure alcohol consumption (~ 1 g/kg/15 minutes, Fig. 3c).

The two-way with repeated measures ANOVA indicated a main effect of the factor ethanol solution ($F_{(1, 88)} = 14.01$, $P < 0.001$), of the factor time ($F_{(4, 88)} = 116.56$, $P < 0.001$) and of an interaction between both factors ($F_{(4, 88)} = 22.43$, $P < 0.001$). The *post hoc* test first revealed a significant difference between the two groups (20 and 30 percent ethanol) for the timepoints 6–9 ($P < 0.01$), 9–12 and 12–15 (P 's < 0.001). On the other hand, the within ethanol

concentration groups comparison revealed within the 20 percent ethanol group a significant difference between all timepoints but except for the 9–12 and 12–15 timepoints, meaning the last two. In regard to the 30 percent ethanol group, the absence of difference between timepoints appears earlier at the timepoints 6–9 and for the three last timepoints. This within comparison indicates that when the rats have access to the 30 percent ethanol solution, they reach the 1 g/kg faster than when they have the 20 percent ethanol solution delivered.

We next changed the accessibility to the 20 percent ethanol solution and evaluated the effects. First, after 10 days of abstinence, BD rats were allowed to re-access to self-administration. The abstinence led to a 20 percent increase in the number of active lever presses, compared with baseline levels (Supporting Information Fig. S2a; Student's *t*-test, $P < 0.01$). In another cohort of well-trained BD rats, we provided access to the operant self-administration chambers once in the morning (9:00 AM) and a second time at the end of the afternoon (6:00 PM). We observed that rats performed the same number of lever presses in the morning and afternoon; thus, they performed two binge episodes within the same day (Supporting Information Fig. S2b).

Loss of motor coordination

We tested the time intervals that HD and BD rats remained on the rotarod before falling, under ethanol and sober conditions (Fig. 4a). The difference in times was significantly correlated to the total amount of ethanol consumed during one BD session ($P < 0.001$), whereas no correlation between these parameters was observed in the HD group. Next, we separated these data into two groups; one group comprised rats that consumed less than 0.8 g/kg in 30 (HD) or 15 minutes (BD), and the other group comprised rats that consumed more than 0.8 g/kg in 30 (HD) or 15 minutes (HD). The two-way ANOVA revealed a main effect of the factor levels of alcohol consumed (<0.8 g/kg versus >0.8 g/kg): $F_{(1, 50)} = 7.44$, $P < 0.01$, no effect of the factor group (HD versus BD) $F_{(1, 50)} = 1.59$ not significant and no interaction between both factors $F_{(1, 50)} = 2.84$, $P = 0.098$ (Fig. 4b). The multiple comparison test (Tukey) indicated a significant difference between the groups HD and BD within the condition >0.8 g/kg ($P < 0.05$) and between the groups <0.8 and >0.8 g/kg within the BD group ($P < 0.001$).

Binge drinking alters decision making

A new cohort of rats trained in BD behavior was generated for the RGT experiment. Over the three sessions prior to the RGT, this group displayed an average ethanol self-administration of 0.92 ± 0.08 g/kg (range: 0.52 to

1.67 g/kg). Each sequence of choices made by the control and BD rats was recorded and expressed as the ratio of good/bad choices, in blocks of 10 minutes (Rivalan *et al.* 2009) (Fig. 5a). A two-way repeated measures ANOVA revealed a main effect of the group: $F_{(1, 191)} = 14.42$, $P < 0.001$, but no effect of the time: $F_{(5, 191)} = 1.47$, $P = 0.20$. We found no interaction in a Groups \times Time analysis: $F_{(5, 191)} = 0.09$, $P = 0.99$.

The results showed that BD rats made less advantageous choices than control rats. The data from the last 20 minutes of the RGT were used to categorize the

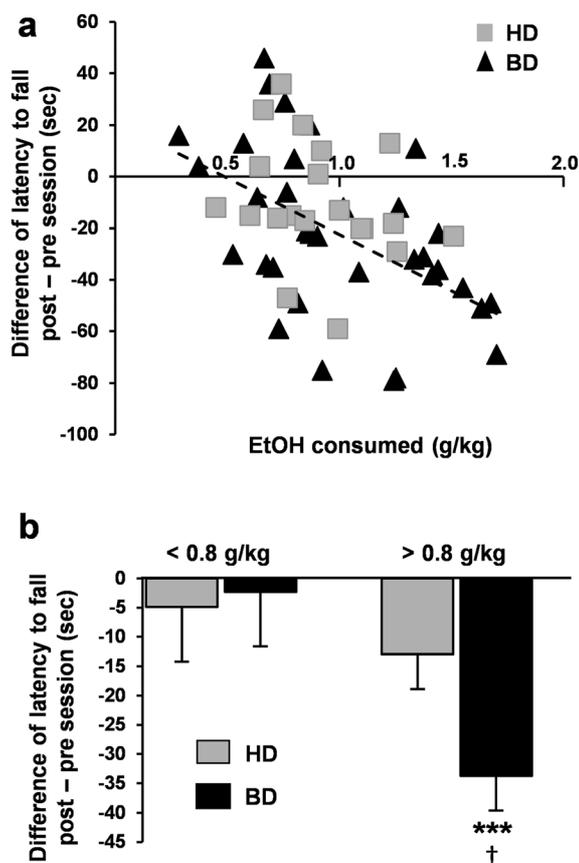


Figure 4 The amount of ethanol consumed by the binge drinking (BD) is sufficient to alter the locomotor coordination if they reach 0.8 g/kg in 15 minutes. (a) Immediately before and after a self-administration session, heavy drinking (HD) and BD rats were placed on an accelerating rotarod, and latencies to fall were recorded and correlated to the amount of ethanol consumed during the session. Results are expressed as mean \pm SEM of the difference of latency to fall post-pre binge session in seconds. HD $n = 20$, BD $n = 33$. Pearson test: $P < 0.001$. (b) Rats from HD on one side, and from BD on the other side, were separated in two groups in regard to the theoretical intoxicating ethanol consumption limit of 0.8 g/kg, and the difference of latency to fall after and before the binge session was averaged. Results are expressed in mean \pm SEM of the difference of latency to fall post-pre binge session in seconds. For the HD group, <0.8 g/kg/15 minutes $n = 8$, >0.8 g/kg/15 minutes $n = 12$. For the BD group, <0.8 g/kg/15 minutes $n = 12$, >0.8 g/kg/15 minutes $n = 21$. *** $P < 0.01$ versus the '<0.8 g/kg BD' group; † $P < 0.05$ versus the '>0.8 g/kg HD' group

distribution of choices made by each of the groups. When less than 33 percent of the choices were advantageous, rats exhibited poor decision-making (PDM) behavior; when between 33 and 66 percent of choices were advantageous, rats exhibited neutral behavior; and when 66 percent or more choices were advantageous, rats exhibited good decision-making (GDM) behavior. We found different proportions of decision making between the control and BD groups. In particular, a higher proportion of rats exhibited PDM in the BD group than in the control group ($\chi^2 = 5.719$, $P = 0.057$, Fig. 5b). In the control group, 10, 40 and 50 percent exhibited PDM, neutral and GDM behaviors, respectively. In the BD group, 43, 14 and 43 percent exhibited PDM, neutral and GDM behaviors, respectively.

In the control and BD groups that previously performed the RGT experiment (Fig. 5c & d), we measured DA released in the NAcc core slices induced by electrical stimulation. The peak levels of DA (200 nM) were similar between the control and BD groups ($n = 10$ in each group, t -test, $P = 0.86$). Similarly, no difference in the area under the curve was detected between groups (t -test, $P = 0.50$). We then combined the control and BD

groups and divided them into groups based on RGT performance (GDM versus PDM). The peak DA values indicated a marginal effect of performance on DA release ($n = 7$ in the PDM group, $n = 9$ in the GDM group, t -test, $P = 0.11$). However, the areas under the curve revealed a significant difference between the two groups ($n = 7$ in the PDM group, $n = 9$ in the GDM group, t -test, $P = 0.013$; Fig. 5d). It is noteworthy that on average, our groups of rats started the 20 percent intermittent access at 1.17 ± 0.19 g/kg/24 hours to finish at 4.57 ± 0.28 g/kg/24 hours at the end of the protocol. The analysis we performed show no correlation between the levels of alcohol consumption at the end of the 20 intermittent access protocol and none of the subsequent parameters studied (BD levels, decision making and DA release).

DISCUSSION

For about 10 years, researchers have developed different animal models of BD. However, most BD models were developed in mice, and often, the administration of alcohol was forced, rather than voluntary (for review, see Crabbe

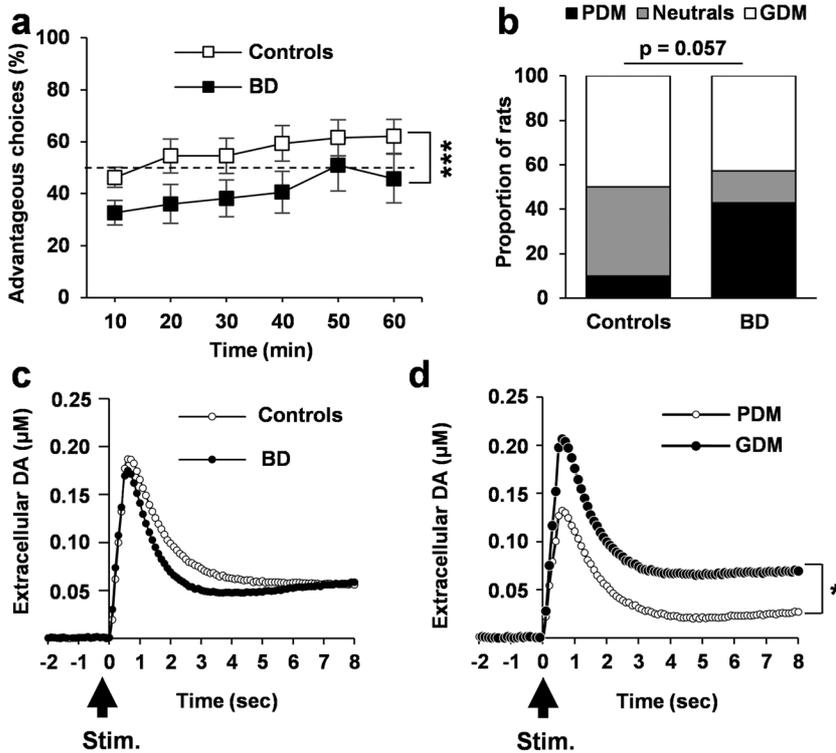


Figure 5 Binge drinking (BD) disrupts the decision-making process. (a) Evolution of the advantageous choices in both BD and control groups during the 60-minute test session. Results are expressed as a mean \pm SEM of the proportion of advantageous choices over the total number of choices made. $**P < 0.01$ versus controls. Controls $n = 24$, BD $n = 14$. (b) BD alters the distribution of good decision making (GDM) and poor decision making (PDM) with an increase in the number of PDM to the detriment of the neutral rats. Results are expressed as number of rats in each categories of decision makers. (c) The electrically induced release in dopamine (DA) within the core of the nucleus accumbens is not altered by the BD as compared with controls. Results are expressed in mean \pm SEM of extracellular DA concentration in μ M. Controls and BD $n = 10$. (d) The process leading to poor decision is supported by a decrease in DA release. Combining together the GDM and together the PDM from both controls and BD, we observed a strong decrease of DA released in the PDM rats. $*P < 0.05$ versus GDM (area under the curve). GDM $n = 9$, PDM $n = 7$

et al. 2011; Thiele & Navarro 2014; Fritz & Boehm II 2016). Indeed, numerous laboratories, including ours, administered ethanol with an intraperitoneal injection (Pascual *et al.* 2009; Alaux-Cantin *et al.* 2013; Pascual *et al.* 2014) or an inhalation procedure (Izco *et al.* 2007), to obtain rapid increases in BEC that mimicked the BECs observed in humans with BD-like behavior. Models that tested voluntary intake were mostly based on the drinking-in-the-dark paradigm in mice (McBride *et al.* 2010; Thiele, Crabbe, & Boehm 2nd 2014) and, more recently, in rats (Holgate *et al.* 2017).

Although, these non-operant paradigms are very useful, simple to set up and inexpensive, they have some limitations. For example, in those models, it is actually difficult to evaluate some important parameters of drug consumption, such as motivation and seeking out the drug.

Here, we demonstrated that our operant procedure could effectively train rats to drink, in a very short period of time, sufficient alcohol to induce ataxia. The rapid intake of ethanol associated with signs of intoxication provided good face validity of the model. Of note, we obtained the same BEC threshold as that used by the NIAAA to define BD. This threshold is typically difficult to obtain in models based on voluntary drinking. On average, in less than 15 minutes, our rats self-administered >1.2 g/kg, and even more (>1.5 g/kg), when we removed three outliers (Fig. 1c). In addition, the BECs were obtained only in 15 minutes; in other models, similar BECs were observed, but typically after 2-hour sessions. Because HD reached a kind of plateau in their active lever presses after 20 minutes of self-administration, we evaluated the BECs after 15 and 30 minutes in the HD group. These BECs obtained after 15 minutes were half of those obtained after 15 minutes of our BD group and remained stable until the end of the 30-minute sessions. This indicates that their ethanol consumption behaviors are completely different and the differences observed in the effect of such consumption are not due to different timepoints of blood collection.

Human studies suggested that the deleterious effects of BD may due to the rapid increase in BEC. Thus, it is important for animal models of BD to consume large amounts of ethanol, but in addition, they must take into account the rate of drinking. In our model, the BEC increased at a mean rate of 5 mg/dl/minute; thus, the 80-mg/dl threshold was achieved after only 15 minutes. In humans, the rapid rise in BEC, typically observed after gulping drinks and/or drinking on an empty stomach, was shown to be a key predictor of the occurrence of amnesia, also known as 'black-outs' (Goodwin *et al.* 1970; White 2003; Perry *et al.* 2006).

Reinforcing efficacy of ethanol is higher in BD rats as compared with HD rats. Moreover, when rats have a

prolonged PR session, we observed a new increase in the breaking point value. The duration of a normal BD session is 15 minutes; thus, we decided to perform the PR experiment using first the same duration. However, because HD rats had access to the levers for 30 minutes, we added a condition in which BD rats had access to the levers for 30 minutes too during a PR experiment. The increase observed in this latter condition suggests that the breaking point observed during the 15-minute sessions is not due to a real lack of motivation to continue but rather due to the limited duration of the session. Indeed, when rats have access to the levers for a longer period, the breaking point increases as compared with the 15-minute sessions. In addition, we also found that BD rats show higher preference for a 20 versus 10 percent ethanol solution. BD rats maintained high response levels even when the ethanol concentration was increased to 30 percent. In addition, by the analysis of the cumulative active lever presses, we show that when rats had the 30 percent ethanol solution delivered, they urge to self-administer faster than when they have the 20 percent ethanol solution. It is striking to observe that our pre-clinical data resonate with clinical observations regarding the fact that adolescent's binge drinkers are more prone to choose highly alcohol concentrated beverages to reach drunkenness/intoxication faster.

Our experiment on the alteration of locomotor coordination reveals that the speed of consumption is really the important features of the BD behavior. Indeed, there is no sign of intoxication in the HD rats consuming more than 0.8 g/kg (no difference with the rats consuming less than 0.8 g/kg), whereas a clear loss of locomotor coordination is observed in BD rats consuming more than 0.8 g/kg as compared with either the BD rats consuming less than 0.8 g/kg or the HD rats consuming more than 0.8 g/kg.

Taken together, the signs described previously are important features of BD behavior. It is notable that these rats could also voluntarily self-administer ethanol twice per day in a BD pattern. This finding was particularly relevant, because we recently showed that two binge-like ethanol exposures were sufficient to abolish long-term depression in the hippocampus after 48 hours (Silvestre de Ferron *et al.* 2017). Finally, the face validity of our model was further supported by our finding that, several weeks after chronic voluntary BD behavior, rat decision-making performance was reduced. Indeed, animals that consumed high levels were categorized as PDMs more frequently than animals that consumed low levels of ethanol. This last result was consistent with results obtained in humans (Goudriaan, Grekin, & Sher 2007; Johnson *et al.* 2008; Townshend *et al.* 2014).

Dopamine release in the NAcc was not altered by BD; however, we found reduced DA release in rats categorized as PDM compared with those categorized as GDMs,

consistent with previous studies (de Visser *et al.* 2011; Rogers 2011; Jones, Cservenka, & Nagel 2016). The absence of a significant difference between our control and BD groups could be due to one of three possible factors. First, there was a delay in measuring DA release (DA release was recorded at least 2 weeks after the end of the operant BD sessions). Second, the mix of GDMs and PDMs in both groups may have obscured the difference between groups. The last important hypothesis is that we used adult animals and that the current data in human BD have been obtained in adolescent individuals in which the brain may be more vulnerable to BD and thus to long-term effect of excessive alcohol intake during the critical period of adolescence. Future experiments are needed with a longitudinal approach to determine whether BD alters both decision making and DA release; also, DA release should be evaluated compared with the release observed at baseline, before starting voluntary BD.

Testing ways to reduce BD behavior might be very interesting and potentially useful in preventing the development of addiction. In this regard, we recently used this BD model to show that *N*-acetylcysteine, which has been used off-label to reduce craving in cocaine addiction, could also effectively reduce BD behavior (Lebourgeois *et al.* 2017). Thus indicating that our BD model has a good predictive validity. To further confirm this it might also be very interesting to use our model to investigate the efficacy of current AUD treatments and also find new neurobiological targets (construct validity). In regard to the gender, it is known that in Humans, the women start to consume also large amounts of alcohol and it was shown that they may be more sensitive to the negative effect of alcohol than men. For this reason, it will be very important but also complex to decipher the differences between male and female rats in our BD model. Finally, our voluntary operant BD model could be used to study both environmental and individual factors involved in BD behavior. Moreover, subpopulations might be identified based on distinct personality traits, as we recently demonstrated in a population of college students with BD behavior (Gierski *et al.* 2017).

Acknowledgements

This study was supported by the Conseil Régional de Picardie (CRP), the National Institute of Health and Medical Research (INSERM) and the Fondation Actions-Addictions (<http://actions-addictions.org>), an independent French foundation that supports evidence-based actions against addictive disorders. J.J. and R.L. were supported by postdoctoral fellowships from the INSERM/CRP. Part of the study was funded by the Fondation pour la Recherche sur l'Alcool (FRA). The funding groups played no role in the study design, data

collection, data analysis, manuscript preparation or the decision to publish.

Authors Contribution

JJ designed and performed the experiments, analyzed the data and wrote the manuscript. SP and RL designed and performed part of the experiments and analyzed the data. JV, LS, MGM and EAV performed the experiments. MN designed the experiments and wrote the manuscript.

References

- Alaux-Cantin S, Warnault V, Legastelois R, Botia B, Pierrefiche O, Vilpoux C, Naassila M (2013) Alcohol intoxications during adolescence increase motivation for alcohol in adult rats and induce neuroadaptations in the nucleus accumbens. *Neuropharmacology* 67:521–531.
- Carnicella S, Ron D, Barak S (2014) Intermittent ethanol access schedule in rats as a preclinical model of alcohol abuse. *Alcohol* 48:243–252.
- Crabbe JC, Harris RA, Koob GF (2011) Preclinical studies of alcohol binge drinking. *Ann N Y Acad Sci* 1216:24–40.
- de Visser L, Homberg JR, Mitsogiannis M, Zeeb FD, Rivalan M, Fitoussi A, Galhardo V, van den Bos R, Winstanley CA, Delu-Hagedorn F (2011) Rodent versions of the Iowa Gambling Task: opportunities and challenges for the understanding of decision-making. *Front Neurosci* 5:109.
- Fritz BM, Boehm SL II (2016) Rodent models and mechanisms of voluntary binge-like ethanol consumption: examples, opportunities, and strategies for preclinical research. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry* 65:297–308.
- Gibb SL, Jeanblanc J, Barak S, Yowell QV, Yaka R, Ron D (2011) Lyn kinase regulates mesolimbic dopamine release: implication for alcohol reward. *J Neurosci* 31:2180–2187.
- Gierski F, Benzerouk F, De Wever E, Duka T, Kaladjian A, Quaglini V, Naassila M (2017) Cloninger's temperament and character dimensions of personality and binge drinking among college students. *Alcohol Clin Exp Res* 41:1970–1979.
- Goodwin DW, Othmer E, Halikas JA, Freemon F (1970) Loss of short term memory as a predictor of the alcoholic "blackout". *Nature* 227:201–202.
- Goudriaan AE, Grekin ER, Sher KJ (2007) Decision making and binge drinking: a longitudinal study. *Alcohol Clin Exp Res* 31:928–938.
- Holgate JY, Shariff M, Mu EW, Bartlett S (2017) A rat drinking in the dark model for studying ethanol and sucrose consumption. *Front Behav Neurosci* 11:29.
- Holloway FA, Bird DC, Devenport JA (1984) Periodic availability: factors affecting alcohol selection in rats. *Alcohol* 1:19–25.
- Hopf FW, Chang SJ, Sparta DR, Bowers MS, Bonci A (2010) Motivation for alcohol becomes resistant to quinine adulteration after 3 to 4 months of intermittent alcohol self-administration. *Alcohol Clin Exp Res* 34:1565–1573.
- Izco M, Orio L, O'Shea E, Colado MI (2007) Binge ethanol administration enhances the MDMA-induced long-term 5-HT neurotoxicity in rat brain. *Psychopharmacology* 189:459–470.
- Jeanblanc J, Coune E, Botia B, Naassila M (2014) Brain-derived neurotrophic factor mediates the suppression of alcohol self-administration by memantine. *Addict Biol* 19:758–769.
- Jeanblanc J, Lemoine S, Jeanblanc V, Alaux-Cantin S, Naassila M (2015) The class I-specific HDAC inhibitor MS-275 decreases

- motivation to consume alcohol and relapse in heavy drinking rats. *Int J Neuropsychopharmacol* 18.
- Johnson CA, Xiao L, Palmer P, Sun P, Wang Q, Wei Y, Jia Y, Grenard JL, Stacy AW, Bechara A (2008) Affective decision-making deficits, linked to a dysfunctional ventromedial prefrontal cortex, revealed in 10th grade Chinese adolescent binge drinkers. *Neuropsychologia* 46:714–726.
- Jones SA, Cservenka A, Nagel BJ (2016) Binge drinking impacts dorsal striatal response during decision making in adolescents. *NeuroImage* 129:378–388.
- Kuo M, Wechsler H, Greenberg P, Lee H (2003) The marketing of alcohol to college students: the role of low prices and special promotions. *Am J Prev Med* 25:204–211.
- Lebourgeois S, Gonzalez-Marin MC, Jeanblanc J, Naassila M, Vilpoux C (2017) Effect of N-acetylcysteine on motivation, seeking and relapse to ethanol self-administration. *Addict Biol*.
- McBride WJ, Kimpel MW, Schultz JA, McClintick JN, Edenberg HJ, Bell RL (2010) Changes in gene expression in regions of the extended amygdala of alcohol-preferring rats after binge-like alcohol drinking. *Alcohol* 44:171–183.
- Pascual M, Boix J, Felipe V, Guerri C (2009) Repeated alcohol administration during adolescence causes changes in the mesolimbic dopaminergic and glutamatergic systems and promotes alcohol intake in the adult rat. *J Neurochem* 108:920–931.
- Pascual M, Pla A, Minarro J, Guerri C (2014) Neuroimmune activation and myelin changes in adolescent rats exposed to high-dose alcohol and associated cognitive dysfunction: a review with reference to human adolescent drinking. *Alcohol* 49:187–192.
- Perry PJ, Argo TR, Barnett MJ, Liesveld JL, Liskow B, Hernan JM, Trnka MG, Brabson MA (2006) The association of alcohol-induced blackouts and grayouts to blood alcohol concentrations. *J Forensic Sci* 51:896–899.
- Rivalan M, Ahmed SH, Dellu-Hagedorn F (2009) Risk-prone individuals prefer the wrong options on a rat version of the Iowa Gambling Task. *Biol Psychiatry* 66:743–749.
- Rogers RD (2011) The roles of dopamine and serotonin in decision making: evidence from pharmacological experiments in humans. *Neuropsychopharmacology* 36:114–132.
- Rolland B, Chazeron I, Carpentier F, Moustafa F, Viallon A, Jacob X, Lesage P, Ragonnet D, Genty A, Geneste J, Poulet E, Dematteis M, Llorca PM, Naassila M, Brousse G (2017) Comparison between the WHO and NIAAA criteria for binge drinking on drinking features and alcohol-related aftermaths: results from a cross-sectional study among eight emergency wards in France. *Drug Alcohol Depend* 175:92–98.
- Rolland B, Naassila M (2017) Binge drinking: current diagnostic and therapeutic issues. *CNS Drugs* 31:181–186.
- Samson HH (1986) Initiation of ethanol reinforcement using a sucrose-substitution procedure in food- and water-sated rats. *Alcohol Clin Exp Res* 10:436–442.
- Silvestre de Ferron B, Vilpoux C, Kervern M, Robert A, Antol J, Naassila M, Pierrefiche O (2017) Increase of KCC2 in hippocampal synaptic plasticity disturbances after perinatal ethanol exposure. *Addict Biol* 22:1870–1882.
- Simms JA, Steensland P, Medina B, Abernathy KE, Chandler LJ, Wise R, Bartlett SE (2008) Intermittent access to 20% ethanol induces high ethanol consumption in Long–Evans and Wistar rats. *Alcohol Clin Exp Res* 32:1816–1823.
- Smith KW, Gierski F, Andre J, Dowell NG, Cercignani M, Naassila M, Duka T (2017) Altered white matter integrity in whole brain and segments of corpus callosum, in young social drinkers with binge drinking pattern. *Addict Biol* 22:490–501.
- Spoelder M, Baars AM, Rotte MD, Vanderschuren LJ, Lesscher HM (2016) Dopamine receptor agonists modulate voluntary alcohol intake independently of individual levels of alcohol intake in rats. *Psychopharmacology* 233:2715–2725.
- Spoelder M, Pol S, Janssen BSG, Baars AM, Vanderschuren L, Lesscher HMB (2017) Loss of control over alcohol seeking in rats depends on individual vulnerability and duration of alcohol consumption experience. *Behav Pharmacol* 28:334–344.
- Thiele TE, Crabbe JC, Boehm SL 2nd (2014) “Drinking in the dark” (DID): a simple mouse model of binge-like alcohol intake. *Curr Protoc Neurosci* 68:41–12.
- Thiele TE, Navarro M (2014) “Drinking in the dark” (DID) procedures: a model of binge-like ethanol drinking in non-dependent mice. *Alcohol* 48:235–241.
- Townshend JM, Duka T (2002) Patterns of alcohol drinking in a population of young social drinkers: a comparison of questionnaire and diary measures. *Alcohol* 37:187–192.
- Townshend JM, Kambouropoulos N, Griffin A, Hunt FJ, Milani RM (2014) Binge drinking, reflection impulsivity, and unplanned sexual behavior: impaired decision-making in young social drinkers. *Alcohol Clin Exp Res* 38:1143–1150.
- White AM (2003) What happened? Alcohol, memory blackouts, and the brain. *Alcohol Res Health* 27:186–196.
- Wise RA (1973) Voluntary ethanol intake in rats following exposure to ethanol on various schedules. *Psychopharmacologia* 29:203–210.
- World_Health_Organization (2014) Global Status Report on Alcohol and Health. World Health Organization.

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section at the end of the article.

Supplementary Materials and Methods

Moderate drinking

Rats were exposed to a two-bottle choice paradigm in which they have continuous access for 3 weeks to a bottle of tap water and a bottle containing a solution changed every week of: 1st sucrose 10 % - ethanol 10% (v/v), 2nd sucrose 5% - ethanol 10 % (v/v) and finally 10 % ethanol with no sucrose. Then rats were trained to self-administer a solution of 10% ethanol (v/v) in operant chambers (Bioseb, Vitrolles, France) having two levers: an active lever for which presses resulted in delivery of a 0.1 ml of the fluid reward, and an inactive lever, for which presses were counted, but no programmed events occurred. After few sessions under a fixed ratio 1 (FR1), the effort necessary to obtain the reward was increased to 3 consecutive presses (FR3) and during 1-hr sessions. During the self-administration sessions, number of lever presses and number of ethanol deliveries were recorded using PackWin software (Bioseb, Vitrolles, France).

High drinking

First rats were submitted to a 20% intermittent access paradigm to induce an escalation in ethanol consumption for 4 weeks (Simms *et al*, 2008; Wise, 1973; Biton-Onon *et al*, 2011; Carnicella *et al*, 2009; Jeanblanc *et al*, 2014). Rats had access to 2 bottles, one containing tap water and one containing a 20% ethanol solution (v/v) every other day in their homecage. Then rats were trained to self-administer ethanol (0.1 mL of a 20% ethanol solution v/v per delivery). After 3 overnight session (FR1) rats were submitted to shorter sessions 5 days per week following a specific order of schedules: FR1 – 1 hour for 5-7 days, FR3 – 1 hour for 5-7 days and finally FR3 – 30 minutes until stable baseline of high drinking (HD) was reached.

Rat Gambling Task

Four polyvalent conditioning boxes (Imetronic, Pessac, France, 28x30x34 cm) were used in a silent room for the RGT. Each box was equipped with four nose-poke holes (A, B, C and D) illuminated within with a LED on a curved wall, opposite to the delivery magazine (sucrose pellets 45mg, Test Diet, Cambridge Univ., UK). A Plexiglas barrier (0.5x29.5x30 cm) opened in its center (7cm x 7cm) was placed in the center of the box to force the rats to go through this door before going to the delivery magazine. Data collection was automated using the POLY software (Imetronic, Pessac, France). Before engaging in training and during the whole protocol, rats were food restricted for 3 days to 95% of their theoretical weight to ensure sufficient motivation. The training was performed as described in (Rivalan *et al*, 2009)

Two groups of rats were used in this experiment, a group of rats exposed to the BD paradigm and a control group naive for alcohol. Briefly, first rats had to learn that 2 nose-pokes in any of 4 illuminated holes is reinforced by a sucrose pellet delivery (30-min sessions) until they reach a performance criterion of 100 pellets received. Then the last training phase consisted in two final 15 min pre-test sessions the day before the test. During the first pre-test session, rats received 2 sucrose pellets after 2 consecutive nose-pokes in order to habituate the rats to the new quantity of sucrose pellets they would be able to get during the test. The second pre-test session associated two consecutive nose-pokes with the delivery of a single sucrose pellet. The test phase consisted in a single 1-hr session (maximum of 250 sucrose pellets obtained) in which rats could freely choose between the four holes. Choices A and B led to the delivery of a single sucrose pellets whereas C and D choices led to the

delivery of two sucrose pellets. However the last ones were followed by longer penalties (222s and 444s time-out penalties respectively) compared to choices A and B (12s and 6s time-out respectively). Penalties occurred with a low probability (1/4) for choices B and C, while they occurred with a high probability for choices A and D (1/2). During a time-out, the 3 non-selected holes were inactive and lights switched-off while the selected hole remained illuminated to ensure association between choices and consequences. A brief extinction of the light signaled the end of the time-out to the animal.

Ex vivo Fast-scan cyclic voltammetry

Coronal NAc slices (250 μm) were cut on a Vibratome (VT200, Leica) in ice-cold artificial CSF (aCSF) containing 126 mM NaCl, 2.5 mM KCl, 1.1 mM NaH_2PO_4 , 1.4 mM MgCl_2 , 0.5 mM CaCl_2 , 18 mM NaHCO_3 , 11 mM glucose, with pH 7.2–7.4, saturated with 95% O_2 /5% CO_2 . Brain slices recovered in an aCSF bath containing 1mM of ascorbic acid for 1 h at 31°C. Then, slices were placed in a recording chamber and were continuously superfused with an aCSF solution containing 2.4 mM CaCl_2 saturated with 95% O_2 and 5% CO_2 . Fast scan cyclic voltammetry (FSCV) using carbon-fiber microelectrodes (7 μm diameter; 125 μm exposed surface; Goodfellow) was used to detect extracellular DA concentration. The scan rate was 400 V/s with a sampling interval of 100 ms and the scan range was from -0.4 to $+1.3$ V (vs Ag/AgCl). DA release was evoked by a single stimulation of 200 μA for 0.5 ms every 3 min. The concentration of the extracellular DA was calculated based on a standard curve (0.1, 1, and 10 μM DA) obtained for each microelectrode at the end of each recording session.

Supplementary Figure Legends

Supplementary Figure 1: **a)** Representation of typical patterns of active lever presses for the different groups of rats during their self-administration sessions. The moderate and HD consume ethanol by bouts every 5-10 minutes while the BD rats consume continuously during the 15-min session. **b)** Number of active lever presses of 2 subgroups of HD rats used for the evaluation of the BECs at 15 and 30 min after the beginning of the self-administration session. $n = 10$ in each group. **c)** BECs of HD rats after 15 or 30 minutes of self-administration. $n = 10$ in each group.

Supplementary Figure 2: **a)** After 10 days of total abstinence BD rats developed a stable (average over 4 consecutive days) increase in active lever presses of about 20%. Results are expressed as Mean \pm SEM active lever presses. ** $p < 0.01$, $n = 24$. **b)** When access to the self-administration is made possible twice a day, BD rats are capable of pressing for ethanol at similar levels twice to obtain a second binge drinking episode within the same day. Results are expressed as Mean \pm SEM active lever presses. $n = 7$.

References

Bito-Onon JJ, Simms JA, Chatterjee S, Holgate J, Bartlett SE (2011). Varenicline, a partial agonist at neuronal nicotinic acetylcholine receptors, reduces nicotine-induced increases in 20% ethanol operant self-administration in Sprague-Dawley rats. *Addict Biol* **16**(3): 440-449.

Carnicella S, Amamoto R, Ron D (2009). Excessive alcohol consumption is blocked by glial cell line-derived neurotrophic factor. *Alcohol* **43**(1): 35-43.

Jeanblanc J, Coune F, Botia B, Naassila M (2014). Brain-derived neurotrophic factor mediates the suppression of alcohol self-administration by memantine. *Addict Biol* **19**(5): 758-769.

Rivalan M, Ahmed SH, Dellu-Hagedorn F (2009). Risk-prone individuals prefer the wrong options on a rat version of the Iowa Gambling Task. *Biol Psychiatry* **66**(8): 743-749.

Simms JA, Steensland P, Medina B, Abernathy KE, Chandler LJ, Wise R, *et al* (2008). Intermittent access to 20% ethanol induces high ethanol consumption in Long-Evans and Wistar rats. *Alcohol Clin Exp Res* **32**(10): 1816-1823.

Wise RA (1973). Voluntary ethanol intake in rats following exposure to ethanol on various schedules. *Psychopharmacologia* **29**(3): 203-210.

Figure S1

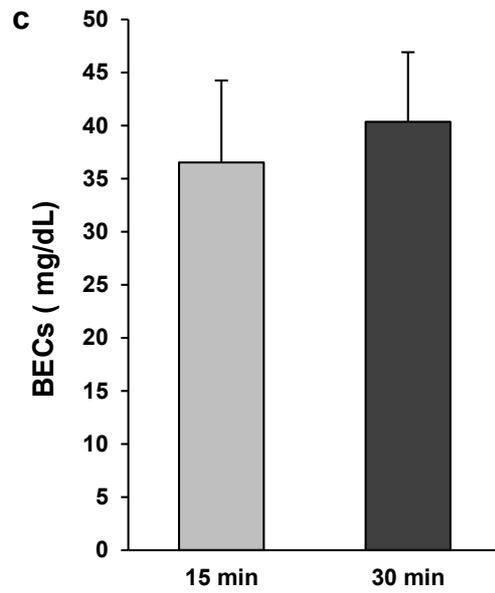
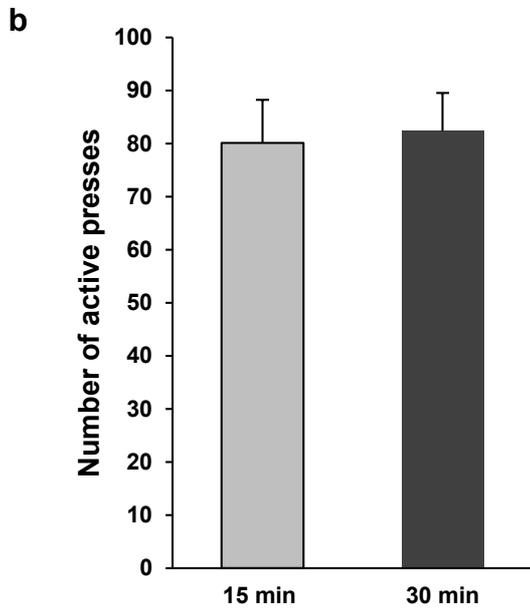
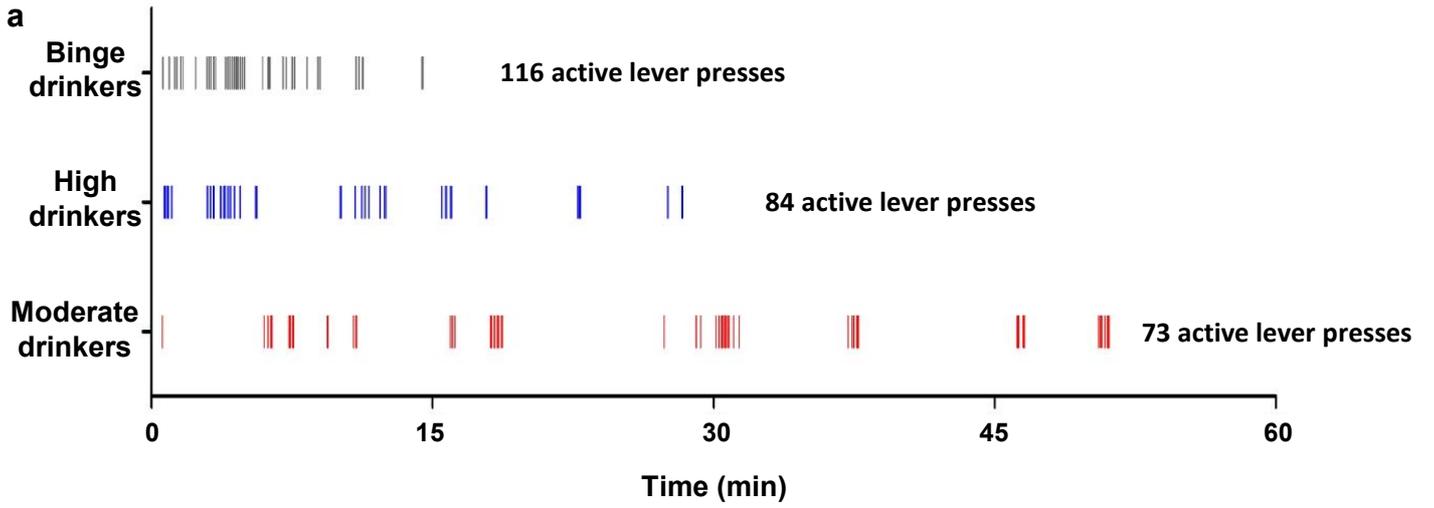
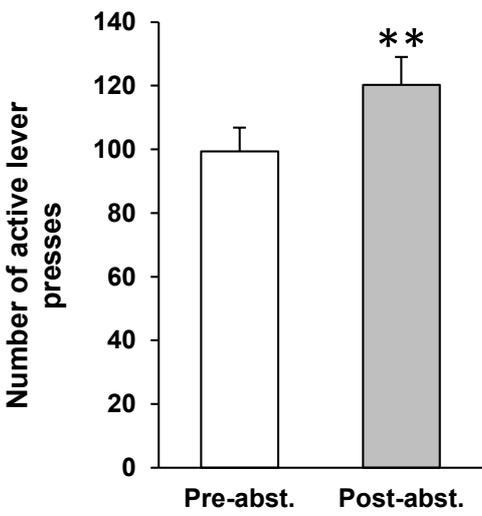
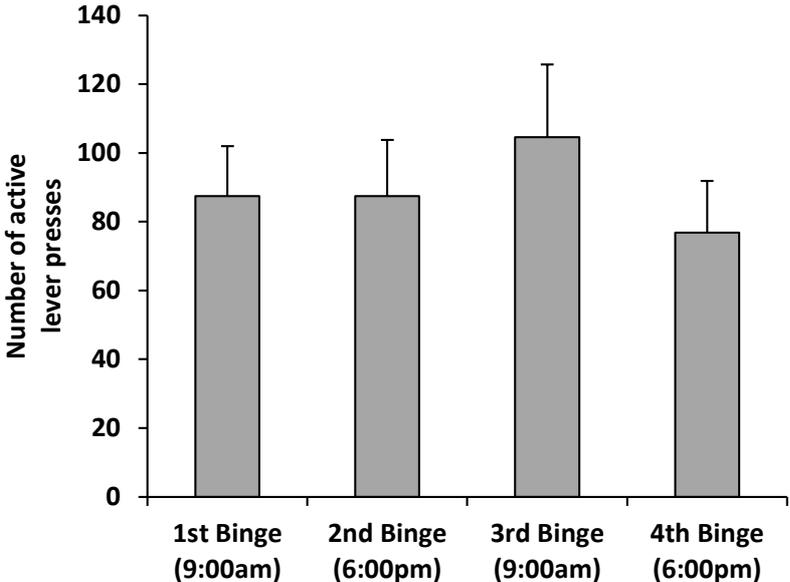


Figure S2

a



b



Article 2: Acute alcohol intoxication promotes immediate reward seeking in rats with a prior history of voluntary binge drinking

Résumé :

Au cours de cette seconde étude transversale, nous avons évalué les capacités de PdD en utilisant le protocole *RGT* de Zeeb et al. chez des rats s'étant intoxiqués de manière volontaire et chronique, durant des sessions quotidiennes d'auto-administration opérante. Les rats consommant de l'alcool ont été catégorisés comme *bingers* et *non bingers* selon un critère de consommation strictement supérieure à 0,8g/kg/15 min. Le *BD* chronique peut aussi changer la sensibilité aux effets délétères de l'exposition aiguë à l'EtOH sur la PdD, et nous avons donc testé les rats sous influence d'éthanol (1g/kg) administré par gavage oral ou injection intrapéritonéale (i.p). Nos résultats montrent que les capacités de PdD (choix de l'option optimale, pourcentage de choix avantageux et distribution du niveau de PdD (mauvais, neutre ou bon)) n'ont pas été altérées après plusieurs mois de *BD*. Une session d'auto-administration préalable ou un gavage oral à l'éthanol (20%) n'a pas eu d'effet sur le comportement de choix, indépendamment de l'historique de *binge*. Cependant, une injection i.p d'1g/kg d'éthanol, induisant une éthanolémie supérieure à un gavage ou une session d'auto-administration de 15 min, a résulté, exclusivement chez les rats *bingers*, en une augmentation doublée des choix de l'option la plus immédiatement récompensante mais aussi la moins optimale sur le long terme. Globalement, notre étude montre que l'intoxication aiguë à l'alcool augmente le choix d'options plus récompensantes mais aussi plus risquées, spécifiquement chez des rats présentant un historique de comportement de *BD* volontaire. Nos résultats suggèrent que l'hypersensibilité à la récompense pourrait être un marqueur du *BD* et pourrait, au moins en partie, expliquer la perpétuation du comportement de *BD* comme déjà mis en évidence par des observations cliniques.

Acute alcohol intoxication promotes immediate reward seeking in rats with a prior history of voluntary binge drinking

Pierre Sauton, Jérôme Jeanblanc* and Mickaël Naassila*

INSERM UMR 1247 – Research Group on Alcohol & Pharmacodependences (GRAP), Université de Picardie Jules Verne, Amiens, France

Correspondence and requests for reprints should be addressed to: Professor M. Naassila, INSERM UMR 1247 – GRAP, Université de Picardie Jules Verne, CURS, Chemin du Thil, 80025 Amiens cedex 1, Tel: +33 3 22 82 76 72; Fax: +33 3 22 82 53 99, E-mail: mickael.naassila@u-picardie.fr

Running title: Binge drinking and decision making

Conflict of interest

PS was supported by a PhD fellowship from the National Institute of Health and Medical Research (INSERM) and Regional Council of Hauts-de-France. There are no competing financial interests in relation to the work described here and all authors have nothing to disclose.

Abstract

Decision making (DM) impairment might both lead and perpetuate binge drinking (BD) behavior. Here, we tested DM performance using a novel gambling task in rats chronically and voluntarily intoxicated with 15-min daily sessions of 20% ethanol operant self-administration. Alcohol drinking rats were categorized as bingers and non bingers. Because chronic BD may also change the sensitivity to the DM impairing effects of acute ethanol use, we tested rats under the influence of ethanol (1g/kg) administered either by gavage or intraperitoneal (i.p.) route. Our results show that DM abilities (optimal option choice, percent of advantageous choices, and the distribution of the DM levels (poor, neutral and good)) were not altered after 3 months of BD. A prior ethanol self-administration session or 1g/kg oral gavage of ethanol (20%) had no effect on choice behavior whatever the binge status is. However, injection of ethanol (1g/kg i.p.), inducing a higher blood ethanol level compared with gavage or 15-min session of operant intake, resulted, exclusively in the binger rats, in a two-fold increase in choices of the long-term least optimal option which is also the most immediately rewarding one. Overall, our study demonstrates that acute alcohol intoxication increases choices toward more rewarding but also more risky option specifically in rats displaying history of voluntary BD behavior. Our results suggest that hypersensitivity to reward may be a hallmark of BD and may explain, at least in part, the perpetuation of BD behavior as already highlighted by clinical observations.

Keywords: alcohol, binge drinking, decision making, rat gambling task, operant self administration,

Introduction

Binge drinking (BD) is a specific pattern of excessive alcohol consumption characterized by recurring alternations between intense intoxication episodes and abstinence periods, that is highly prevalent in adolescent and young adults and associated with numerous negative consequences (Kuntsche et al. 2017; Rolland and Naassila 2017). Recent studies pointed out the need for a more operational definition of BD in order to improve our knowledge of this complex behavior in humans and to develop more relevant animal models. In this regard, a conceptualization of the BD behavior (different from other alcohol consumption patterns) combining quantitative and qualitative factors has been proposed, both

at the clinical and preclinical level (Jeanblanc et al. 2019a; Maurage et al. 2020). Numerous factors have been shown to play a role in BD behavior such as personality traits of impulsiveness, sensation seeking, emotional states, mood disorders (anxiety and depression) especially in females, decision making (DM), inhibitory control, peer pressure and dimensions of temperament and character (Gierski et al. 2017; Lees et al. 2019). One of the most studied factors in BD behavior is impulsivity, a heterogeneous concept which encompasses a variety of behaviors that can be seen as a personality trait, or as behavioral marker of actions and DM (see Herman and Duka 2019 for recent review) (Herman and Duka 2019). Only few studies have investigated the role of DM in BD behavior. As suggested for impulsivity, poor DM abilities could be a significant predisposing factor of BD behavior; DM could also be altered by BD. A recent meta-analysis showed a strong association between Alcohol Use Disorders (AUD) and poor DM capacities (Kovács et al. 2017). Alcohol-dependent patients make more disadvantageous choices than healthy individuals, whether after recent detoxification and abstinence (2-3 weeks) (Goudriaan et al. 2005; Noël et al. 2007; Kornreich et al. 2013), or prolonged abstinence of several years (Fein et al. 2004) with more pronounced deficits associated to severe AUD (Noël et al. 2007).

A previous study has shown in college students over a 2-year period that a high and stable BD group (consumption of ≥ 70 g of ethanol on one occasion and at least 2–3 times in the past 30 days) made less advantageous choice on the Iowa Gambling Task (IGT) and that impulsivity was not related to DM performance (Goudriaan et al. 2007). A 2-year follow-up of the same cohort demonstrated that disadvantageous decision-makers continued to drink heavily thus revealing that impairment of neurocognitive DM performance is a predictor of problematic alcohol use (Goudriaan et al. 2011). Another study in adolescents, using the classic IGT and a variant version with reversed reward/punishment contingencies, demonstrated that binge drinkers who performed normally on working memory and scored normally on school academic performance, displayed DM impairment attributed to hypersensitivity to reward (Johnson et al. 2008). It has also been observed that Korean BD students (21 years old) displayed impairments in both DM and reversal learning (Yoo and Kim 2016).

However, a more recent study did not show a poor performance in the IGT in university students with a stable pattern of BD throughout late adolescence (18–23 years old) (Carbia et al. 2017). Overall, most clinical studies have shown that BD is associated with DM impairments. Hypersensitivity to reward (Johnson et al. 2008), abnormalities in DM related circuitry (Jones et al. 2016) and difficulties in previously learned outcome (Yoo and Kim 2016) might explain why BD continues in spite of its associated negative consequences.

Several rodent versions of the IGT have been developed (for review (de Visser et al. 2011), but few preclinical studies have investigated DM impairments in a context of BD. Using a task developed by Rivalan et al. (Rivalan et al. 2009), we have previously shown that chronic operant BD is associated with reduced DM performances (Jeanblanc et al. 2019b). Here, we used a different paradigm developed by Zeeb et al. (Zeeb et al. 2009) to evaluate the consequences of BD on DM in rats, but also how choices may be affected when animals are under the influence of acute alcohol exposure.

Acute alcohol treatment in rodents and healthy humans has been reported to have mixed effects, i.e., either unaffected or impaired DM. Enhanced risky choice behavior has been shown after acute and repeated alcohol exposure (0-0.8g/kg i.p.) during the task acquisition in a modified version of IGT (with 3 choices labeled safe, optimal and risky) in rats, whereas no effect is observed on choice behavior after acute alcohol challenge in alcohol naïve animals (Spoelder et al. 2015). Likewise, in a similar mouse version of the RGT, acute alcohol exposure (1g/kg 15 min before testing) did not affect DM in control mice (Peña-Oliver et al. 2014). In another study in Long-Evans rats, ethanol (0.5, 1.0 or 1.5g/kg i.p.) had no effect on risky DM assessed in a task with food pellets delivered after lever pressing and possible footshock (Mitchell et al. 2011). In human social drinkers, administration of alcohol (0.6g/kg) impaired risky decision making and in particular one's ability to alter responding in light of changing prospective rewards in order to make favourable decisions (George et al. 2005).

In the present study, we used our newly developed model useful to study BD consisting in voluntary operant self-administration of 20% ethanol during 15-min per day and that displays good face

(Jeanblanc et al. 2019b) and predictive validities (González-Marín et al. 2018; Lebourgeois et al. 2018). In addition to the effects of chronic BD on DM we also studied the impact on DM when animals with a drinking history are acutely intoxicated following active (operant self-administration session) and passive (oral gavage and i.p injection) administration of ethanol.

Materials and methods

See supplementary information for reagents and blood ethanol concentration determination.

Animals

30 Long Evans males were obtained from Janvier Laboratories (Le genest-Saint-Isle, France) at the age of 7 weeks. As this was not the scope of this study and we are currently characterizing our model of voluntary operant BD in females, we have not included female rats in this work. The animals were individually housed in isolate ventilated cages (IVC) with food and water *ad libitum* and no enrichment, those conditions allowing for individual analysis et higher ethanol consumption (Deehan Jr et al. 2007). The light phase started at 7:00am for 12 hours. The experiments started one week after their arrival. See supplementary information for a rat flowchart and the exclusion criteria (Supplementa Figure 1)

Ethics and study approval. Experiments were carried out in accordance to the guidelines for Care and Use of Laboratory Animals (NIH) and the E.C. regulations for animal use in research (CEE no. 86/609) and were approved by the local research ethics committee (CREMEAP; no. APAFIS#2145-201510051547534). All efforts were made to minimize animal suffering and to reduce the number of animals used.

Binge drinking in operant self-administration procedure

All the behavioral procedures are presented on the Figure 1 with a timeline indicating the number of weeks and the age of the animals.

First, during an Intermittent Access 2-Bottle Choice (IA2BC) procedure, rats had access to 2 bottles, one containing tap water and one containing a 20% ethanol solution (v/v) every other day in their home cage for 9 weeks. Rats had continuous access to food during all drinking procedures. During drinking sessions (24 hours), bottles were placed at 2:00pm and removed at the same time the next day. Bottles were weighted at the end of each drinking session and the rats twice a week. Then, rats were trained to self-administer ethanol (0.1 mL of a 20% ethanol solution w/v per delivery) daily during operant BD (OBD) sessions. After 3 overnight sessions (Fixed Ratio 1, FR1) rats were submitted to shorter sessions 5 days per week following a specific order of schedules: FR1 – 1 hour for 5 to 7 days, FR3 – 1 hour for 5 to 7 days and finally FR3 – 30min until stable baseline of drinking was reached (<20% variation for 3 consecutive sessions). To obtain the BD phenotype, the duration of the sessions was then reduced again to 15 min. This reduction in the duration of the sessions leads to intoxicating levels of ethanol self-administration (Jeanblanc et al. 2019b). According to the 0.8 g/kg/15 min BD behavior threshold that we previously described (Jeanblanc et al. 2019a), rats were characterized as ‘bingers’ (if \geq) and ‘non bingers’ (if $<$). The number of active and inactive lever presses as well as the number of obtained rewards were recorded. All OBD sessions were conducted between 2:00 pm and 5:00 pm, except for the overnight ones between 5:00 pm and 9:00 am (16 hours). During the Rat Gambling Task training and testing, animals were still undergoing and stabilized during daily self-administration sessions in the afternoon to ensure a baseline level of intoxication.

Rat Gambling Task

The Rat Gambling Task (RGT) is a rodent gambling procedure based on the Iowa Gambling Task (IGT) used in humans (Bechara et al. 1994), allowing to assess DM in rats (Zeeb et al. 2009). We used an adaptation of the protocol developed by Zeeb et al. (Zeeb et al. 2009) which is based on a gambling principle and that is more suitable for longitudinal follow-up compared for example with the RGT (Rivalan et al. 2009). Briefly, the animal is facing series of conflictual choices where he has to choose the best available option, the most rewarding ones being associated with higher ‘punishment’. The test runs in two phases: the training and the test phase. During these phases the rats were moderately

food restricted (maintained at 95% of their free-feeding weight) and fed at least one hour after the RGT sessions.

Rats are first habituated to the operant chambers over two daily 30-min sessions and a maximum of 100 trials. Training is pursued until the rats are performing more than 80% of correct trials and less than 20% of omissions. Rats are next trained during 7 forced-choice RGT sessions in which each nose-poke is associated with a different reward and punishment probability (P1: 1 pellet $p = 0.9$, 5s timeout $p = 0.1$; P2: 2 pellets $p = 0.8$, 10s timeout $p = 0.2$; P3: 3 pellets $p = 0.5$, 30s timeout $p = 0.5$; P4: 4 pellets $p = 0.4$, 60s timeout $p = 0.5$). During the forced-choice RGT sessions, only one hole is illuminated per trial, following the same chronological order (first one in the first trial, second one in the second...). This way, it is ensured that all animals have equal experience with all the four reinforcement contingencies, preventing the development of bias preference. Once the forced-choice sessions are over, rats are starting the 30-min free-choice RGT sessions until a stable pattern of choice (<20% variation for 3 consecutive sessions) between the four options are observed. P1 and P2 options are considered as the advantageous choices, while P3 and P4 are considered as disadvantageous choices. If a rat were to choose only one option, then the greatest number of pellets possible would be with P2 (411, most optimal option), then P1 (295), P3 (135) and P4 (99, least optimal option) (Zeeb et al. 2009). For all the details regarding the apparatus and training, see supplementary informations.

In order to evaluate the DM performances of rats under the influence of ethanol, we administered either by gavage or by intra-peritoneal (i.p.) injection a dose of 1g/kg to mimic the intoxicating levels. A gavage with a 1,5 g/kg dose was also performed but datas were not exploited due to illness and mortality (see Supplementary informations). A 20% ethanol solution in Saline (v/v) was administered 15 min prior to the RGT test for the 1g/kg dose. A 30% ethanol solution in Saline (v/v) was administered 15 min prior to the RGT test for the 1,5g/kg dose, to stay in line with volume recommendations from the European Directive on animal experiments. Experiments were conducted after a 1-week period of abstinence from the self-administration procedure. 27 rats were administered by gavage, but, due to

mortality, 12 rats were excluded from the i.p injections (see rats selection and exclusion in the supplementary informations).

Statistical analysis

All data were presented as means \pm standard error (SEM). Data were analyzed (SigmaPlot 11.0, SysStat Software, Inc.) using an analysis of variance test (one or two-way ANOVA with repeated measures, RM-ANOVA) followed by a Tukey multiple comparison test when a significant effect was observed for the data following a normal distribution and an equality of variances. When the data did not follow these criteria, a non-parametric analysis was performed (Friedman's test and Dunn's post test). For single comparison, we used a Student's t-test (2-tails). For proportions, we used a χ^2 test. The significance threshold was fixed at $p < 0.05$. The rat flowchart and exclusion criteria are presented on the supplemental figure 1.

Results :

Operant Binge Drinking Paradigm

As expected, rats exhibited escalation of ethanol consumption (Figure 1B: one-way RM-ANOVA: ($F_{(8,232)}=7.63$, $p < 0.001$) and preference (Figure 1C: one-way RM-ANOVA: $F_{(8,232)}=15.00$, $p < 0.001$) during the 9 sessions of the 20% intermittent access protocol (Figure 1A).

Then, animals underwent daily self-administration sessions (Figure 1D) for 12 weeks and were split in regards with their average ethanol consumption over 3 consecutive sessions. The threshold was set to 0.8 g/kg/15 min since we previously demonstrated that rats consuming more than 0.8 g/kg during the 15 min sessions are showing loss of locomotor coordination (Jeanblanc et al. 2019b). We obtained 18 rats consuming less than 0.8 g/kg/15 min with an average of 0.56 g/kg/15 min and 12 rats consuming more with an average of 0.93 g/kg/15 min (Figure 1E: Student's t-test: $p < 0.001$).

Baseline behavior in the Rat Gambling Task

After the BD procedure, rats were trained for 8 weeks in the RGT following the rules attributed to each of the 4 options proposed during the test (Figure 1F) until they reached a stable choice behavior (<20% variation for 3 consecutive sessions, $15,07 \pm 1,82$ sessions). Three rats (all from the non bingers group) were excluded after failing to learn the task (low operant responding: <20 trials launched by the end of all training sessions). The baseline choice behavior (Figure 1G) was evaluated on the last 3 stable RGT test sessions. The normality criterion was not fulfilled in these data, therefore, we performed a Friedman test and found a significant effect of the option ($\chi^2_{(3)}=35.222$, $P<0.001$). The *post hoc* Dunn analysis revealed that the animals significantly favored the P2 option compared to the rest ($p<0.05$ vs. all other options) (See Supplemental Figure 2).

We thus evaluated the choice behavior during this baseline test between the non binger and binger rats (Figure 2) and found a similar pattern of response for both groups (preference for the optimal option P2). A two-way RM-ANOVA revealed a significant effect of the option ($F_{(3,75)}=40.19$, $p<0.001$) but no effect of the group ($F_{(1,75)}=1.08$, $p=0.31$) and no interaction between both factors ($F_{(3,75)}=0.69$, $p=0.56$). We categorized choices made by each of the groups (Figure 2 insert): less than 33% of advantageous choices (P1+P2) means poor DM (PDM) behavior; between 33 and 66% of advantageous choices, rats exhibited neutral behavior and finally more than 66% of advantageous choices is interpreted as a good DM (GDM) behavior. Despite a lower percentage of good decision makers in the binger rats (58 vs. 80 for the non bingers), no statistical differences were revealed ($\chi^2_{(2)}=3,02$, $p=0.22$). No differences were observed for the other parameters (advantageous choices, omissions and premature responses) except for the number of trials that is a little bit higher in binger rats during the baseline test (Supplemental Figure 4A-D and Supplemental informations).

Effects of acute alcohol on the RGT: single self-administration session or 1g/kg 20% ethanol i.g gavage

We evaluated the effect of acute administration of alcohol on the RGT by testing the rats 15min after either a BD operant self-administration session or a gavage (1g/kg). For the non binger rats (Figure 3A), a two-way RM ANOVA revealed a significant effect of the option ($F_{(3,84)}=92.47$, $p < 0.001$) but no effect of the treatment ($F_{(2,84)}=1.35$, ns) and no interaction between both factors ($F_{(6,84)} = 0.40$, ns). We also found no effect of the treatment on the distribution of the proportions of DM level ($\chi^2_{(2)}=1.26$, $p=0.53$). Both at baseline (Figure 4A) and after the self-administration session (Figure 4B), 0, 20 and 80 percent exhibited PDM, neutral and GDM behaviors, respectively. After the gavage, 0, 35.7 and 64.3 percent exhibited PDM, neutral and GDM behaviors (Figure 4C). For the binger rats (Figure 3B), a two-way RM ANOVA revealed a significant effect of the option ($F_{(3,66)}=17.91$, $p<0.001$) but no effect of the treatment ($F_{(2,66)}=0.10$, ns) and no interaction between both factors ($F_{(6,66)}=0.43$, ns). We also found no effect of the treatment on the distribution of the proportions of DM level ($\chi^2_{(4)}=0.14$, ns). Both at baseline and after the self-administration session (Figure 4A-B), 16.7, 25 and 58.3 percent exhibited PDM, neutral and GDM behaviors, respectively. After the gavage, 8.4, 33.3 and 58.3 percent exhibited PDM, neutral and GDM behaviors (Figure 4C). The treatments had no effect on the proportion of advantageous choices, the number of omissions or the number of premature response (Supplemental Figure 4A, 4C and 4D and Supplemental information). We only observed a slight decrease in the number of trials in the binger rats (Supplemental Figure 4B and Supplemental information).

Effects of acute alcohol (1g/kg) on the RGT

To ensure a comparable dose of alcohol between animals, and with a sufficient amount of alcohol to induce intoxication, we evaluated the effect a single 1g/kg 20% ethanol i.p injection.

In non binger rats (Figure 3C), a two-way RM ANOVA revealed a significant effect of the option ($F_{(3,18)}=17.91$, $p<0.001$) but no effect of the treatment ($F_{(1,18)}=0.63$, ns) and no interaction between both factors ($F_{(3,18)}=1.53$, ns). The *post hoc* test revealed a marginal decrease in the percent choice of the P1 option ($p=0.089$). We also found no effect of the treatment on the distribution of the proportions of DM level (fig. 4D, $\chi^2_{(1)}=0.000$, ns). At baseline, 0, 28.6 and 71.4 exhibited PDM, neutral and GDM behaviors, respectively. After the injection, 0, 14.3 and 85.7 exhibited PDM, neutral and GDM behaviors, respectively. In regards with the binger rats (Figure 3D), a two-way RM ANOVA revealed an effect of the option ($F_{(3,21)}=7.97$, $p<0.001$), the treatment ($F_{(1,21)}=5.645$, $p<0.05$) and an interaction between both factors ($F_{(3,21)}=3.58$, $p<0.05$). The *post hoc* test revealed a marginal decrease in the percent choice of the P2 option ($p=0.089$), and a significant increase in the percent choice of the P4 option ($p<0.01$). Cohen's *d* for the P4 option revealed an effect size of 0.60, showing a moderate effect of the injection treatment. We also found no effect of the treatment on the distribution of the proportions of DM level (Figure 4D, $\chi^2_{(2)}=0.44$, ns). At baseline, 12.5, 25 and 62.5 exhibited PDM, neutral and GDM behaviors, respectively. After the injection, 25, 25 and 50 exhibited PDM, neutral and GDM behaviors, respectively. Regarding the other parameters recorded during the RGT, the treatment didn't affect advantageous choices and premature responses, but decreased the number of trials in both groups, and increased omissions only in binger rats (Supplemental Figure 5A-D and Supplemental information).

Blood Ethanol Concentrations (BEC)

BEC were obtained from a cross-group of 20 males Long-Evans rats, 15min after a 1g/kg i.g gavage or a 1g/kg 20% i.p injection of a 20% ethanol solution ($n=10$ /group).

As expected, BECs measured were significantly higher (mean of 25,5mg/dl for gavage vs mean of 115.92mg/dl, Student's *t*-test: $p<0.001$) with i.p. injection (Figure 3E).

Discussion

The aim of this study was to evaluate the integrity of the DM process in our recently characterized animal model useful to study BD behavior. Because binge drinkers may also display an increase sensitivity to the DM impairment due to acute ethanol use, we tested the effect of acute administrations of ethanol on DM in rats that were categorized as bingers and non-bingers based on previously established criterion (Jeanblanc et al. 2019a). The rat flowchart and the exclusion criteria are presented on the supplemental figure 1. We found that chronic BD did not affect the DM abilities in the RGT. Independently of the level of ethanol consumed during the operant self-administration procedure, most of them have mainly chosen the optimal option significantly associated with relatively smaller rewards but allowing larger gains on the long-term. We also found no significant differences in the percentage of advantageous choices (sum of the 2 most advantageous choices on the long term) or the distribution of the DM levels (poor, neutral and good) between bingers and non bingers. As it could be expected, the non binger group had no individual with a poor DM level. Our results suggest that chronic operant BD may not be associated with long-term DM impairments after a period a several days of abstinence, and the pattern of choice seen here is almost identical to the one observed using naïve Long Evans rats in the RGT (Zeeb et al. 2009). However, using a different protocol of gambling task, we previously showed that chronic operant BD is associated with reduced DM performance compared to control (alcohol naïve) rats (Jeanblanc et al. 2019b). The difference in these results may come from the fact that we used a different RGT protocol (Rivalan et al. 2009), that differs in both the modalities of reward and punishment for each option since we used a similar binge paradigm with similar levels of alcohol consumption. The gambling protocol used by Rivalan & al is not structured in trials and does not involve a delay for premature responses. Furthermore, while the rewards of the Rivalan's protocol are closer to those of the IGT compared to that we used here, the options are less distinguishable from each other regarding this parameter. Timeout durations are also very different and large for the disadvantageous options in the first one (up to 7min). Most importantly, the biggest

difference may come from the test setup itself as the Rivalan's protocol consists, like in the IGT, in a single test session where the rats are exposed to reward and punishment modalities for the first time. In the Zeeb's protocol used here, the animals are acquainted to those modalities and trained daily until achieving a stable choice behavior that may be more robust, less prone to exploration and more insensitive to the effects of alcohol.

Results from clinical studies on DM and BD have shown little consistency with mixed results. Some studies have associated BD and impairments of the DM abilities in IGT (Goudriaan et al. 2007, 2011; Johnson et al. 2008; Xiao et al. 2013), while others have found no effects (Bø et al. 2016; Carbia et al. 2017), suggesting that such impairments may be associated with a more severe form of alcohol consumption as seen in AUD (Kovács et al. 2017). Preclinical studies have highlighted increased risky choices after forced (Nasrallah et al. 2009, 2011; Boutros et al. 2015) and voluntary (McMurray et al. 2014, 2016) binge-like procedures in rodents, but mostly using a probability discounting task paradigm. Although the RGT may provide assessment of choice processes in a risky context, comparisons of the two procedures are difficult considering that the latter is overall a more complex protocol and is associated with punishment signals that may differentially affect DM. Using a similar RGT, Spoelder et al. showed that repeated alcohol exposure (0.6 g/kg i.p injection 15 min prior to training sessions, for 15 sessions), but only during the acquisition of the task, impaired DM performances by reducing the ability to adjust behavior on the basis of feedback, rather than making animals more risk prone (Spoelder et al. 2015). Interestingly, an increase in risky choices was observed only in a version involving larger punishments. While chronic BD did not affect choice behavior in our study, animals were exposed chronically to alcohol before learning the task, while in the Spoelder's study, they were exposed during learning. As such, alcohol may differentially affect memory processes involved in the acquisition of the task. Taken together, it seems that the effects of alcohol on DM are dependent on the structure of the task as well as the timing of exposure. In line with our suggestions regarding the effects of alcohol on a stable and robust choice behavior, the same authors only observed a modest

alteration (5-10% decrease of the optimal option) of DM after alcohol exposure in animals already trained to the task.

DM is also closely related to cognitive impulsivity, and a recent study found no effects of a forced binge-like procedure on impulsive behavior in a delay-discounting task (Mejia-Toiber et al. 2014). Likewise, comparisons between the RGT and such procedures are however limited. Indeed, it is noteworthy that most previous studies, in both humans and rodents, involved alcohol exposure during adolescence whereas our protocol starts in young adult rats.

BD intensity also did not affect motor behavior in the RGT. We found no differences in the percent of premature responses between the two groups, which are considered to be a measure of motor impulsivity in rodent (Pattij and Vanderschuren 2008). As opposed to cognitive or “choice” impulsivity, motor or “waiting” impulsivity refers to the tendency to respond before target onset (Voon 2014). A recent study found no effects of a forced binge-like procedure in mice on premature responding in a mouse procedure of IGT (Sanchez-Roige et al. 2014b). Similarly, no differences between adult rats intermittently exposed to ethanol at adolescence and controls have been observed in the 5-CSRTT (Semenova 2012). It is however suggested that interaction between alcohol and impulsivity may be dependent on the complexity and novelty of the situation, as higher motor impulsivity can be detected in the 5-CSRTT procedure with increased ITI in both humans and rodents (Oliver et al. 2009; Sanchez-Roige et al. 2014a). Since the RGT demands less attentional control than the 5-CSRTT, it is also possible that this task is less appropriate to detect such motor impulsivity deficits.

In our previous study, using a different task, we show altered DM performance of rats displaying BD behavior compared to control alcohol naïve rats (Jeanblanc et al. 2019b). Here, we did not observe any differences between binger and non-binger rats on baseline DM. However, a previous study in human social drinkers, demonstrated that administration of alcohol (0.6g/kg) impaired risky decision making (George et al. 2005). Thus, we also investigated DM in both binger and non-binger rats after acute alcohol exposure. A prior self-administration session or 1g/kg oral gavage (BECs<80 mg/dl) had no

effect on choice behavior in the RGT whatever the binge status is. It has however to be noted that overall ethanol consumption was lower in both groups during the self-administration session prior to RGT testing compared to the end of the BD procedure (0.49 vs 0.55 g/kg/15min on average for non bingers and 0.65 vs 0.93 g/kg/15min on average for bingers) On the contrary, although it did not affect the overall percent of advantageous choices or the distribution of DM level, a prior 1g/kg i.p injection (BECs>80 mg/dl) resulted exclusively in binger rats in a two-fold increase in choices of the least optimal P4 option and a tendency to decrease their percent choice of P2, while the non binger rats only showed a marginal decrease in P1, the “safest” option. Despite no statistical differences highlighted for the self-administration and gavage results, a similar pattern of choice can be distinguished as well, suggesting that the observed differences may come from the procedure itself. Indeed, BECs measured after 15min were significantly higher for the i.p injection than the oral gavage or our self-administration procedure (Jeanblanc et al. 2019b). Overall, our experiment demonstrates that acute alcohol intoxication differentially alters choice behavior in the RGT depending on BD behavior history and may reveal increased risk-taking or cognitive impulsivity in binge drinker rats. Indeed, rats with lifetime experience of BD, under alcohol intoxication will change their behavior toward the most rewarded option despite the large punishment. They are willing to get less rewards over the entire session to focus on immediate large rewards. One possible transposition to humans would be that people with a history of chronic BD may show lower control over their alcohol intake after a few drinks. In line with those results, it has been shown in humans that differences in cognitive impulsivity are not revealed at baseline between binger and alcohol naïve individuals, but appear under acute alcohol (Field et al. 2008). Likewise, differences in cognitive impulsivity were not revealed at baseline in a delay-discounting task in rodents, but after re-exposure to alcohol with age-specific effects regarding when the exposition first started (Mejia-Toiber et al. 2014).

Regarding other behavioral parameters, we observed no effect of self-administration and oral gavage outside of a marginal decrease in the number of trials. A behavioral suppressing effect on responding was observed for the 1g/kg injection, with a decrease in the number of trials and an

increase in omissions, likely due to the sedative properties of ethanol. Surprisingly, the increased omissions were specific to the binger rats, suggesting a higher sensitivity to the sedative effects, when a tolerance would be expected for the animals with a higher consumption level history. Overall, we found no effects of acute alcohol on motor impulsivity as none of the procedures affected premature responding. Multiple studies have reported a biphasic effect of acute ethanol on naïve rats in the 5-CSRTT, with no effect of low to moderate doses (0,4-1,5g/kg), and a decrease in premature responses for high doses (2-3g/kg), likely due to sedation (Bizarro et al. 2003; Oliver et al. 2009; Semenova 2012). Investigations of the effects of acute alcohol in individuals with previous alcohol history on motor impulsivity are more scarce and show no conclusive results, but it has been shown that consequences may be revealed under alcohol later in adulthood in adolescent exposed rats (Semenova 2012). As mentioned before, it is possible that we did not see any effect at baseline and under acute ethanol since alcohol does not seem to affect motor impulsivity in animals well trained to the task, and may require the introduction of novelty components (Oliver et al. 2009; Sanchez-Roige et al. 2014a). Indeed, although we reported an effect on choice behavior, it remained limited as it did not affect the overall percentage of advantageous choices in the task. Contrary to us, in the RGT, Spoelder et al. found no effects of an acute alcohol exposure on choice behavior in pre-treated adult rats during acquisition (Spoelder et al. 2015). However, they found increased premature responses and decreased omissions under the influence of alcohol, as well as a lower sensitivity to the behavioral suppressant effects of alcohol, suggesting behavioral disinhibition while we observed behavioral suppression. These discrepancies may come once again from the timing of alcohol exposure, but also the paradigm of ethanol exposure. Unlike passive exposure as used in the Spoelder's study, active administration of drugs is associated with neuroadaptations in specific cognitive processes (Jacobs et al. 2003). As such, processes involved in DM and impulse control may be differentially affected in passive versus active paradigm of alcohol administration. In line with this observation, and unlike their previous work, a recent study from Spoelder et al. found that high voluntary drinking in a two-bottle choice intermittent alcohol access, and following acute alcohol challenges (0-1.0 g/kg ip. injection 15 min prior to testing),

resulted in more optimal DM (Spoelder et al. 2017). Interestingly, alcohol consumption in high drinking rats also enhanced impulsive behavior in a reward delayed task, and enhanced cue- and reward-driven behavior in Pavlovian-conditioned approach, a result directly reminiscent of the reward seeking behavior we demonstrated under acute alcohol intoxication in our binger rats. Taken together, those results show that, albeit for different parameters, acute alcohol intoxication is associated with altered ethanol-related behavior specifically in individuals with a prior history of drinking. A last important point of discussion reside in the vulnerability to develop BD behavior, which is actively discussed in human studies when comparing social drinkers and binge drinkers (Gierski et al. 2017; Lannoy et al. 2019). Following our operant voluntary BD model, 40% of our rats passed the BD threshold of consumption we previously defined (Jeanblanc et al. 2019a). Potential sources of differences between the rats could allude to either tolerance to the effects of ethanol, or sensitivity to its effects on different functions such as DM. We however found no differences in consumption or preference for ethanol with a retrospective analysis during the IA2BC procedure (Supplemental Figure 3). One current limitation is that disentangling etiological factors and history effects is not possible in this work, and would require the use of a longitudinal approach, with measures of DM at different time points.

In conclusion, we showed that DM is not altered in our model of operant BD in rats but, like for other specific behaviors, under the influence of alcohol, BD rats showed an increase in risk-taking behavior toward large immediate rewards despite large punishment. This result may have important impact in human prevention and treatment focusing on DM processes in order to prevent the escalation of alcohol consumption after a few drinks in the context of BD. As this was not in the scope of this work, further studies should now also investigate gender and sex aspects in BD behavior, as well as differences in sensitivity to the effects of acute alcohol intoxication on DM.

Author contributions

Pierre Sauton: Investigation, Writing - Original Draft, Formal analysis **Jérôme Jeanblanc:** Conceptualization, Investigation, Writing - Original Draft, Supervision, Formal analysis **Mickael Naassila:** Conceptualization, Writing - Original Draft, Supervision, Visualization Project administration,

Figure

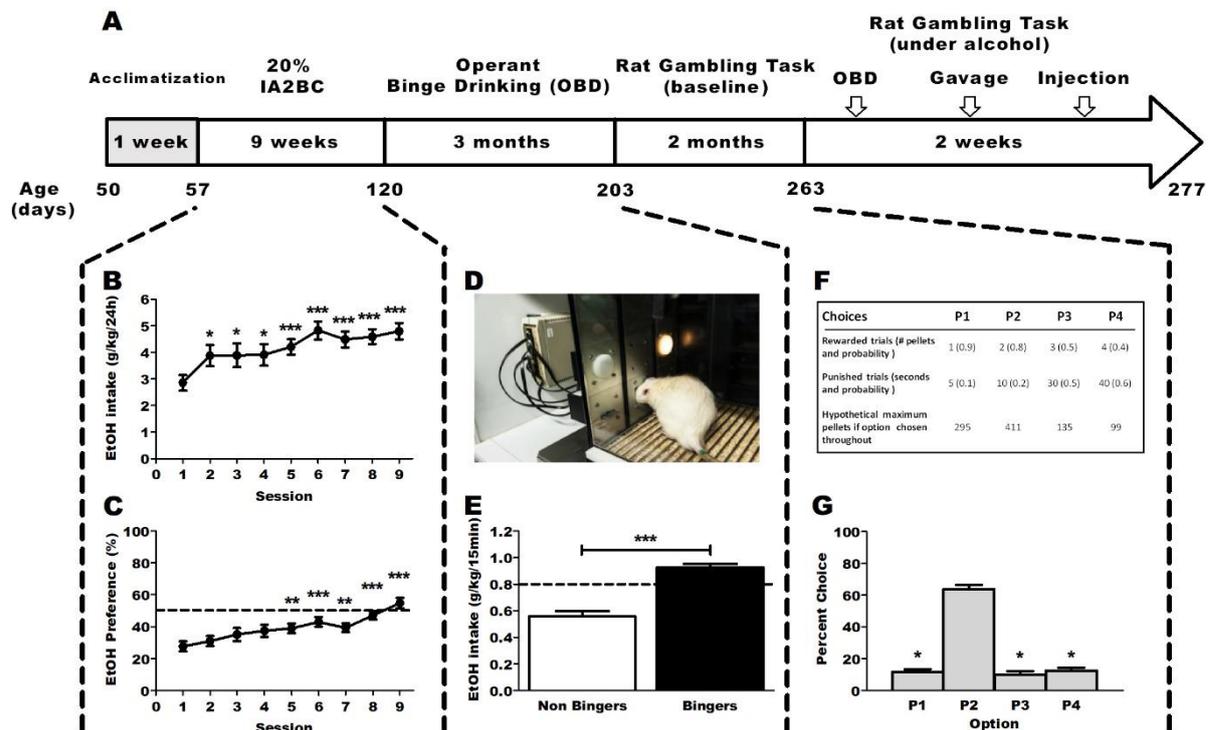


Figure 1: (A) Timeline of the study. Animals underwent a BD procedure consisting in the association of an IA2BC paradigm and 15-min FR3 self-administration sessions in operant chambers. Rats were trained and tested in the RGT to assess their DM abilities in uncertain and risky conditions. Once they displayed a stable pattern of choice, they were tested again 15 min after an acute alcohol administration, either a self-administration session, a 1g/kg oral gavage or a 1g/kg i.p injection. (B) The rats escalated their ethanol intake across the IA2BC sessions. Results are expressed as a mean \pm SEM of the ethanol intake relative to weight during the 24h sessions (g/kg/24h). * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$ versus first session. $n = 30$. (C) The rats escalated their ethanol preference across the IA2BC sessions. Results are expressed as a mean \pm SEM of the proportion of EtOH consumed over total fluid consumed. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ versus first session. $n = 30$. (D) (E) The rats were split in two groups regarding their ethanol intake during the self-administration sessions. The split was done according to the BD threshold defined in a previous work from the laboratory (Jeanblanc & al, 2018). The binger rats had a significantly higher ethanol intake than the non binger rats. Results are expressed as mean \pm SEM of the ethanol intake relative to weight during the last 5 stable 15min FR3 self-administration sessions (g/kg/15min). *** $p < 0.001$. $n = 18$ non-bingers, $n = 12$ bingers. (F) Rules associated with each options in the RGT. The P2 option was the optimal choice in the test. (G) Baseline stable choice behavior in the RGT. The rats significantly favored the optimal P2 option. Results are expressed as mean \pm SEM of the percent choice for each option. * $p < 0.05$ versus P2. $n = 27$.

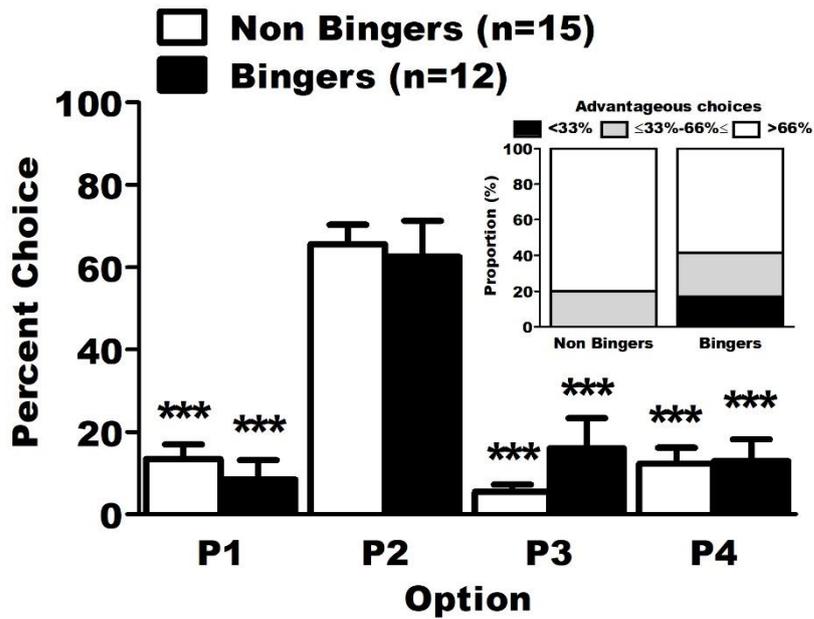


Figure 2: Baseline choice behavior during the RGT in binger and non binger rats. No differences between groups were observed, as both of them consistently showed a large preference for the optimal P2 option. Results are expressed as mean \pm SEM of the percent choice for each option. No statistically significant differences were observed in the distribution of the DM level in categories (poor, neutral and good) between binger and non binger rats. Choices made by each group are categorized as follows: less than 33% of advantageous choices (P1+P2) means poor DM (PDM) behavior; between 33 and 66% of advantageous choices, rats exhibited neutral behavior and finally more than 66% of advantageous choices is interpreted as a good DM (GDM) behavior. Results are expressed as number of rats in each categories of decision makers. * $p < 0.05$ versus P2.

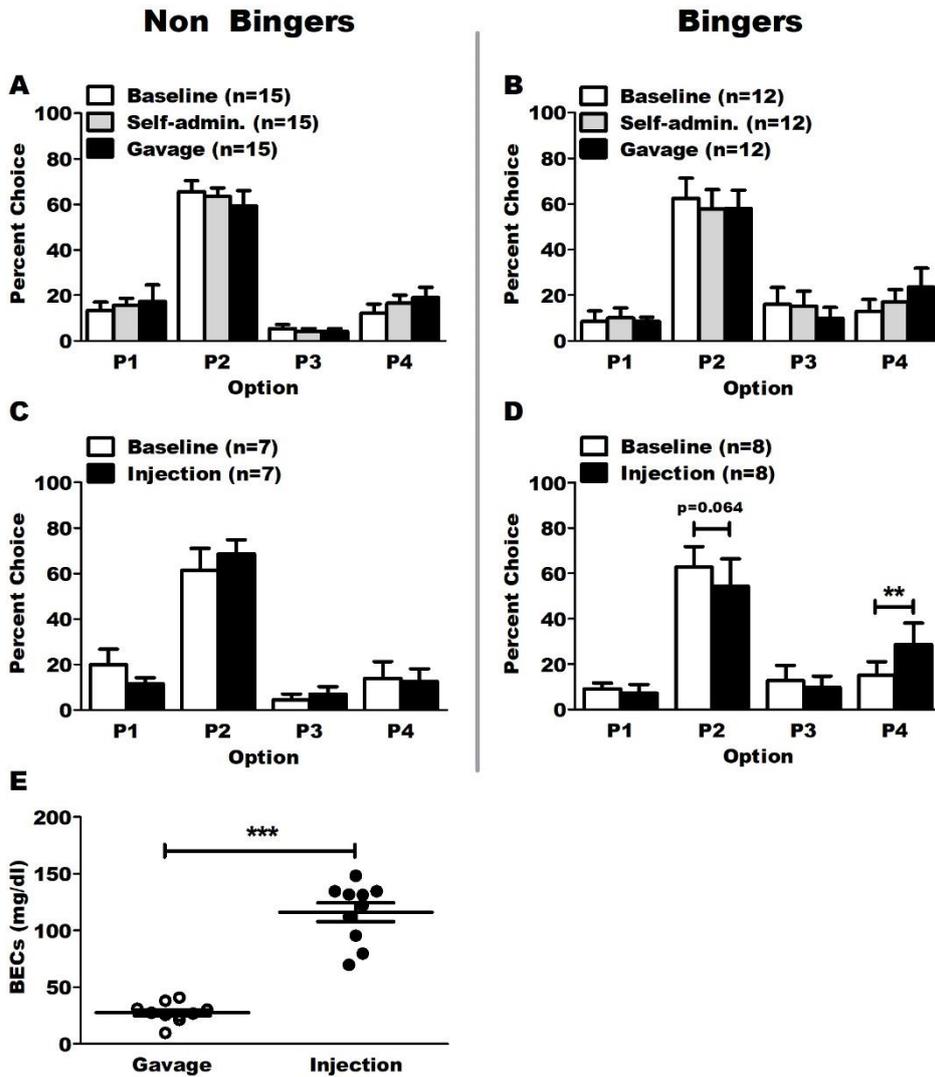


Figure 3: Effects of acute alcohol (either a single self-administration session, a 1g/kg oral gavage or a 1g/kg i.p injection of a 20% ethanol solution) on choice behavior during the RGT. (A) (B) The self-administration session and the oral gavage had no effect on choice behavior in both non binger and binger rats. Results are expressed as mean \pm SEM of the percent choice for each option. (C) The ethanol injection had a marginal effect of decreasing the percent choice of the safest P1 option in the non binger rats. (D) The ethanol injection significantly increased the percent choice of the least optimal P4 option, and had a marginal effect of decreasing the percent choice of the optimal P2 option, in the binger rats. $**P < 0.01$. (E) Blood ethanol concentration obtained in adult male Long Evans rats 15min after a 1g/kg i.g gavage or a 1g/kg 20% i.p injection of a 20% ethanol solution (n=10 in each group). The BECs obtained after an i.p injection were significantly higher than after an i.g gavage. Results are expressed as mean \pm SEM blood ethanol concentration in mg/dl. $***P < 0.001$.

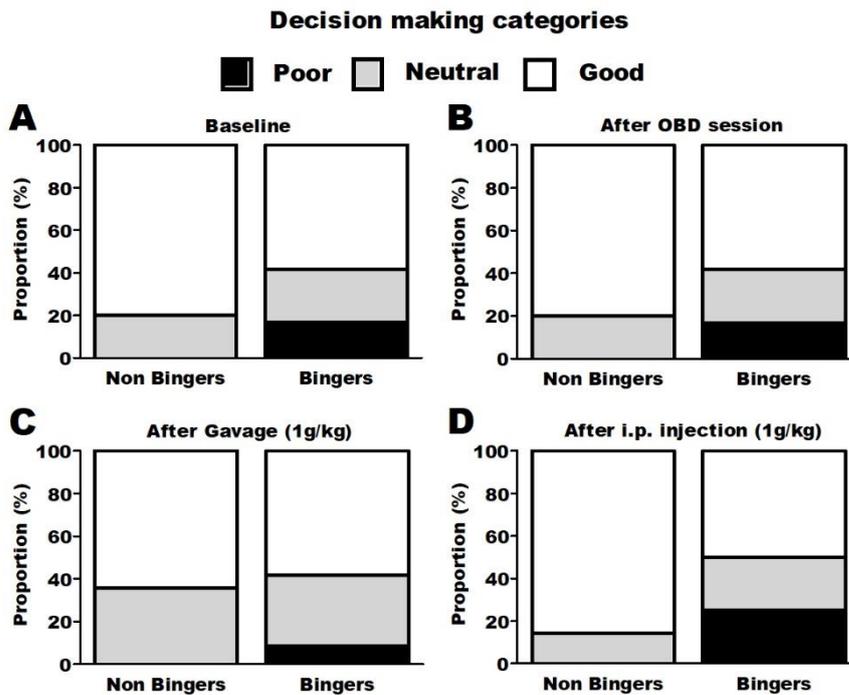


Figure 4: Distribution of the DM level in categories (poor, neutral and good) in non binger and binger rats, at baseline and after acute alcohol exposure. No statistically significant differences were observed between groups and treatments. A visual tendency for a higher number of rats with poor DM abilities can however be observed in the bingers group. Choices made by each group are categorized as follows: less than 33% of advantageous choices (P1+P2) means poor DM (PDM) behavior; between 33 and 66% of advantageous choices, rats exhibited neutral behavior and finally more than 66% of advantageous choices is interpreted as a good DM (GDM) behavior. Results are expressed as number of rats in each category of decision makers. n=12 bingers, n=18 non bingers.

References

- Bechara A, Damasio AR, Damasio H, Anderson SW (1994) Insensitivity to Future Consequences following Damage to Human Prefrontal Cortex. *Cognition* 50:7–15
- Bizarro L, Patel S, Stolerman IP (2003) Comprehensive deficits in performance of an attentional task produced by co-administering alcohol and nicotine to rats. *Drug Alcohol Depend* 72:287–295. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2003.08.004>
- Bø R, Billieux J, Landrø NI (2016) Binge drinking is characterized by decisions favoring positive and discounting negative consequences. *Addict Res Theory* 24:499–506. <https://doi.org/10.3109/16066359.2016.1174215>
- Boutros N, Semenova S, Liu W, et al (2015) Adolescent Intermittent Ethanol Exposure Is Associated with Increased Risky Choice and Decreased Dopaminergic and Cholinergic Neuron Markers in Adult Rats. 1–9. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyu003>
- Carbia C, Cadaveira F, Caamaño-isorna F, Mata F (2017) Binge Drinking Trajectory and Decision-Making during Late Adolescence : Gender and Developmental Differences. 8:1–10.

<https://doi.org/10.3389/fpsyg.2017.00783>

- de Visser L, Homberg JR, Mitsogiannis M, et al (2011) Rodent versions of the Iowa gambling task: Opportunities and challenges for the understanding of decision-making. *Front Neurosci* 5:1–21. <https://doi.org/10.3389/fnins.2011.00109>
- Deehan Jr GA, Cain ME, Kiefer SW, et al (2007) Differential rearing conditions alter operant responding for ethanol in outbred rats. *Alcohol Clin Exp Res* 31:1692–1698. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2007.00466.x>
- Fein G, Klein L, Finn P (2004) Impairment on a simulated gambling task in long-term abstinent alcoholics. *Alcohol Clin Exp Res* 28:1487–91. <https://doi.org/10.1097/01.ALC.0000141642.39065.9B>
- Field M, Schoenmakers T, Wiers RW (2008) Cognitive processes in alcohol binges: a review and research agenda. *Curr Drug Abuse Rev* 1:263–279. <https://doi.org/10.2174/1874473710801030263>
- George S, Rogers RD, Duka T (2005) The acute effect of alcohol on decision making in social drinkers. *Psychopharmacology (Berl)* 182:160–169. <https://doi.org/10.1007/s00213-005-0057-9>
- Gierski F, Benzerouk F, Wever E De, et al (2017) Cloninger 's Temperament and Character Dimensions of Personality and Binge Drinking Among College Students. 41:1970–1979. <https://doi.org/10.1111/acer.13497>
- González-Marín MC, Lebourgeois S, Jeanblanc J, et al (2018) Evaluation of alcohol use disorders pharmacotherapies in a new preclinical model of binge drinking. *Neuropharmacology* 140:14–24. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.07.015>
- Goudriaan AE, Grekin ER, Sher KJ (2007) Decision Making and Binge Drinking: A Longitudinal Study. 31:928–938. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2007.00378.x>.Decision
- Goudriaan AE, Grekin ER, Sher KJ (2011) Decision making and response inhibition as predictors of heavy alcohol use: a prospective study. *Alcohol Clin Exp Res* 35:1050–1057. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2011.01437.x>.Decision
- Goudriaan AE, Oosterlaan J, De Beurs E, Van Den Brink W (2005) Decision making in pathological gambling: A comparison between pathological gamblers, alcohol dependents, persons with Tourette syndrome, and normal controls. *Cogn Brain Res* 23:137–151. <https://doi.org/10.1016/j.cogbrainres.2005.01.017>
- Herman AM, Duka T (2019) Facets of impulsivity and alcohol use: What role do emotions play? *Neurosci Biobehav Rev* 106:202–216. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.08.011>
- Jacobs EH, Smit AB, Vries TJ De, Schoffelmeer ANM (2003) Neuroadaptive effects of active versus passive drug administration in addiction research. *Trends Pharmacol Sci* 24:566–573. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2003.09.006>
- Jeanblanc J, Rolland B, Gierski F, Martinetti MP (2019a) Animal models of binge drinking , current challenges to improve face validity. *Neurosci Biobehav Rev* 68:106:112-121. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.05.002>
- Jeanblanc J, Sauton P, Jeanblanc V, et al (2019b) Face validity of a pre-clinical model of operant binge drinking : just a question of speed. *Addict Biol* 24:664. <https://doi.org/10.1111/adb.12631>

- Johnson CA, Xiao L, Palmer P, et al (2008) Affective decision-making deficits , linked to a dysfunctional ventromedial prefrontal cortex , revealed in 10th grade Chinese adolescent binge drinkers. *46:714–726*. <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2007.09.012>
- Jones SA, Cservenka A, Nagel BJ (2016) Binge drinking impacts dorsal striatal response during decision making in adolescents. *Neuroimage 129:378–388*. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2016.01.044>
- Kornreich C, Brevers D, Ermer E, et al (2013) Polysubstance dependent patients display a more utilitarian profile in moral decision-making than alcohol-dependent patients, depressive patients and controls. *Drug Alcohol Depend 132:434–40*. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2013.03.005>
- Kovács I, Richman MJ, Janka Z, et al (2017) Decision making measured by the Iowa Gambling Task in alcohol use disorder and gambling disorder : a systematic review and meta-analysis. *Drug Alcohol Depend 181:152–161*. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2017.09.023>
- Kuntsche E, Kuntsche S, Thrul J, et al (2017) UC Office of the President Binge drinking : Health impact , prevalence , correlates and interventions. *Psychol Health 0*. <https://doi.org/10.1080/08870446.2017.1325889>
- Lannoy S, Billieux J, Dormal V, Maurage P (2019) Behavioral and cerebral impairments associated with binge drinking in youth: A critical review. *Psychol Belg 59:116–155*. <https://doi.org/10.5334/pb.476>
- Lebourgeois S, González-Marín MC, Jeanblanc J, et al (2018) Effect of N-acetylcysteine on motivation, seeking and relapse to ethanol self-administration. *Addict Biol 23:643–652*. <https://doi.org/10.1111/adb.12521>
- Lees B, Mewton L, Stapinski LA, et al (2019) Neurobiological and Cognitive Profile of Young Binge Drinkers: a Systematic Review and Meta-Analysis. *Neuropsychol. Rev. (3):357-385*
- Maurage P, Lannoy S, Mange J, et al (2020) What We Talk About When We Talk About Binge Drinking: Towards an Integrated Conceptualization and Evaluation. *Alcohol Alcohol 1–12*. <https://doi.org/10.1093/alcalc/agua041>
- McMurray MS, Amodeo LR, Roitman JD (2014) Effects of voluntary alcohol intake on risk preference and behavioral flexibility during rat adolescence. *PLoS One 41(5):1366–1375*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100697>
- McMurray MS, Amodeo LR, Roitman JD (2016) Consequences of Adolescent Ethanol Consumption on Risk Preference and Orbitofrontal Cortex Encoding of Reward. *Neuropsychopharmacology 41:1366–1375*. <https://doi.org/10.1038/npp.2015.288>
- Mejia-Toiber J, Boutros N, Markou A, Semenova S (2014) Impulsive choice and anxiety-like behavior in adult rats exposed to chronic intermittent ethanol during adolescence and adulthood. *Behav Brain Res 266:19–28*. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.02.019>
- Mitchell MR, Vokes CM, Blankenship AL, et al (2011) Effects of acute administration of nicotine, amphetamine, diazepam, morphine, and ethanol on risky decision-making in rats. *Psychopharmacology (Berl) 218:703–712*. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2363-8>
- Nasrallah NA, Clark JJ, Collins AL, et al (2011) Risk preference following adolescent alcohol use is associated with corrupted encoding of costs but not rewards by mesolimbic dopamine. *Proc*

- Natl Acad Sci 108:5466–5471. <https://doi.org/10.1073/pnas.1017732108>
- Nasrallah NA, Yang TWH, Bernstein IL (2009) Long-term risk preference and suboptimal decision making following adolescent alcohol use. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:17600–17604. <https://doi.org/10.1073/pnas.0906629106>
- Noël X, Bechara A, Dan B, et al (2007) Response Inhibition Deficit Is Involved in Poor Decision Making Under Risk in Nonamnesic Individuals With Alcoholism. *Neuropsychology* 21:778–86. <https://doi.org/10.1037/0894-4105.21.6.778>
- Oliver YP, Ripley TL, Stephens DN (2009) Ethanol effects on impulsivity in two mouse strains: Similarities to diazepam and ketamine. *Psychopharmacology (Berl)* 204:679–692. <https://doi.org/10.1007/s00213-009-1500-0>
- Pattij T, Vanderschuren LJM (2008) The neuropharmacology of impulsive behaviour. *Trends Pharmacol. Sci.* 29:192–199
- Peña-Oliver Y, Sanchez-Roige S, Stephens DN, Ripley TL (2014) Alpha-synuclein deletion decreases motor impulsivity but does not affect risky decision making in a mouse Gambling Task. *Psychopharmacology (Berl)* 231:2493–2506. <https://doi.org/10.1007/s00213-013-3416-y>
- Rivalan M, Ahmed SH, Dellu-Hagedorn F (2009) Risk-prone individuals prefer the wrong options on a rat version of the Iowa Gambling Task. *Biol Psychiatry* 66:743–749. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.04.008>
- Rolland B, Naassila M (2017) Binge Drinking: Current Diagnostic and Therapeutic Issues. *CNS Drugs* 31:181–186. <https://doi.org/10.1007/s40263-017-0413-4>
- Sanchez-Roige S, Baro V, Trick L, et al (2014a) Exaggerated waiting impulsivity associated with human binge drinking, and high alcohol consumption in mice. *Neuropsychopharmacology* 39:2919–2927. <https://doi.org/10.1038/npp.2014.151>
- Sanchez-Roige S, Peña-Oliver Y, Ripley TL, Stephens DN (2014b) Repeated Ethanol Exposure During Early and Late Adolescence: Double Dissociation of Effects on Waiting and Choice Impulsivity. *Alcohol Clin Exp Res* 38:2579–2589. <https://doi.org/10.1111/acer.12535>
- Semenova S (2012) Attention, impulsivity, and cognitive flexibility in adult male rats exposed to ethanol binge during adolescence as measured in the five-choice serial reaction time task: The effects of task and ethanol challenges. *Psychopharmacology (Berl)* 219:433–442. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2458-2>
- Spoelder M, Dourojeanni JPF, Git KCG De, et al (2017) Individual differences in voluntary alcohol intake in rats : relationship with impulsivity , decision making and Pavlovian conditioned approach. *Psychopharmacology (Berl)* 2177–2196. <https://doi.org/10.1007/s00213-017-4617-6>
- Spoelder M, Lesscher HMB, Hesselting P, et al (2015) Altered performance in a rat gambling task after acute and repeated alcohol exposure. *Psychopharmacology (Berl)* 232:3649–3662. <https://doi.org/10.1007/s00213-015-4020-0>
- Voon V (2014) Models of Impulsivity with a Focus on Waiting Impulsivity: Translational Potential for Neuropsychiatric Disorders. *Curr Addict Reports* 1:281–288. <https://doi.org/10.1007/s40429-014-0036-5>
- Xiao L, Bechara A, Gong Q, et al (2013) Abnormal affective decision making revealed in adolescent binge drinkers using a functional magnetic resonance imaging study. *Psychol Addict Behav*

27:443–54. <https://doi.org/10.1037/a0027892>

Yoo JY, Kim MS (2016) Deficits in Decision-Making and reversal learning in college students who participate in Binge drinking. *Neuropsychiatry (London)* 6:.
<https://doi.org/10.4172/Neuropsychiatry.1000156>

Zeeb FD, Robbins TW, Winstanley CA (2009) Serotonergic and Dopaminergic Modulation of Gambling Behavior as Assessed Using a Novel Rat Gambling Task. 34:2329–2343.
<https://doi.org/10.1038/npp.2009.62>

Supplementary informations

Supplementary materials and methods

Reagents

Ethanol was purchased from WWR (Prolabo, Fontenay-sous-Bois, France) and diluted into tap water at a 20% concentration (v/v). NaCl, KCl, NaH₂PO₄, MgCl₂, CaCl₂, NaHCO₃, glucose and ascorbic acid were purchased from Sigma-Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France).

Rat selection and exclusion during the study

A rat flowchart is presented on Supplemental Figure 1. After the BD procedure, the whole population of 30 male Long-Evans rats was split into two groups ('binger' and 'non-binger' rats) according to the 0.8g/kg/15 min BD threshold, as previously described (Jeanblanc et al. 2019a). 3 non-binger rats were excluded after the RGT training due to low operant responding (<20% trials launched by the end of all training sessions). 4 binger and 8 non-binger rats were excluded after the 1,5g/kg oral gavage due to sickness and/or mortality, and datas were not exploited for this dose.

Rat Gambling Task

Behavioral testing occurs in four identical operant chambers (Imetronic, Pessac, France, 28 x 30 x 34 cm) in a silent room. Each cage stands inside a dark, ventilated and sound-proof conditioning box. Cages are equipped with four nose-poke holes, dimly illuminated within the hole with a white LED.

Those holes are located on a curved wall on one side of the box, equidistant from the food magazine on the opposite wall. The two compartments are separated by a central plexiglass partition (0.5 x 29.5 x 30 cm) parallel to the wall and opened in its center (7 cm x 7 cm). Each nose-poke hole is equipped with an infrared detector connected to an external dispenser delivering food pellets (45 mg, Test Diet, Cambridge Univ., UK). Data collection is automated using the POLY software (Imetronic, Pessac, France). The test runs in two phases: the training and the test phase. During these phases the rats are moderately food restricted (95% of their normal bodyweight).

Rats are first habituated to the operant chambers over two daily 30-min sessions, during which food pellets are placed inside the nose-poke holes and the food magazine. They are then trained in sessions in which each trial begins with the animal visiting the food magazine, triggering the start of a 5s Inter-Trial-Interval (ITI). To earn a reward (1 food pellet into the food magazine), the rat has to make a nose-poke response into the single briefly (0.5 s) illuminated hole (spatial location varying randomly between each trial). A lack of response within 10 s is defined as an omission while a response during the ITI is defined as premature, both ending the trial and giving no reward. Each session lasts for 30 min and a maximum of 100 trials. Training is pursued until the rats are performing more than 80% of correct trials and less than 20% of omissions.

Rats are next trained during 7 forced-choice RGT sessions in which each nose-poke is associated with a different reward and punishment probability (P1: 1 pellet $p = 0.9$, 5s timeout $p = 0.1$; P2: 2 pellets $p = 0.8$, 10s timeout $p = 0.2$; P3: 3 pellets $p = 0.5$, 30s timeout $p = 0.5$; P4: 4 pellets $p = 0.4$, 60s timeout $p = 0.5$). The animal being rewarded consist in the delivery of the pre-set amount of food pellet (depending on the hole option), and is signaled by onset of the traylight which remains illuminated until food is collected. The animal being punished consist in a time-out period of the pre-set amount of time (depending on the hole option), during which the traylight remains off and the stimulus light within the chosen hole flashed at a frequency of 0,5 Hz. End of the time-out period is signaled by light turned on in the food magazine again.

During the forced-choice RGT sessions, only one hole is illuminated per trial, following the same chronological order (first one in the first trial, second one in the second...). This way, it is ensured that all animals have equal experience with all the four reinforcement contingencies, preventing the development of bias preference. Once the forced-choice sessions are over, rats are starting the test sessions.

Test phase consists in 30-min free-choice RGT sessions. Just like the forced-choice sessions, the animals initiate each trial by making a nose-poke response in the food magazine. This triggers the start of a 5s ITI but the stimulus lights are turned on in all of the four active holes this time. A response at one of the illuminated holes results in the offset of all the stimulus lights and either delivery of the preset amount of reward or the start of the time-out punishment period. Training is pursued until a stable pattern of choice between the four options are observed. It is advised to randomly split the animals in two groups receiving a different configuration of response outcomes in the holes to make sure there is no spatial or bias preference.

P1 and P2 options are considered as the advantageous choices, while P3 and P4 are considered as disadvantageous choices. If a rat were to choose only one option, then the greatest number of pellets possible would be with P2 (411, most optimal option), then P1 (295), P3 (135) and P4 (99, least optimal option).

Blood ethanol concentration determination

Blood ethanol concentrations were measured 15 min after either an i.p. injection or a gavage of an ethanol solution (20 % v/v). Rats received the ethanol solution (i.p. or gavage) and blood was collected under anesthesia (isoflurane 5% for the induction and 2% for the maintenance) from the sublingual vein 15 min after the administration of the drug. Blood was centrifuged upon collection and plasma was separated to be frozen immediately. Plasma samples were analyzed for ethanol levels the following day using the Analox® system.

Supplementary Results

Retrospective analysis between non binger and binger rats during the IA2BC procedure

Datas from the IA2BC procedure were analyzed in retrospective to assess for possible differences between non binger and binger rats in EtOH intake and preference (Supplemental Figure 3). Regarding EtOH intake (Supplemental Figure 3A), a two-way RM ANOVA revealed no effect of the group ($F(1,200) = 0.244$, $P = 0.626$), a significant effect of the session ($F(8,200) = 6.084$, $P < 0.001$) and no interaction between both factors ($F(8,200) = 0.333$, $P = 0.952$). Regarding EtOH preference (Supplemental Figure 3B), a two-way RM ANOVA revealed no effect of the group ($F(1,200) = 0.0427$, $P = 0.838$), a significant effect of the session ($F(8,200) = 12.609$, $P < 0.001$) and no interaction between both factors ($F(8,200) = 0.216$, $P = 0.988$).

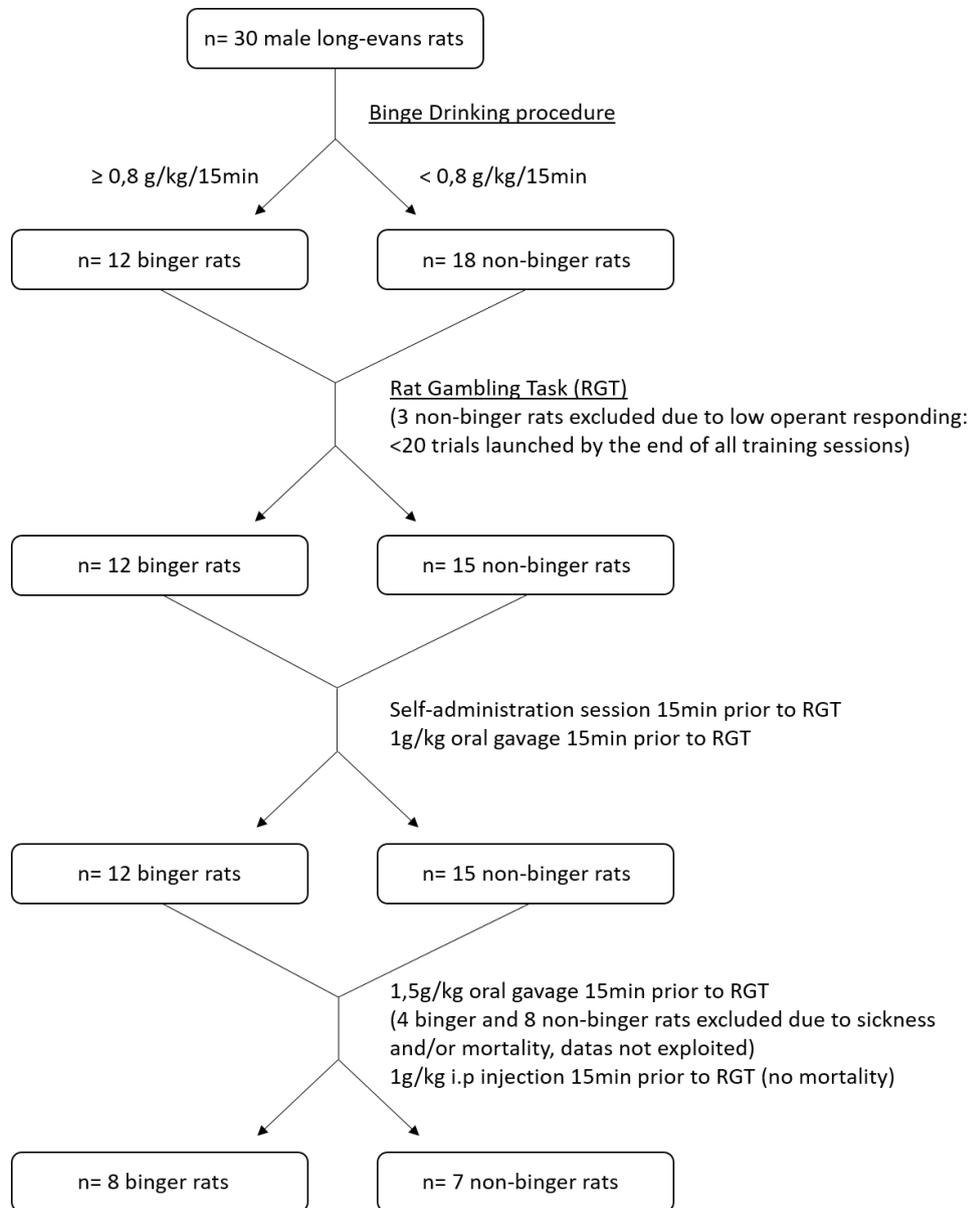
Effects of acute alcohol on other parameters in the RGT: single self-administration session or 1g/kg 20% ethanol i.g gavage

Regarding the advantageous choices (Supplemental Figure 4A), a two-way RM ANOVA revealed no effect of the group ($F(1,50) = 2.14$, $P = 0.16$) and the treatment ($F(2,50) = 0.21$, $P = 0.81$) and no interaction between both factors ($F(2,50) = 0.017$, $P = 0.98$). Regarding the number of trials (Supplemental Figure 4B), a two-way RM ANOVA revealed no effect of the group ($F(1,50) = 2.56$, $P = 0.12$) but an effect of the treatment ($F(2,50) = 3.95$, $P = 0.03$) and no interaction between both factors ($F(2,50) = 1.42$, $P = 0.25$). The post hoc test revealed a significant decrease of the number of trials in the bingers rats after gavage ($P = 0.04$). Regarding the omissions (fig. Supplemental Figure 4C), a two-way RM ANOVA revealed no effect of the group ($F(1,50) = 0.60$, $P = 0.45$) and the treatment ($F(2,50) = 2.20$, $P = 0.12$) and no interaction between the factors ($F(2,50) = 2.06$, $P = 0.14$). Finally, regarding the premature responses (Supplemental Figure 4D), a two-way RM ANOVA revealed no effect of the group ($F(1,50) = 0.006$, $P = 0.94$) and the treatment ($F(2,50) = 1.09$, $P = 0.34$). We found no interaction between these two factors ($F(2,50) = 0.80$, $P = 0.46$).

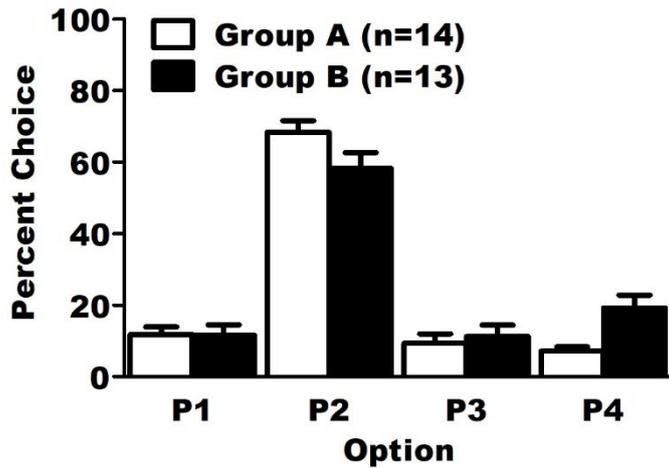
Effects of acute alcohol on the RGT : single 1g/kg 20% ethanol i.p injection

In regards with advantageous choices (Supplemental Figure 5A), a two-way RM ANOVA revealed no effect of the group ($F_{(1,13)} = 1.41$, ns) and the treatment ($F_{(1,13)} = 3.11$, ns) and no interaction between these factors ($F_{(1,13)} = 2.10$, ns). Regarding the number of trials (Supplemental Figure 5B), a two-way RM ANOVA revealed no effect of the group ($F_{(1,13)} = 0.45$, ns) but a significant effect of the treatment ($F_{(1,13)} = 7.99$, $p < 0.05$). We found no interaction between both factors ($F_{(1,13)} = 0.003$, ns). The *post hoc* test revealed a marginal decrease of the number of trials in the non bingers ($p = 0.070$) and the bingers rats ($p = 0.064$). Regarding the omissions (Supplemental Figure 5C), a two-way RM ANOVA revealed no effect of the group ($F_{(1,13)} = 1.001$, ns) but a significant effect of the treatment ($F_{(1,13)} = 10.58$, $p < 0.01$). We found no interaction between these two factors ($F_{(1,13)} = 0.75$, ns). The *post hoc* test revealed a significant increase of the omissions in the bingers rats ($p < 0.05$). Regarding the premature responses (Supplemental Figure 5D), a two-way RM ANOVA revealed no effect of the group ($F_{(1,13)} = 1.28$, ns) and the treatment ($F_{(1,13)} = 0.20$, ns) and no interaction between both factors ($F_{(1,13)} = 0.02$, ns).

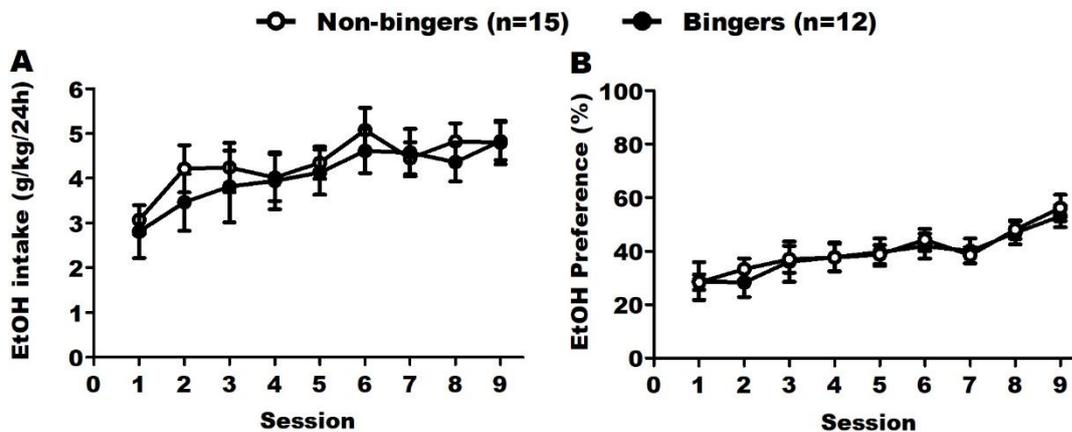
Supplementary Legends of Figures



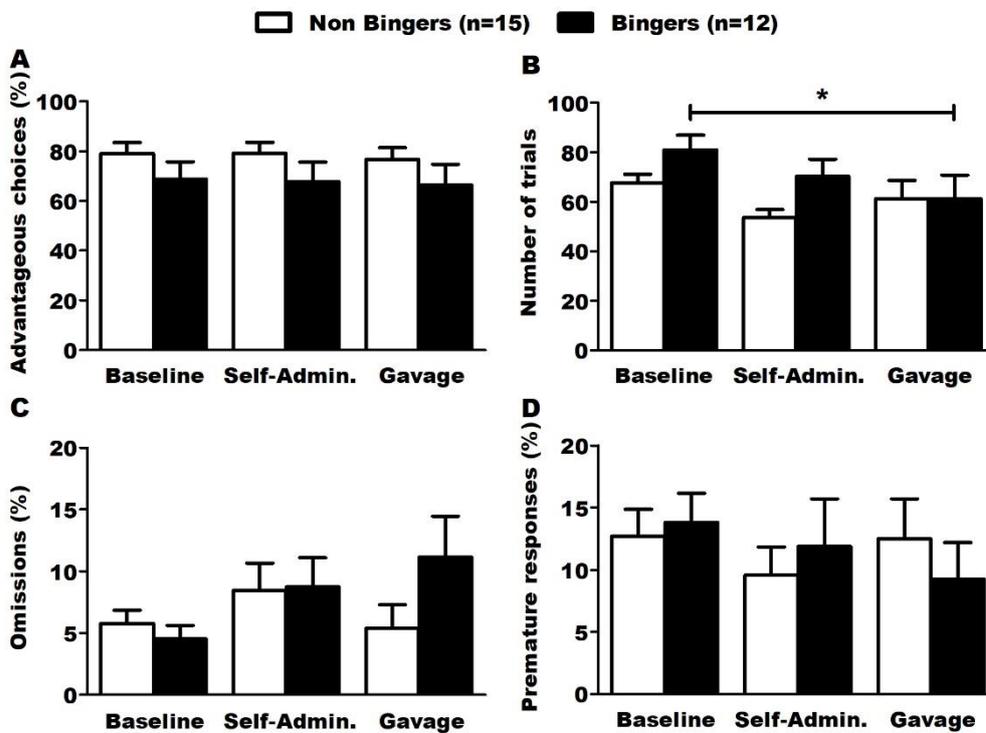
Supplemental figure 1: Flowchart of population of rats and exclusion criteria. After the BD procedure, the whole population of 30 male Long-Evans rats was split into two groups ('binger' and 'non-binger' rats) according to the 0.8g/kg/15 min BD threshold, as previously described (Jeanblanc et al. 2019a). 3 non-binger rats were excluded after the RGT training due to low operant responding (<20% trials launched by the end of all training sessions). 4 binger and 8 non-binger rats were excluded after the 1,5g/kg oral gavage due to sickness and/or mortality, and data were not exploited for this dose.



Supplemental Figure 2: To evaluate a possible spatial bias during the RGT, the rats were split into two groups with counterbalanced spatial positions for the options. No differences in choice behavior were observed, showing no spatial bias. Results are expressed as mean \pm SEM of the percent choice for each option.

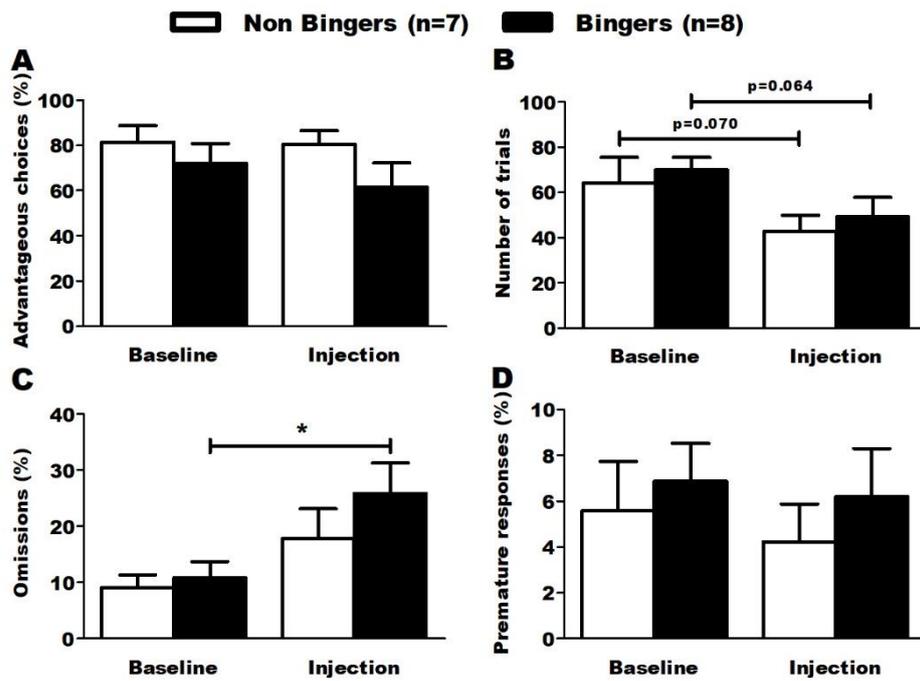


Supplemental Figure 3: Retrospective analysis of EtOH intake and preference between non bingers and bingers rats during the IA2BC procedure. (A) No differences between non bingers and bingers rats in EtOH intake during the IA2BC procedure. Results are expressed as a mean \pm SEM of the ethanol intake relative to weight during the 24h sessions (g/kg/24h). (B) No differences in EtOH preference between non bingers and bingers rats during the IA2BC procedure. Results are expressed as a mean \pm SEM of the proportion of EtOH consumed over total fluid consumed.



Supplemental Figure 4: Effects of acute alcohol, single self-administration session and 1g/kg i.g gavage of a 20% ethanol solution, on behavioral parameters during the RGT in binger and non binger rats. All results are expressed as a mean \pm SEM. (A) Number of choices in the advantageous options (P1 and P2) over the total number of choices made. Acute alcohol had no effect and no differences in advantageous choices were observed between groups.

(B) Total number of trials made. The ethanol gavage significantly decreased the number of trials made by the binger rats. (B) Proportion of omitted trials over the total number of trials made. Acute alcohol had no effect on omissions made. (C) Proportion of premature responses over the total number of trials made. Acute alcohol had no effect on the proportion of premature responses made.



Supplemental Figure 5: Effects of a 1g/kg 20% ethanol i.p injection on behavioral parameters during the RGT in the binger and non binger rats. All results are expressed as a mean \pm SEM. (A) Number of choices in the advantageous options (P1 and P2) over the total number of choices made. The ethanol injection had no effect and no differences in advantageous choices were observed between groups. (B) Total number of trials made. The ethanol injection had a marginal effect of decreasing the number of trials made by the non binger ($P=0.070$) and the binger ($P=0.064$) rats. $*P<0.05$. (C) Proportion of omitted trials over the total number of trials made. The ethanol injection significantly increased the omissions made by the binger rats. $*P<0.01$. (D) Proportion of premature responses over the total number of trials made. The ethanol injection had no effect on premature responses made.

Article 3: Longitudinal study of the effects of binge drinking on decision making and dopamine transmission in the nucleus accumbens core depending on sex

Résumé :

Au cours de cette troisième étude, nous avons cette fois-ci utilisé un *design* longitudinal. Nous avons pour objectif d'évaluer l'impact du *BD* sur les capacités de PdD (dans le protocole *RGT* de Zeeb et al.), en prenant en compte le sexe et le paradigme d'exposition. Nous avons également étudié l'implication potentielle d'adaptations dans la transmission DAergique de la partie *core* du NAcc, en condition de base et sous influence de l'alcool et/ou du quinpirole. Nous montrons que le processus de choix est dégradé spécifiquement chez le rat mâle après une administration active ou volontaire de type *binge*, mais mettons cependant en évidence une diminution du contrôle impulsif chez les deux sexes. L'historique de *binge* a ainsi affecté différemment deux composantes principales de la PdD chez le mâle et la femelle. Ces résultats comportementaux ont été associés à des modifications de la signalisation DAergique dans le *core* du Nacc, avec une altération de la sensibilité aux effets l'exposition aiguë à l'EtOH chez le mâle, et une augmentation de la sensibilité à l'inhibition relayée par le quinpirole chez la femelle. Ces changements observés pourraient impliquer en partie des adaptations dans les autorécepteurs D2/D3 chez les deux sexes. Globalement, nous démontrons que le BD affecte à la fois le processus de PdD et la signalisation DAergique dans le NAcc *core*, et ce différemment selon le sexe. Nous suggérons que ces effets pourraient jouer un rôle dans le cercle vicieux conduisant à la perpétuation du comportement de consommation nocive d'alcool et le développement précoce de l'addiction.

Longitudinal study of the effects of binge drinking on decision making and dopamine transmission in the nucleus accumbens core depending on sex

Pierre Sauton^{1, †}, Jérôme Jeanblanc^{1, †}, Elizaveta Negria¹, Fabien Gierski^{1, 2} and Mickaël Naassila^{1, *}.

* Mickaël Naassila.

¹ INSERM UMR 1247 – Research Group on Alcohol & Pharmacodependences (GRAP), Université de Picardie Jules Verne, Centre universitaire de recherche en santé, Chemin du Thil, 80025, Amiens, France

² Cognition, Health, Society Laboratory (C2S, EA6291), University of Reims Champagne Ardenne, Reims, France

Professor M. Naassila, INSERM UMR 1247 – GRAP, Université de Picardie Jules Verne, CURS, Chemin du Thil, 80025 Amiens cedex 1, Tel: +33 3 22 82 76 72; Fax: +33 3 22 82 53 99, E-mail: mickael.naassila@u-picardie.fr

Email: mickael.naassila@u-picardie.fr

M Naassila <https://orcid.org/0000-0002-9788-0918> ;

J Jeanblanc <https://orcid.org/0000-0003-0353-2777>

F Gierski <https://orcid.org/0000-0001-9168-2024>

Classification

BIOLOGICAL SCIENCES: Neuroscience

Keywords

Binge drinking, decision making, dopamine, nucleus accumbens core, sex.

Author Contributions

Author contributions: J.J and M.N. designed research; P.S. and E.N performed research; P.S., E.N and J.J. analyzed data; P.S., J.J., F. G. and M.N. wrote and edited the manuscript.

† contributed equally to the work

Competing interest statement: Authors have nothing to disclose.

Abstract

Binge drinking (BD) is a harmful behavior for health and is a predictive factor for the development of alcohol addiction. Weak decision-making capacities could play a role in vulnerability to BD which in turn would lead to decision-making (DM) impairments and thus perpetuate BD. Differences in BD vulnerability have been reported according to sex. Few longitudinal studies have attempted to understand the mechanisms underlying the interaction between DM and BD. We used two procedures to mimic binge-like alcohol intake in male and female rats, one passive exposure and one voluntary ingestion, and assessed DM capacity before binge exposure onset and after the end of the BD period. Dopaminergic transmission is well known to underly both the DM mechanisms and the rewarding effects of alcohol. Dopamine release in the core of the nucleus accumbens is a mechanism involved in both DM and rewarding effect of alcohol; and is regulated by dopamine D2/3 autoreceptors. *Ex vivo* dopamine transmission was assessed short term after the end of the binge exposure in the core of the nucleus accumbens (NAc) using the fast-scan cyclic voltammetry technique. We found that choice processes were impaired specifically in males, after either passive or active BD history, however, decrease in impulse control was highlighted in both sexes. After BD history, the enhancing effect of acute alcohol on dopamine signaling was blunted or reversed in males, and an increase in the sensitivity of quinpirole (D2/3 receptor agonist)-mediated inhibition of dopamine release was observed in females. These findings point toward a vulnerability to BD-induced DM impairments, related to impaired activating effects of alcohol on dopamine release specifically in males. Our results may inform novel strategies for therapeutic and prevention interventions.

Significance Statement

Poor decision-making may contribute to binge drinking behavior and subsequent binge drinking may further impair decision-making and thus a vicious cycle may develop over time and lead to addiction. Preclinical longitudinal studies provide unique opportunity to explore the neurobiological mechanisms underlying the impact of binge drinking behavior on decision making, taking also into account the sex influence that is not fully understood. Decision-making capacities assessed with the number of advantageous choices are impaired specifically in male rats with a history of binge drinking. This impairment was associated with a loss or even a reversal of the ability to acute alcohol to elicit dopamine release in the core of the nucleus accumbens, a key brain region involved in both decision-making and rewarding effect of alcohol.

Main Text

Introduction

Alcohol use-related morbidity and mortality is a growing global public health problem. Binge drinking (BD) behavior is particularly worrying because it is responsible for numerous brain and somatic damages and it is a risk factor of alcohol dependence [1–3]. Frequent BD between 18 and 25 years was a risk factor for alcohol dependence between 25 and 45 years (adjusted OR=2.83, 95% CI 1.10 to 7.25) [2]. Binge drinking definition has yet to find an international consensus but it is characterized by an intense but episodic alcohol consumption, with recurring alternations between intense intoxication episodes and abstinence periods [4].

Many factors have been associated with BD such as impulsivity and decision-making (DM), two hallmarks of the AUD. Impulsivity is a heterogeneous concept encompassing a variety of behaviors, and commonly described as a trait of predisposition to unplanned actions without thought for negative consequences (for review, [5]). Higher impulsivity scores have been associated with BD [6,7], and correlated with drinking episode frequency and the number of drinks per episode [8]. Impulsivity is also described as a vulnerability factor to the maintenance and intensity of BD [9]. DM refers to a fundamental cognitive process allowing us to select a particular option among several alternatives, in order to select advantageous choices over disadvantageous one in everyday life (for review, [10]). A recent meta-analysis showed a strong association between poor DM capacities using the Iowa Gambling Task (IGT) and AUD [11]. Much less is known regarding BD, and the current results from the scientific literature are scarce. Previous studies have associated high and stable BD in college students with less advantageous choices in the IGT, hypersensitivity to reward and impaired reversal learning, without correlation to

impulsivity or working memory capacities and academic school performances [12–14]. Impaired DM performances and response inhibition have also been reported as a predictor of future problematic use of alcohol [15]. Other studies have however found no relationship between BD and DM, suggesting that impairments of this cognitive function are associated with more severe forms of alcohol consumption [16,17]. Overall, most studies have shown that BD is associated with impaired impulse control and DM abilities, but the link between them is poorly understood. Weak DM capacities could play a role in vulnerability to BD, which in turn would lead to DM impairments and thus perpetuate BD. Most studies are cross-sectional and there is a clear need for further longitudinal studies. In a cross-sectional study we previously showed, using a different RGT protocol than the one used here that a history of voluntary BD is associated with associated impairments of DM abilities in male rats [18]. Improvement of preclinical models useful for the study of BD is a pressing need that also requires longitudinal studies in which control for various factors may be easier than in clinical studies [19]. Different procedures to study BD behavior in animals have been described with repeated passive exposures to alcohol [20], or more relevant models such as the one we recently described based on the “happy hour” session in which the animal has free access to 20% ethanol (EtOH) solution only during 15 min a day for several months in an operant chamber [19]. Regarding DM, preclinical tools such as the Rat Gambling Task (RGT), a rodent gambling protocol inspired from the IGT, can be used to assess both DM abilities and impulse control and can be used repeatedly in longitudinal studies [21].

Both DM and BD behaviors are influenced by sex. Findings supported the subdivision of binge drinkers according to gender and personality dimensions [22]. Sex differences in IGT performances are however poorly understood, some human studies highlighting males outperforming females in gain [23], while others found no differences [24]. It is nonetheless suggested that females may use a different choice strategy, and are more sensitive than men to punishment frequency and occasional losses in the IGT long-term advantageous decks [25]. Sex differences in DM have been demonstrated with a greater risk aversion in female rodents using the rat version of the IGT [26], and also in general risk-taking tests in rodents [27], and everyday life risk-taking in humans [28]. Thus, males seem to be more risk-prone than females and females seem to show greater risk aversion than males, manifested by their preference associated with lower punishment probability. Sex differences in decision making may be attributable in part to interactions between gonadal hormones and dopamine signaling [29]. Previous work have shown that males and females differ in their responses to dopamine manipulations that could involve basal differences in extracellular levels of dopamine, dopamine receptor levels, and/or dopamine D2/3 autoreceptor control, all of which are modulated by estradiol[29].

Performance in many if not all preclinical models of DM is sensitive to dopaminergic manipulations. Alteration of dopamine signaling in the ventral striatum is thought to be involved in the effects of BD and DM processes. Microdialysis studies have shown that acute alcohol increases tonic dopamine concentrations in the NAc [30,31] and is involved in alcohol rewarding effects (for review, [32]). Alcohol effects on phasic transmission, measured by fast scan cyclic voltammetry (FSCV), are less understood and have revealed biphasic effects on evoked phasic dopamine release in the NAc *in vivo* [33–36] and *ex-vivo* [37,38] as well as an increase in the frequency of phasic dopamine transients [39], showing the complexity of the dopamine signaling. Effects of chronic alcohol exposure and especially BD are much less investigated. Only a handful of studies assessed the consequences of a binge-like exposure on the dopamine mesolimbic system, but reveals possible impairments of the mesolimbic dopaminergic system, both at baseline and in response to alcohol, depending on age, dose and the withdrawal time [20,40–42]. Dopamine receptors have been showed to play a crucial role in both DM and alcohol reinforcing effects. One of the most studied dopamine receptor, is the D2/D3 autoreceptor because of its crucial role in the regulation of dopamine release, i.e. inhibition of release once activated. The use of dopamine D2/D3 autoreceptor antagonists has yielded conflicting results. Blockade of the D2/3 receptor has been shown to either increase risk choice in males but not females [26] or improve DM performances in the RGT enhancing the choice of the best option among 4 different ones [21], or increase risk aversion [43], or have no effect [44] or decrease high reward choice in different effort-based DM task (see [26]). On the contrary, the D2/D3 agonist bromocriptine has been shown to decrease risky DM[44]. Activation of the D2/3 autoreceptors by the administration of quinpirole reduced optimal choices specifically in female but not male rats while their blockade did not affect DM[26,45]. Increasing dopamine release by either ventral tegmental area stimulation, or blockade of the D2/3 autoreceptors is associated with increased risky choices[46]. In the same vein, the administration of a D2 receptor antagonist in pathological gamblers increased the rewarding effect of gambling and the desire to gamble[47]. In addition, regarding addiction, numerous studies have shown that a low D2/3 receptor binding is

associated with alcohol use disorder in both animals and humans (see [48]). Overall, phasic dopamine signaling in the NAc is involved in many central processes of reward and DM, and its alteration by alcohol could possibly constitute one of the main factors underlying its effects on both BD and DM capacities.

We posited that BD would decrease DM capacities associated with alteration in ventral striatum dopamine signaling and we therefore investigated changes in DM capacities using the rat gambling task before and after repeated episodes of BD. We also explored the physiology of the dopamine synapse at short term after the BD history and especially the dopamine release phenomenon and its sensitivity to the D2/3 autoreceptor agonist quinpirole. We hypothesized that DM deficits induced by BD may be associated with an increase in dopamine release that could be associated with a change in the sensitivity of the D2/3 autoreceptors. As BD and DM may be different depending on sex-related factors, both male and female rats were used. Because some studies in the addiction field suggested different mechanisms depending on the method to expose the animals to the drug, either passive (forced) or active (voluntary), we also took into account this parameter by using the two most used procedures: repeated intraperitoneal injections of alcohol and the operant self-administration procedure [18,49].

Results

A time line for the two studies based on the type of BD exposure is presented on Figure 1.

Sex differences in baseline training and testing in the RGT. The animals underwent 8 weeks of daily training in the RGT, and had to learn to nose-poke in the operant holes to earn a reward. During the first 25 sessions of training (Figure 1B left panel, Table S1), females rats increased their percentage of correct trials much more quickly than males with a significant difference from the 12th session. Thereafter, we evaluated their baseline choice behavior in the RGT on the last 3 sessions. Two male rats from the forced group were excluded for low operant responding (<20% trials launched by the end of all training sessions). Male rats significantly favored the most advantageous option (P2) and female rats significantly favored both advantageous options (P1 and P2) (Figure 1B right panel, Table S1). Females also chose the P1 option significantly more than male rats ($p < 0.005$). Distribution of poor (< 33% good choices), neutral ($\geq 33 - \leq 66\%$) and good (> 66% good choices) decision makers was different depending on sex ($\chi^2_{(2)} = 6.143$, $p < 0.05$) (Figure 1B right panel). Regarding the other RGT parameters, no sex differences were observed for advantageous choices, number of trials and premature responses, but there were more omitted trials in females (Figure S1, SI Appendix).

Binge-like exposure using forced alcohol injections impaired DM in males but not females. After the EtOH i.p injections, 3 male and 4 female rats were excluded due to sickness and/or mortality. The RGT test was done 24h after the last alcohol injection. Males significantly decreased their choices in the P2 option ($p < 0.05$) and made less advantageous choices (P1+P2) after forced binge-like exposure ($p < 0.05$) and compared with females ($p < 0.05$) (Figure 1A). No effect was observed in females (Figure 2A-C). Both sexes decreased their number of trials (Figure 2D). Males increased their number of omissions after forced binge-like exposure ($p < 0.001$) and compared with females ($p = 0.006$, Figure 2E). Both males and female made significantly less premature responses after forced EtOH ($p < 0.005$ and $p < 0.05$, respectively, Figure 2F).

Voluntary BD impaired DM in males but not females. After the self-administration procedure, one male rat was excluded from the group due to sickness. Results from the operant BD procedure are detailed in SI Appendix, Figure S3. Briefly, Escalation in both EtOH intake and preference was observed in both sexes and there was no sex difference in EtOH intake during the operant self-administration, thus ruling out the potential bias of differential EtOH intake during the 3 months of BD history. The RGT test was done 24h after the last operant session (BD sessions were maintained in between behavioral experiments). The BD history changed DM capacities with a decrease in P2 choices specifically in males but not in females ($p < 0.05$, Figure 3A-B). There were no effects on advantageous choices (P1+P2, Figure 3C) and only females displayed a small increase in their number of trials ($p < 0.05$, Figure 3D). Females made significantly more omissions than male rats before BD onset ($p < 0.001$) and they reduced their number of omissions after a voluntary BD history ($p < 0.001$, Figure 3E). Both males and

females made significantly more premature responses after voluntary BD history ($p < 0.05$ and $p < 0.001$, respectively) and this effect was more pronounced in females ($p < 0.05$, Figure 3F).

Voluntary BD history has no effects on memory and anxiety-like behavior. Voluntary BD history has no effect on both memory and anxiety-like behavior (Figure S3 and SI Appendix). Female rats showed lower anxiety-like behavior than males both before and after voluntary BD exposure.

Effects of BD history on baseline phasic dopamine signaling. We evaluated the phasic dopamine signaling induced by electrical stimulation in the core of the NAc using FSCV on brain slices, in both male and female rats, after behavioral experiments. An EtOH-naïve group of 6 male and 6 female adult rats was used to obtain control animals in FSCV. At baseline we did not observe any changes in the different dopamine signaling parameters ($[DA]_{max}$, $[DA]_p$ and V_{max} , Figure 4D, Table S2). Pharmacological treatments were tested on the slices to unravel potential changes in the sensitivity to acute EtOH (100 mM), to the D2/D3 agonist quinpirole 100 nM and to the combination (Figure 5 and Table S2 for all statistical analyses). Table S4 presents a summary of the main significant results depending on sex.

Effect of acute EtOH. In males of the control group, acute EtOH induced a 25% increase in $[DA]_{max}$ ($p < 0.001$, Figure 5A) and a 16% increase in $[DA]_p$ ($p < 0.01$, Figure 5C) and no effect on V_{max} (Figure 5E). The acute effects of EtOH are lacking in females of the control group (Figure 5B, D, F). The voluntary BD history induced an abolition to the effect of acute EtOH in males and had no effect in females. The forced BD history in males made the NAc slices sensitive to the inhibitory effect (20% decrease) of acute EtOH on both $[DA]_{max}$ and $[DA]_p$ ($p < 0.001$ and $p < 0.005$, respectively) while no effects were observed in females.

Effect of quinpirole. In general, and as expected, the D2/D3 agonist quinpirole decreased dopamine signaling and all parameters of the different groups of males ($p < 0.001$). Strikingly, this effect is lacking in the control group of females but observed after a history of exposure to BD, whether voluntary or forced.

Effect of the acute EtOH and quinpirole combination. In males of the control group, quinpirole blocked the increasing effect of acute EtOH on both $[DA]_{max}$ and $[DA]_p$ (all p 's < 0.001) and no difference was observed between quinpirole alone and the combination in females. As for quinpirole alone, the effect of the combination is also seen only after a history of exposure to BD, whether voluntary or forced.

Discussion

Poor DM may contribute to BD behavior and subsequent BD may further impair DM and thus a vicious cycle may develop over time to perpetuate BD behavior leading to AUD. Here we demonstrated that DM capacities are impaired specifically in male rats with a history of BD whether forced or voluntary. Moreover, this impairment was associated with a loss or even a reversal of the ability of acute alcohol to elicit dopamine release in the core of the NAc, a key brain region involved in both DM and the rewarding effects of alcohol. It is noteworthy that the DM impairments induced by BD were not associated with an increase in cognitive deficits or in anxiety-like behavior. BD history increased the sensitivity to the inhibitory effect of quinpirole on dopamine release in female rats thus suggesting adaptation in D2/3 receptor functioning.

Sex differences in DM capacities were seen before the onset of BD. Females were much faster in acquiring the task (reaching 80% of correct trials in the hole associated with the cue) and this could be explained by better attention skills. Female rats had significantly more omitted trials and marginally less premature responses than the males on average. The differences in omitted responses have probably limited relevancy as those were small and all the animals had an overall low percent of omissions (largely under the acceptable threshold of 20%). Those differences were observed exclusively in animals from the voluntary EtOH group, but most likely by accident as the groups were randomly assigned prior to the experiments (see Supplemental figure 1). Sex differences were also obvious regarding preferences for options. There were no poor decision makers in females. Males significantly preferred the optimal P2 option, while females preferred both P1 and P2 options without distinction. The P1 option, preferred by females, is specific to this RGT protocol and can be seen as "risk-averse", as it is associated with the lowest probability of punishment. Greater risk aversion in females has also been demonstrated using

the same task [26]. In human studies, women may use a different choice strategy, and are more sensitive than men to punishment frequency and occasional losses in the IGT long-term advantageous decks [25].

Binge drinking history whether forced or voluntary impaired choice behavior specifically in males. Forced BD history impaired both the optimal P2 option choice (50% decrease) and the overall percent of advantageous choices (P1+P2) while voluntary BD history only decreased the optimal P2 option choice (50% decrease) with no effect on the overall advantageous choices made. BD history in males made their choice behavior become 'random' (similar percent choice for each option), as they could not effectively select the advantageous options in the task anymore. Our results are in line with those showing impaired DM in conflictual and risky situations after both forced [50,51] and voluntary [52,53] binge-like procedures in male rodents. Clinical studies have also shown impairment of DM abilities in adolescent bingers [12,13,15].

Male rats did not significantly increase their choices in the more rewarding options at short term but less advantageous at long term, i.e. punishing options (P3 and P4), thus suggesting that they did not display a state or trait of hypersensitivity to reward or increased risk-taking as previously suggested in humans [13]. Instead, rats were unable to discern options for their value and adapt from feedback. We checked that this impairment was not linked to changes in anxiety-like behavior (although latency to enter the dark compartment was reduced, most likely due to retest effects, data not shown) or cognitive deficits in the LDB and NOR tests, respectively.

One of the most striking results of our study is that BD history had no effect on DM capacities in female rats. Many human studies have shown that women are more sensitive to the effects of alcohol than men, but sex-differences regarding BD remain poorly understood (for review, [54]). Some studies have found worse performances in global executive functioning and DM in male bingers [55], while others have found similar impairments in both sexes [12,17]. In the present study, it is noteworthy that before BD onset, the female group displayed more good decision makers and no poor decision makers compared with the male group. In addition, the male group also displayed a higher level of anxiety than the female group, a trait that has already been associated with poor DM [56]. Those results could suggest that good baseline DM performances are less sensitive to the effects of alcohol. In agreement with this observation, we showed in a previous study using a different RGT procedure from Rivalan et al. [57] where we compared DM abilities between control and BD rats, that alcohol could preferentially impair individuals with neutral or poor performances, while not affecting those with good performances [18]. Likewise, it has been previously shown that alcohol has very modest effects (slight reduction in the optimal choice) in well-trained animals in a similar version of the RGT used here [58]. Hence, it is possible that BD effects are dependent on baseline DM abilities and may affect less individuals with good baseline performances. On the contrary, individuals with poor DM abilities could be more vulnerable. For instance, it has been shown that rats with poor DM abilities in the RGT display extreme scores in risk taking, reward seeking, behavioral inflexibility and motor impulsivity [59], traits that have all been associated with BD [7,60]. Using a longitudinal design allowed us to assess in part the vulnerability to consume EtOH in the BD procedure, but correlation analysis revealed no significant relation between baseline DM abilities and EtOH consumption in the IA2BC and OSA procedures (Supplemental figure 5). It is however important to note that our sample size was most likely too low for such analysis to be relevant. Vulnerability studies would also require sufficient and equivalent samples of DM subgroups (good, neutral and poor), that would necessitate a significant number of rats as individuals with poor DM abilities represents a small minority in the RGT.

While the two BD procedures had a similar effect on choice behavior, they had different effects on motor behavior in the RGT. The forced procedure resulted in a global behavioral suppressing effect in both sexes, with a decrease of the number of trials and premature responses, and an increase of omissions. Such motor effects can be expected with protocols of repeated injections of high intoxicating doses of alcohol (3 g/kg), as they are associated with inflammation and stress [61]. In line with our results, no effects of forced binge-like exposures on motor impulsivity have been observed in a mouse procedure of IGT [62] or the 5-CSRTT [63]. Increased motor impulsivity has however already been reported with forced binge-like exposures in rodents, although in protocols using increased ITI times [64,65]. On the contrary, while not affecting behavioral vigor, operant BD notably increased motor impulsivity in both sexes, with an increase of premature responses. Unlike passive exposure, active administration of drugs is associated with neuroadaptations in specific cognitive processes [49]. This

could explain the differences between protocols we report here, as our animals actively engaged in an auto-administration procedure for months. While the scientific literature is lacking studies using voluntary animal models of BD, heightened motor impulsivity has previously been associated with human BD [65]. Overall, BD history, either forced or voluntary, resulted in impaired DM in male but not female rats. Even though the RGT protocol may not be the most suited tool to assess motor impulsivity, our results suggest a differential impact depending on the BD exposure paradigm. While the forced binge-like exposure seems to induce a general decrease in behavioral vigor, the voluntary BD history seems more associated with decreased impulse control.

In general, our results on dopamine transmission demonstrate that there is no sex-differences in basal condition after a BD history or not and reveal sex-dependent changes in the sensitivity to the enhancing effects of EtOH and a specific change to the inhibitory effects of quinpirole in females after a BD history.

Baseline dopamine signaling (release and uptake) was similar in both sexes in control groups (with no BD history). Our results are in line with those of a recent meta-analysis on 39 micro-dialysis studies showing that there are no sex-dependent differences in basal dopamine level within the NAc [66]. Thus, our results on basal dopamine signaling cannot explain our behavioral results showing sex-differences in baseline training and testing in the RGT, as we initially hypothesized. It is noteworthy that other studies have suggested sex-dependent differences in dopamine signaling. A previous has reported that dopamine release and uptake are greater in the caudate nucleus of female than male Sprague-Dawley rats[67]. Another study in the female rat suggested that the nigrostriatal dopamine neurotransmission is more tightly regulated by autoreceptor and transporter mechanisms, potentially linked related to a greater autoreceptor control of dopamine transporter activity [68].

A recent meta-analysis on microdialysis data from 5 studies suggested that there are no sex-difference in dopaminergic response to EtOH in the NAc [66]. However, our results show that acute alcohol enhanced dopamine signaling specifically in males and that the BD history impaired this enhancing effect of acute alcohol exposure specifically in male rats. The effects of acute EtOH exposure on $[DA]_{max}$ are similar to those seen on $[DA]_p$ but not on V_{max} in the 3 groups (control, voluntary and forced EtOH) indicating that changes in EtOH sensitivity are mainly due to D2/D3 autoreceptors and not to dopamine transporter. The enhancing effect of alcohol at baseline seen in males is blocked by quinpirole, further supporting the involvement of D2/D3 autoreceptors but also of the dopamine transporter since the V_{max} value is also decreased by quinpirole. In addition, while quinpirole reduces dopaminergic signaling in males and the history of BD has no effect, in females, it is the history of BD which induces neuro-adaptations making dopaminergic transmission (release but not the transporter since the V_{max} is unchanged) sensitive to the inhibitory effect of quinpirole. In males, the blunting effect of the BD history on the enhancing effect of acute alcohol is in line with a reward deficit syndrome, in which alcohol may be less rewarding and thus alcohol intake must be increased in order to activate the reward system. In the forced BD group, acute alcohol is even reducing dopamine signaling and may thus be associated with a negative emotional state. In the same vein, we previously showed that the forced BD exposure in adolescent male rats induced a lower c-Fos activation by acute EtOH injection (3 g/kg) of the NAc shell at adulthood [69]. The alteration of the sensitivity to acute alcohol specifically in males may suggest the involvement of other transmission systems such as the opioidergic, serotonergic and cholinergic systems[70,71].

In our study, the expected decrease of dopamine signaling induced by quinpirole is observed in males with and without BD history whereas it is observed in females only after a history of BD, suggesting that BD may change the D2/D3 receptors sensitivity to the agonist specifically in females, and with no change in the transporter activity (V_{max} unchanged except after forced EtOH and when the quinpirole + alcohol is applied to the brain slice). It seems that autoreceptors are less sensitive to quinpirole in females with no BD history. Baseline dopamine signaling was not altered in both sexes after a history of BD exposure. This result is in line with those of a recent study that used the same forced BD exposure but in adolescent male rats and showed no changes in baseline dopamine signaling using FSCV at adulthood [41]. A previous study using FSCV in female rhesus macaques showed that 1 year of daily EtOH self-administration induced a greater dopamine uptake rates and sensitivity to D2 autoreceptors in the core of the NAc, thus driving a hypodopaminergic state [72]. Altogether, these results suggest sex differences in striatal dopamine signaling and that alcohol exposure history may also differently affect release mechanisms depending upon sex-related factors. Previous findings indicate that dopamine neurotransmission is differently regulated in male and female rats. Sex-

differences in the effect of the D2 antagonist eticlopride and the D2/D3 agonist quinpirole has already been shown on choice preferences in the RGT [26]. Eticlopride decreased advantageous responding in males but not in females, whereas quinpirole decreased advantageous responding specifically in female Long Evans rats [26]. The same study showed no sex difference in the mRNA levels of the D2 receptor in the NAc [26] whereas other studies have suggested higher striatal D2 receptor density, higher level of presynaptic D2 receptor and enhanced D2 autoreceptor function in female rats [68].

Strengths, Weakness, and Implications. Examining DM capacities impairments due to BD using a longitudinal approach offers a unique opportunity for identifying the associated dopamine signaling changes and sex differences. While there is multiple gambling procedures in rodent (see [73]), we believe that the specific version used here is the most suited for a longitudinal approach, as it warrant a stable and robust behavior. However, the fact that we limited the amount of test sessions could be a contributing factor to the observed effect of alcohol on DM. Even though we performed correlation analysis (Supplemental figure 5), we were unable to demonstrate if the DM capacities can predict BD behavior in the operant self-administration procedure because of the small sample size and the impossibility to get subgroups based on DM capacities specifically in females (no poor decision makers subgroup). This point is important for considering future experiments since we observed a significant effect of sex when looking at the distribution of the DM level (poor, neutral and good). Nevertheless, and to our knowledge, our study is the first longitudinal alcohol study involving repeated DM measures in rodents. Only one human study assessed the effects of BD with multiple IGT measures, but did not observe any effect on DM abilities [17]. A common limitation of longitudinal studies are retest effects, which are difficult to avoid. While we used a different set of objects in the NOR task, we couldn't use different tests for DM and anxiety measures. Therefore, we cannot rule out retest effects in the current study. It is noteworthy that we observed impairments in both DM capacities and of dopaminergic signaling using two different procedures to expose the animal to BD in terms of type (passive vs. active), exposure length (weeks vs. months), alcohol quantity (3 g/kg vs. ~0.5g/kg) and frequency (once a day for 2 days every 2 days vs. 5 days a week). Thus, the overall difference in BD exposure raises the important question about the BD history that is also often matter of debate in human studies because it is difficult to have homogeneous population of binge drinkers with the same BD history. The reward deficit syndrome suggested by our results in male rats with a BD history is strikingly consistent with previous research on BD using the same forced procedure [69]. As we were limited in time because of the longitudinal design of our study, we decided to focus exclusively on the core part of the NAc due to its involvement in both DM [74] and the approach and treatment of motivational stimuli [75–77], since we used operant behavioral techniques. Further studies will be necessary to assess dopamine transmission in the shell part as well. More striking results are the one on the sex differences observed in both behavioral and dopamine signaling experiments. Previous research suggested that dopamine and stress system modulate sex difference in DM and this may well be the case when exploring DM and BD interactions, thus more research is warranted to deeply investigate sex difference in the AUD field in both animal and human studies.

Conclusion

This preclinical longitudinal study examined the impact of BD on DM capacities taking into account for sex and BD-exposure paradigm and assessing changes in dopamine signaling in the core of the NAc. Choice processes were impaired specifically in males, after either passive or active BD history, however, decrease in impulse control was highlighted in both sexes. Thus, the binge history differentially affected two of the main factors known to underly DM behavior in both sexes. Behavioral changes were associated with changes in the dopamine signaling in the core of the NAc with a blunting or reversal of the enhancing effect of acute alcohol in males, and an increase in the sensitivity of quinpirole-mediated inhibition of dopamine release in females but not in males. The observed changes in dopamine signaling after the binge history may involve adaptations of the D2/D3 autoreceptors in both sexes.. Overall, our study demonstrated that BD exposure affected both DM processes and dopamine signaling in the core of the NAc in a sex-related manner, further suggesting that these effects may play a role in the vicious cycle leading to BD perpetuation and the early onset of AUD and dependence. So far, clinical results on

the sex differences in the BD field of research looking at brain and cognitive deficits are still inconclusive and need more investigation.

Materials and Methods

Reagents

EtOH (96%) was purchased from WWR (Prolabo, Fontenay-sous-Bois, France) and diluted into tap water at a 20% concentration (v/v). For the injections, EtOH (96%) was diluted in saline (0,9%). NaCl, KCl, NaH₂PO₄, MgCl₂, CaCl₂, NaHCO₃, glucose, ascorbic acid and quinpirole were purchased from Sigma-Aldrich (Saint Quentin Fallavier, France).

Animals

50 Long Evans rats (25 males and 25 females) were purchased from Janvier Laboratories (Le genest-Saint-Isle, France) at the age of 8 weeks. The animals were single housed in individually ventilated cage (IVC) with food and water *ad libitum* and no enrichment. The light phase started at 7:00am for 12 hours. The experiments started one month after their arrival. Prior to all experiments, the animals were randomly assigned to either a group of alcohol forced administration (15 males and 15 females) or a group of voluntary alcohol administration (10 males and 10 females).

Ethics and study approval

Experiments were carried out in accordance to the guidelines for Care and Use of Laboratory Animals (NIH) and the E.C. regulations for animal use in research (CEE no. 86/609) and were approved by the local ethics committee (CREMEAP; no. APAFIS#2145 - 201510051547534). All efforts were made to minimize animal suffering and to reduce the number of animals used.

Binge-like exposure using a forced EtOH administration

A group of 15 males and 15 females were given intermittent EtOH i.p. injections following a protocol described [20]. The animals received a single intraperitoneal (i.p) injection of 20% (v/v) EtOH (3 g pure EtOH/kg bodyweight) once a day at the same hour for two consecutive days, followed by 2 days-off, for a total of two weeks and eight injections. Behavioral experiments were conducted 24 hours after the end of the cycle of forced EtOH administration.

Voluntary EtOH administration using an operant self-administration procedure

BD behavior was generated in a group of 10 males and 10 females with a protocol combining intermittent access to 20% EtOH in two-bottle choice procedure (IA2BC) and operant self-administration in skinner cages, as described in our previous work [18]. First, the rats had access to two bottles in their home cage, one containing tap water and the other a solution of 20% EtOH (v/v), every other day for three weeks. The bottles were placed and removed at 2:00 pm, and weighted at the end of each drinking session. Two bottles were placed in an empty cage to control for the spillage of liquid. The rats were then trained daily to self-administer EtOH (0.1 mL of a 20% EtOH solution w/v per delivery) during the operant self-administration procedure (OSA). They were first submitted to two overnight sessions of 16 hours (fixed ratio 1, FR1, between 5:00 pm and 9:00 am) followed by shorter sessions five days a week (between 2:00 pm and 5:00 pm) with the following schedule: FR1 – 1 hour for 5-7 days, FR3 – 1 hour for 5-7 days and finally FR3 – 30 minutes until reaching a stable baseline of drinking (less than 20% of variation for three consecutive sessions). The sessions were then reduced to 15 minutes until leading to a stable BD phenotype with intoxicating levels of self-administration. The number of active, inactive lever presses and rewards were recorded. Behavioral experiments were conducted 24 hours after the end of the procedure.

Anxiety, learning and memory: Light-Dark Box test (LDB) and Novel Object Recognition task (NOR)

Anxiety-like behavior and learning/memory were performed using the light dark box (LDB) and the novel object recognition (NOR) tests, respectively. Tests were carried out before and after voluntary binge drinking exposure. Procedures are detailed in the SI Appendix.

Decision-making: Rat Gambling Task (RGT)

DM was assessed using a rat gambling protocol inspired from the IGT in humans and developed by Zeeb & al [21], better suited for longitudinal studies than other available options (see [73]). The apparatus is described in the SI Appendix. The rats were first habituated to the chamber during two 30min sessions, during which food pellets were placed inside the nose-pokes holes and the food magazines. During daily training, trials started with the animal visiting the food magazine, triggering the start of a 5s Inter-Trial-Interval (ITI). Rats were first required to nose-poke into a briefly illuminated hole (0.5s, randomly varying between each trial) within 10s to earn a reward (one sugar pellet). A lack of response was recorded as an omission, while a response during the ITI was recorded as premature, both ending the ongoing trial and not giving a reward. Each session lasted for a maximum of 30min and 100 trials. Training was pursued 5 days a week until a performance criterion of more than 80% correct trials and less than 20% omissions was achieved. To ensure equal experience with all future contingencies, the rats were then trained on a forced-choice version of the RGT for 7 sessions, where each nose-poke was associated with a different reward and punishment probability. The contingencies were such that the more rewarding options were associated with higher punishment in the form of timeouts (P1: 1 pellet $p = 0.9$, 5 s timeout $p = 0.1$; P2: 2 pellets $p = 0.8$, 10 s timeout $p = 0.2$; P3: 3 pellets $p = 0.5$, 30 s timeout $p = 0.5$; P4: 4 pellets $p = 0.4$, 6 0s timeout $p = 0.5$). One hole was illuminated per trial following a chronological order, and a rewarded trial consisted in the delivery of the pre-set amount of pellets and signaled by onset of the traylight until collection of the food. Punishment consisted in a time-out window of the pre-set amount of time and signaled by the traylight remaining off and flashing of the stimulus light within the selected hole (frequency of 0.5 Hz). Training phase lasted between 3 weeks and more than a month.

Test phase. Test phase consisted in daily 30min free-choice RGT sessions. The trial design and their contingencies were the same, except that they started with the stimulus lights being turned on in all of the active holes. P1 and P2 options are considered as the advantageous choices, while P3 and P4 are considered as disadvantageous choices. If a rat chooses only one option, then the greatest number of pellets possible would be with P2 (411, most optimal option), then P1 (295), P3 (135) and P4 (99, least optimal option) [21]. The animals were split in 2 groups receiving a different configuration of response outcomes in the holes (left-right counterbalance) to ensure no spatial or bias preference. Test sessions were limited (5 to 7 sessions) to the animals only displaying a stable preference for one of the options (3 consecutive sessions with the same option preferred), in order to avoid the development of an inflexible choice behavior. Here, we purposely limited the amount of test sessions, as it has been suggested that a prolonged training can lead to a highly robust choice behavior that is difficult to pharmacologically modulate [58]. Reducing familiarity with the task also provide more face validity regarding the IGT, and is closer to a design supposed to involve both an exploratory and an exploitative phase [78].

Mesolimbic phasic dopamine transmission: Fast-Scan Cyclic Voltammetry (FSCV)

After performing the behavioral experiments (48h to 1 week), rats were euthanized and coronal slices containing the NAc were collected to measure electrically evoked dopamine transmission in the core of the NAc. Since we used operant conditioning approaches in both BD and DM procedures, we mainly focused on the NAc core as it is involved in both risky DM [74] and the treatment and motivational aspects of conditioned stimuli [75,79,80]. For all details regarding surgery and recordings, see the SI Appendix. We used a pharmacological approach to test the sensitivity to the enhancing effects of acute EtOH (100mM) on dopamine signaling and also the sensitivity to the D2/D3 receptor agonist quinpirole (100nM) which is involved in both presynaptic and post synaptic regulations. The D2/D3 receptor agonist can activate inhibitory autoreceptors, thereby inhibiting the firing of dopaminergic neurons as well as enhancing dopamine-mediated neurotransmission at post-synaptic sites.

Data analysis. All analysis of release and uptake were conducted on the concentration-versus-time traces. These traces were fit to a model describing dopamine signaling as a balance between release and uptake, using the Michaelis-Menten equation (see, [81]), with the Lvit software (Scott Ng-Evans, Electronics and Materials Engineering Shop, Seattle, WA, USA). The equation is as follow:

$$d[DA]/dt = f[DA]_p - V_{max}/((K_m/[DA]) + 1)$$

Where [DA] is the instant extracellular concentration of DA released, f is the frequency of stimulation, $[DA]_p$ is dopamine concentration released per pulse, and V_{max} and K_m are respectively the velocity and affinity constants of the dopamine transporter (DAT). K_m was fixed at a constant value of 200nM [81]. $[DA]_p$ is the reflect of the presynaptic mechanisms regulating release as those of the auto-receptors (D2/D3 activity) [82]. Peak dopamine concentration was extracted for each trace before fitting to the model in order to obtain a $[DA]_{max}$ value, reflecting maximum extracellular dopamine concentration, and was used as a parameter of dopamine release. $[DA]_p$ and V_{max} values were modulated until fitting the traces to the model, with a correlation coefficient of 0.8 or more with our experimental data, using the Lvit software.

Rat selection and exclusion during the study

A rat flowchart is presented on Supplemental Figure 1. The 50 rats (25 males and 25 females) were initially randomly assigned to a group of forced EtOH administration (15 males and 15 females) or a group of voluntary EtOH administration (10 males and 10 females). During the RGT training before EtOH administration, 2 male rats from the forced group were excluded due to low operant responding (<20% trials launched by the end of all training sessions). Results depicted in the RGT before EtOH are pooled from the two groups. After the EtOH i.p injections, 3 male rats and 4 female rats from the forced group were excluded due to sickness and/or mortality. After the operant self-administration procedure, 1 male rat was excluded from the voluntary group due to sickness. Results depicted in the article are from 10 male and 11 female rats from the forced group, and 9 male and 10 female rats from the voluntary group, that underwent all procedures without issue.

Statistical analysis

All data were presented as Means \pm standard error means (SEM). Data were analyzed (SigmaPlot 11.0, SysStat Software, Inc.) using an analysis of variance test (2-way ANOVA or 1-way ANOVA, with repeated measures or not) followed by a Tukey multiple comparison test, when a significant effect was observed for the data following a normal distribution and an equality of variances. When the data did not follow these criteria, a non-parametric analysis was performed (Friedman's test or Kruskal-Wallis test and Dunn's *post hoc* test). For single comparison, we used a Student's t-test (2-tailed) for the data following a normal distribution and an equality of variances, and a Mann-Whitney rank sum test otherwise. For proportions, we used a χ^2 test. For the correlation analysis, we used a Pearson correlation test. The significance threshold was fixed at $p < 0.05$.

Acknowledgments

We thank Prof H el ene Beaunieux and Prof Vincent Van Waes for helpful discussions about the present work.

References

1. Rolland B, Naassila M. Binge Drinking: Current Diagnostic and Therapeutic Issues. *CNS Drugs*. 2017;31:181–186.
2. Tavoracci MP, Berthon Q, Cerasuolo D, Dechelotte P, Ladner J, Baguet A. Does binge drinking between the age of 18 and 25 years predict alcohol dependence in adulthood? A retrospective case-control study in France. *BMJ Open*. 2019;9.
3. Kuntsche E, Kuntsche S, Thrul J, Gmel G, Kuntsche E, Kuntsche S, et al. UC Office of the President Binge drinking : Health impact , prevalence , correlates and interventions. *Psychol Health*. 2017:0.
4. Lannoy S, Billieux J, Dormal V, Maurage P. Behavioral and cerebral impairments associated with binge drinking in youth: A critical review. *Psychol Belg*. 2019;59:116–155.
5. Herman AM, Duka T. Facets of impulsivity and alcohol use: What role do emotions play? *Neurosci Biobehav Rev*. 2019;106:202–216.

6. Leeman RF, Hoff RA, Krishnan-Sarin S, Patock-Peckham JA, Potenza MN. Impulsivity, Sensation-Seeking and Part-Time Job Status in Relation to Substance Use and Gambling in Adolescents. *J Adolesc Heal.* 2015;54:460–466.
7. Adan A, Forero DA, Navarro JF. Personality Traits Related to Binge Drinking : A Systematic Review. *Front Psychiatry.* 2017;8:1–11.
8. Doumas DM, Miller R, Esp S. Impulsive sensation seeking , binge drinking , and alcohol-related consequences : Do protective behavioral strategies help high risk adolescents ? *Addict Behav.* 2017;64:6–12.
9. Ashenhurst JR, Harden KP, Corbin WR. Trajectories of Binge Drinking and Personality Change Across Emerging Adulthood James. *Psychol Addict Behav.* 2016;29:978–991.
10. Ernst M, Paulus MP. Neurobiology of decision making: A selective review from a neurocognitive and clinical perspective. *Biol Psychiatry.* 2005;58:597–604.
11. Kovács I, Richman MJ, Janka Z, Maraz A, Andó B. Decision making measured by the Iowa Gambling Task in alcohol use disorder and gambling disorder : a systematic review and meta-analysis. *Drug Alcohol Depend.* 2017;181:152–161.
12. Goudriaan AE, Grekin ER, Sher KJ. Decision Making and Binge Drinking: A Longitudinal Study. 2007;31:928–938.
13. Johnson CA, Xiao L, Palmer P, Sun P, Wang Q, Wei Y, et al. Affective decision-making deficits , linked to a dysfunctional ventromedial prefrontal cortex , revealed in 10th grade Chinese adolescent binge drinkers. 2008;46:714–726.
14. Yoo JY, Kim MS. Deficits in Decision-Making and reversal learning in college students who participate in Binge drinking. *Neuropsychiatry (London).* 2016;6.
15. Goudriaan AE, Grekin ER, Sher KJ. Decision making and response inhibition as predictors of heavy alcohol use: a prospective study. *Alcohol Clin Exp Res.* 2011;35:1050–1057.
16. Bø R, Billieux J, Landrø NI. Binge drinking is characterized by decisions favoring positive and discounting negative consequences. *Addict Res Theory.* 2016;24:499–506.
17. Carbia C, Cadaveira F, Caamaño-isorna F, Mata F. Binge Drinking Trajectory and Decision-Making during Late Adolescence : Gender and Developmental Differences. 2017;8:1–10.
18. Jeanblanc J, Sauton P, Jeanblanc V, Legastelois R, Echeverry-alzate V, Lebourgeois S, et al. Face validity of a pre-clinical model of operant binge drinking : just a question of speed. *Addict Biol.* 2019;24:664.
19. Jeanblanc J, Rolland B, Gierski F, Martinetti MP. Neuroscience and Biobehavioral Reviews Animal models of binge drinking , current challenges to improve face validity. *Neurosci Biobehav Rev.* 2018;68:41–12.
20. Pascual M, Boix J, Felipo V, Guerri C. Repeated alcohol administration during adolescence causes changes in the mesolimbic dopaminergic and glutamatergic systems and promotes alcohol intake in the adult rat. *J Neurochem.* 2009;108:920–931.
21. Zeeb FD, Robbins TW, Winstanley CA. Serotonergic and Dopaminergic Modulation of Gambling Behavior as Assessed Using a Novel Rat Gambling Task. 2009;34:2329–2343.
22. Gierski F, Benzerouk F, Wever E De, Duka T, Kaladjian A. Cloninger ' s Temperament and Character Dimensions of Personality and Binge Drinking Among College Students. 2017;41:1970–1979.
23. Evans KL, Hampson E. Sex differences on prefrontally-dependent cognitive tasks. *Brain Cogn.*

- 2015;93:42–53.
24. Hooper CJ, Luciana M, Conklin HM, Yarger RS. Adolescents' performance on the iowa gambling task: Implications for the development of decision making and ventromedial prefrontal cortex. *Dev Psychol.* 2004. 2004. <https://doi.org/10.1037/0012-1649.40.6.1148>.
 25. van den Bos R, Homberg J, de Visser L. A critical review of sex differences in decision-making tasks: Focus on the Iowa Gambling Task. *Behav Brain Res.* 2013;238:95–108.
 26. Georgiou P, Zanos P, Bhat S, Tracy JK, Merchenthaler IJ, McCarthy MM, et al. Dopamine and stress system modulation of sex differences in decision making. *Neuropsychopharmacology.* 2018;43:313–324.
 27. Jolles JW, Boogert NJ, van den Bos R. Sex differences in risk-taking and associative learning in rats. *R Soc Open Sci.* 2015;2.
 28. Pawlowski B, Atwal R, Dunbar RIM. Sex Differences in Everyday Risk-Taking Behavior in Humans. *Evol Psychol.* 2008;6:147470490800600.
 29. Becker JB, Hu M. Sex differences in drug abuse. *Front Neuroendocrinol.* 2008.
 30. Imperato A, Di Chiara G. Preferential stimulation of dopamine release in the nucleus accumbens of freely moving rats by EtOH. *J Pharmacol Exp Ther.* 1986;219–228.
 31. Di Chiara G, Imperato A. Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1988;85:5274–5278.
 32. Spanagel R. Alcoholism: A systems approach from molecular physiology to addictive behavior. *Physiol Rev.* 2009;89:649–705.
 33. Budygin EA, Phillips PEM, Robinson DL, Kennedy AP, Gainetdinov RR, Wightman RM. Effect of acute EtOH on striatal dopamine neurotransmission in ambulatory rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 2001;297:27–34.
 34. Robinson DL, Volz TJ, Schenk JO, Wightman RM. Acute EtOH Decreases Dopamine Transporter Velocity in Rat Striatum : In Vivo and In Vitro Electrochemical Measurements. 2005;29:746–755.
 35. Jones SR, Mathews TA, Budygin EA. Effect of moderate EtOH dose on dopamine uptake in rat nucleus accumbens in vivo. *Synapse.* 2006;60(3):251–255.
 36. Pelkonen A, Hiltunen M, Kiianmaa K, Yavich L. Stimulated dopamine overflow and alpha-synuclein expression in the nucleus accumbens core distinguish rats bred for differential EtOH preference. *J Neurochem.* 2010;114:1168–1176.
 37. Budygin EA, Phillips PE., Wightman RM, Jones SR, Wightman RM, Jones SR. Terminal effects of EtOH on dopamine dynamics in rat nucleus accumbens: An in vitro voltammetric study. *Synapse.* 2001;42:77–79.
 38. Mathews TA, John CE, Lapa GB, Budygin EA, Jones SR. No role of the dopamine transporter in acute EtOH effects on striatal dopamine dynamics. *Synapse.* 2006;60:288–294.
 39. Robinson DL, Howard EC, McConnell S, Gonzales RA, Wightman RM. Disparity between tonic and phasic EtOH-induced dopamine in the nucleus accumbens of rats. *Alcohol.* 2009;33:1187–1196.
 40. Philpot RM, Wecker L, Kirstein CL. Repeated EtOH exposure during adolescence alters the developmental trajectory of dopaminergic output from the nucleus accumbens septi. *Int J Dev Neurosci.* 2009;27:805–815.

41. Shnitko TA, Spear LP, Robinson DL, Hill C, Hill C. Adolescent binge-like alcohol alters sensitivity to acute alcohol effects on dopamine release in the nucleus accumbens of adult rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 2016;233:361–371.
42. Zandy SL, Matthews DB, Tokunaga S, Miller A, Blaha CD, Mittleman G, et al. Reduced dopamine release in the nucleus accumbens core of adult rats following adolescent binge alcohol exposure: age and dose-dependant analysis. 2016;232:777–784.
43. Onge JRS, Floresco SB. Dopaminergic Modulation of Risk-Based Decision Making. 2009:681–697.
44. Simon NW, Montgomery KS, Beas BS, Mitchell MR, LaSarge CL, Mendez IA, et al. Dopaminergic modulation of risky decision-making. *J Neurosci*. 2011. 2011. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3772-11.2011>.
45. Orsini CA, Willis ML, Gilbert RJ, Bizon JL, Setlow B. Sex differences in a rat model of risky decision making. *Behav Neurosci*. 2016;130:50–61.
46. Stopper CM, Floresco SB. Dopaminergic Circuitry and Risk/Reward Decision Making: Implications for Schizophrenia. *Schizophr Bull*. 2015;41:9–14.
47. Zack M, Poulos CX. A D2 antagonist enhances the rewarding and priming effects of a gambling episode in pathological gamblers. *Neuropsychopharmacology*. 2007. 2007. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301295>.
48. Trifilieff P, Martinez D. Imaging addiction: D2 receptors and dopamine signaling in the striatum as biomarkers for impulsivity. *Neuropharmacology*. 2014;76:498–509.
49. Jacobs EH, Smit AB, Vries TJ De, Schoffeleer ANM. Neuroadaptive effects of active versus passive drug administration in addiction research. *Trends Pharmacol Sci*. 2003;24:566–573.
50. Nasrallah NA, Clark JJ, Collins AL, Akers CA, Phillips PE, Bernstein IL. Risk preference following adolescent alcohol use is associated with corrupted encoding of costs but not rewards by mesolimbic dopamine. *Proc Natl Acad Sci*. 2011;108:5466–5471.
51. Boutros N, Semenova S, Liu W, Crews FT, Markou A. Adolescent Intermittent EtOH Exposure Is Associated with Increased Risky Choice and Decreased Dopaminergic and Cholinergic Neuron Markers in Adult Rats. 2015:1–9.
52. McMurray MS, Amodeo LR, Roitman JD. Effects of voluntary alcohol intake on risk preference and behavioral flexibility during rat adolescence. *PLoS One*. 2014;41(5):1366–1375.
53. McMurray MS, Amodeo LR, Roitman JD. Consequences of Adolescent EtOH Consumption on Risk Preference and Orbitofrontal Cortex Encoding of Reward. *Neuropsychopharmacology*. 2016;41:1366–1375.
54. Wilsnack RW, Wilsnack SC, Gmel G, Kantor LW. Gender differences in binge drinking prevalence, predictors, and consequences. *Alcohol Res Curr Rev*. 2017;39:e1–e20.
55. Parada M, Corral M, Mota N, Crego A, Rodríguez Holguín S, Cadaveira F. Executive functioning and alcohol binge drinking in university students. *Addict Behav*. 2012;37:167–172.
56. Miu AC, Heilman RM, Houser D. Anxiety impairs decision-making: Psychophysiological evidence from an Iowa Gambling Task. *Biol Psychol*. 2008. 2008. <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2007.11.010>.
57. Rivalan M, Ahmed SH, Dellu-Hagedorn F. Risk-prone individuals prefer the wrong options on a rat version of the Iowa Gambling Task. *Biol Psychiatry*. 2009;66:743–749.
58. Spoelder M, Lesscher HMB, Hesselings P, Baars AM, Lozeman-Van T Klooster JG,

- Mijnsbergen R, et al. Altered performance in a rat gambling task after acute and repeated alcohol exposure. *Psychopharmacology (Berl)*. 2015;232:3649–3662.
59. Rivalan M, Valton V, Seriès P, Marchand AR, Dellu-Hagedorn F. Elucidating poor decision-making in a rat gambling task. *PLoS One*. 2013;8.
 60. Lannoy S, Billieux J, Poncin M, Maurage P. Binging at the campus : Motivations and impulsivity in fl uence binge drinking pro fi les in university students. 2017;250:146–154.
 61. Chen MM, Palmer JL, Ippolito JA, Curtis BJ, Choudhry MA, Kovacs EJ. Intoxication by Intraperitoneal Injection or Oral Gavage Equally Potentiates Postburn Organ Damage and Inflammation. 2013;2013.
 62. Sanchez-Roige S, Peña-Oliver Y, Ripley TL, Stephens DN. Repeated EtOH Exposure During Early and Late Adolescence: Double Dissociation of Effects on Waiting and Choice Impulsivity. *Alcohol Clin Exp Res*. 2014;38:2579–2589.
 63. Semenova S. Attention, impulsivity, and cognitive flexibility in adult male rats exposed to EtOH binge during adolescence as measured in the five-choice serial reaction time task: The effects of task and EtOH challenges. *Psychopharmacology (Berl)*. 2012;219:433–442.
 64. Oliver YP, Ripley TL, Stephens DN. EtOH effects on impulsivity in two mouse strains: Similarities to diazepam and ketamine. *Psychopharmacology (Berl)*. 2009;204:679–692.
 65. Sanchez-Roige S, Baro V, Trick L, Peña-Oliver Y, Stephens DN, Duka T. Exaggerated waiting impulsivity associated with human binge drinking, and high alcohol consumption in mice. *Neuropsychopharmacology*. 2014;39:2919–2927.
 66. Egenrieder L, Mitricheva E, Spanagel R, Noori HR. No basal or drug - induced sex differences in striatal dopaminergic levels: a cluster and meta - analysis of rat microdialysis studies. *J Neurochem*. 2020;152:482–492.
 67. Walker QD, Rooney MB, Wightman RM, Kuhn CM. Dopamine release and uptake are greater in female than male rat striatum as measured by fast cyclic voltammetry. *Neuroscience*. 1999;95:1061–1070.
 68. Walker QD, Ray R, Kuhn CM. Sex differences in neurochemical effects of dopaminergic drugs in rat striatum. *Neuropsychopharmacology*. 2006;31:1193–1202.
 69. Alaux-Cantin S, Warnault V, Legastelois R, Botia B, Pierrefiche O, Vilpoux C, et al. Alcohol intoxications during adolescence increase motivation for alcohol in adult rats and induce neuroadaptations in the nucleus accumbens. *Neuropharmacology*. 2013;67.
 70. Schilaty ND, Hedges DM, Jang EY, Folsom RJ, Yorgason JT, McIntosh JM, et al. Acute EtOH inhibits dopamine release in the nucleus accumbens via alpha6 nicotinic acetylcholine receptors. *J Pharmacol Exp Ther*. 2014;349:559–567.
 71. Rose JH, Karkhanis AN, Chen R, Gioia D, Lopez MF, Becker HC, et al. Supersensitive kappa opioid receptors promotes EtOH withdrawal-related behaviors and reduce dopamine signaling in the nucleus accumbens. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2016;19:1–10.
 72. Siciliano CA, Calipari ES, Yorgason JT, Lovinger DM, Mateo Y, Jimenez VA, et al. Increased presynaptic regulation of dopamine neurotransmission in the nucleus accumbens core following chronic EtOH self-administration in female macaques. *Psychopharmacology (Berl)*. 2016;233:1435–1443.
 73. de Visser L, Homberg JR, Mitsogiannis M, Zeeb FD, Rivalan M, Fitoussi A, et al. Rodent versions of the Iowa gambling task: Opportunities and challenges for the understanding of decision-making. *Front Neurosci*. 2011;5:1–21.

74. Sugam JA, Day JJ, Wightman RM, Carelli RM. Phasic nucleus accumbens dopamine encodes risk-based decision-making behavior. *Nano*. 2012;6:2166–2171.
75. Cardinal RN, Cheung THC. Nucleus accumbens core lesions retard instrumental learning and performance with delayed reinforcement in the rat. *BMC Neurosci*. 2005;6:9.
76. Day JJ, Jones JL, Wightman RM, Carelli RM. Phasic nucleus accumbens dopamine release encodes effort- and delay-related costs. *Biol Psychiatry*. 2010;68:306–309.
77. Dreyer JK, Vander Weele CM, Lovic V, Aragona BJ, Dreyer XJK, Weele CM Vander, et al. Functionally Distinct Dopamine Signals in Nucleus Accumbens Core and Shell in the Freely Moving Rat. *J Neurosci*. 2016;36:98–112.
78. Buelow MT, Suhr JA. Construct validity of the Iowa gambling task. *Neuropsychol Rev*. 2009;19:102–114.
79. Parkinson JA, Olmstead MC, Burns LH, Robbins TW, Everitt BJ. Dissociation in effects of lesions of the nucleus accumbens core and shell on appetitive Pavlovian approach behavior and the potentiation of conditioned reinforcement and locomotor activity by D-amphetamine. *J Neurosci*. 1999;19:2401–2411.
80. Hernandez PJ, Sadeghian K, Kelley AE. Early consolidation of instrumental learning requires protein synthesis in the nucleus accumbens. *Nat Neurosci*. 2002;5:1327–1331.
81. Wu Q, Reith MEA, Wightman RM, Kawagoe KT, Garris PA. Determination of release and uptake parameters from electrically evoked dopamine dynamics measured by real-time voltammetry. *J Neurosci Methods*. 2001;112:119–133.
82. Kennedy RT, Jones SR, Wightman RM. Dynamic Observation of Dopamine Autoreceptor Effects in Rat Striatal Slices. *J Neurochem*. 1992;59:449–455.

Tables and figures

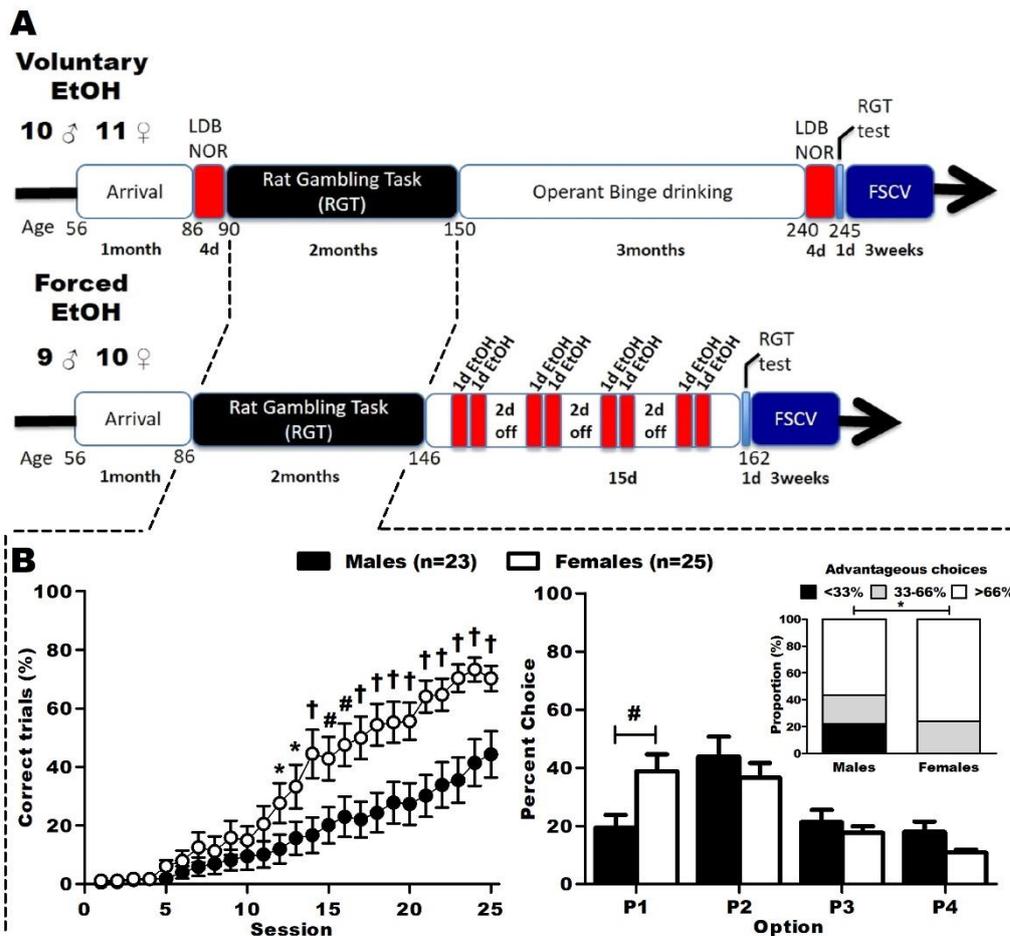


Figure 1. (A) Timeline of the longitudinal studies with voluntary and forced EtOH. Animals were tested in DM capacities, both before and after a forced EtOH binge-like procedure. Animals from the voluntary study were also tested in anxiety and learning. At the end of the behavioral experiments, animals from both studies were sacrificed to assess mesolimbic phasic dopamine transmission in the core of the NAc, using *ex vivo* FSCV. (B) Left panel: correct trials during the first phase of RGT training. The female rats learned significantly faster and had significantly more correct trials than the male rats during the RGT training. Results are expressed as mean \pm SEM of the proportion of correct trials over the total number of trials during training sessions. * $p < 0.05$, # $p < 0.01$, † $p < 0.001$ versus males. Right panel: Choice behavior in the baseline session of RGT in rats from both longitudinal studies, and distribution of the DM level in categories (poor < 33%, neutral 33-66% and good > 66%). The male rats favored the optimal P2 option, while the female rats favored both P1 and P2. The male group had significantly more individuals with a poor DM level than the female group. Results are expressed as mean \pm SEM of the percent choice for each option, and as number of rats in each categories of decision makers. # $p < 0.01$, * $p < 0.05$.

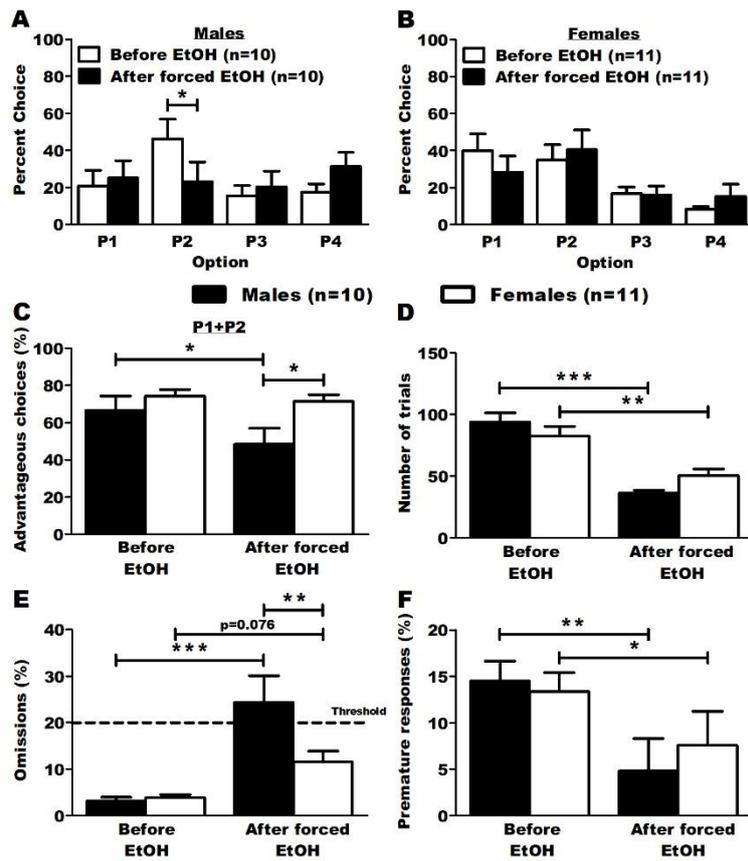


Figure 2. Choice behavior and other parameters in the RGT during the first longitudinal study, before and after forced EtOH. (A) Male rats chose the optimal option P2 significantly less after forced EtOH. Results are expressed as mean \pm SEM of the percent choice of each option. * $p < 0.05$. (B) Forced EtOH didn't affect choice behavior in female rats. Results are expressed as mean \pm SEM of the percent choice of each option. (C) Male rats made less advantageous choices (P1+P2) after forced EtOH, with overall less advantageous choices than the female rats. Results are expressed as mean \pm SEM of the proportion of advantageous choices over the total number of choices. (D) Forced EtOH decreased the number of trials in both male and female rats. Results are expressed as mean \pm SEM of the total number of trials made. (E) Forced EtOH increased omissions in both male and female rats. The male rats omitted more trials than the female rats after forced EtOH. The dot line represents the threshold of allowed omitted responses for the animals during baseline test sessions. Results are expressed as mean \pm SEM of the proportion of omitted trials over the total number of trials. (F) Forced EtOH decreased the proportion of premature responses in both male and female rats. Results are expressed as mean \pm SEM of the proportion of premature responses over the total number of trials. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

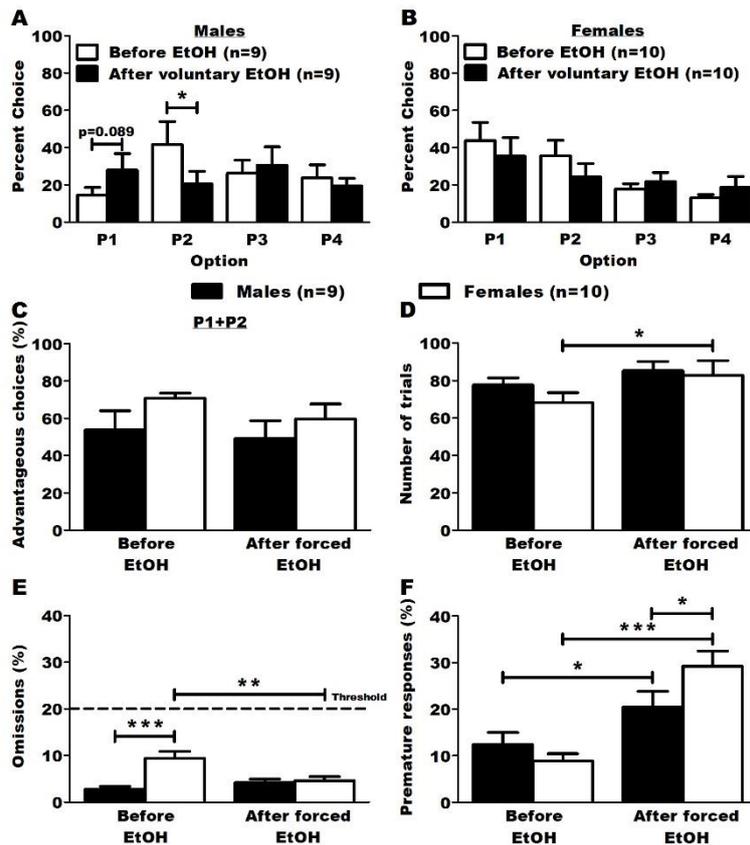


Figure 3. Choice behavior and other parameters in the RGT during the second longitudinal study, before and after voluntary EtOH. (A) Male rats chose the optimal option P2 significantly less after voluntary EtOH. Results are expressed as mean \pm SEM of the percent choice of each option. (B) Voluntary EtOH did not affect choice behavior in female rats. Results are expressed as mean \pm SEM of the percent choice of each option. (C) Voluntary EtOH did not affect the proportion of advantageous choices (P1+P2) in both males and female rats. Results are expressed as mean \pm SEM of the proportion of advantageous choices over the total number of choices. (D) Voluntary EtOH increased the number of trials in female rats. Results are expressed as mean \pm SEM of the total number of trials made. (E) Voluntary EtOH decreased omissions in female rats. The dot line represents the threshold of allowed omitted responses for the animals during baseline test sessions. The male rats omitted more trials than the female rats before voluntary EtOH. Results are expressed as mean \pm SEM of the proportion of omitted trials over the total number of trials. (F) Voluntary EtOH increased the proportion of premature responses in both male and female rats. The female rats made more premature responses than the male rats after voluntary EtOH. Results are expressed as mean \pm SEM of the proportion of premature responses over the total number of trials. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

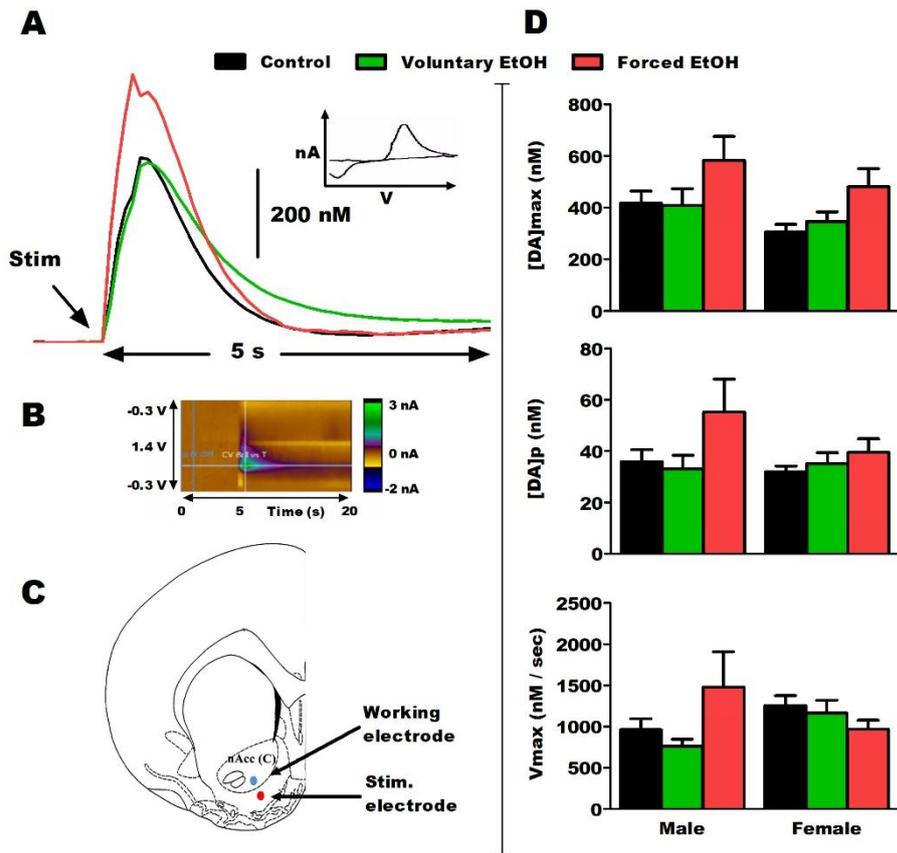


Figure 4. Baseline *ex-vivo* FSCV results in male and female rats from both longitudinal studies. Control: n = 6 males and n = 6 females, Voluntary EtOH: n = 8 males and n = 7 females, Forced EtOH: n = 5 males and n = 10 females. (A) FSCV traces for each group, and characteristic voltammogram of dopamine. (B) Example of color plot for a control male rat during the FSCV recordings. (C) Electrode placements for the FSCV recordings in the core of the NAc (D) Top panel: no differences in baseline $[DA]_{max}$ between groups in male and female rats. Results are expressed as mean \pm SEM of the maximum extracellular $[DA]$, in nM. Middle panel: no differences in baseline $[DA]_p$ between groups in male and female rats. Results are expressed as mean \pm SEM of the $[DA]$ per pulse of stimulation, in nM. Bottom panel: no differences in baseline V_{max} between groups in male and female rats. Results are expressed as mean \pm SEM of the dopamine transporter velocity, in nM/sec.

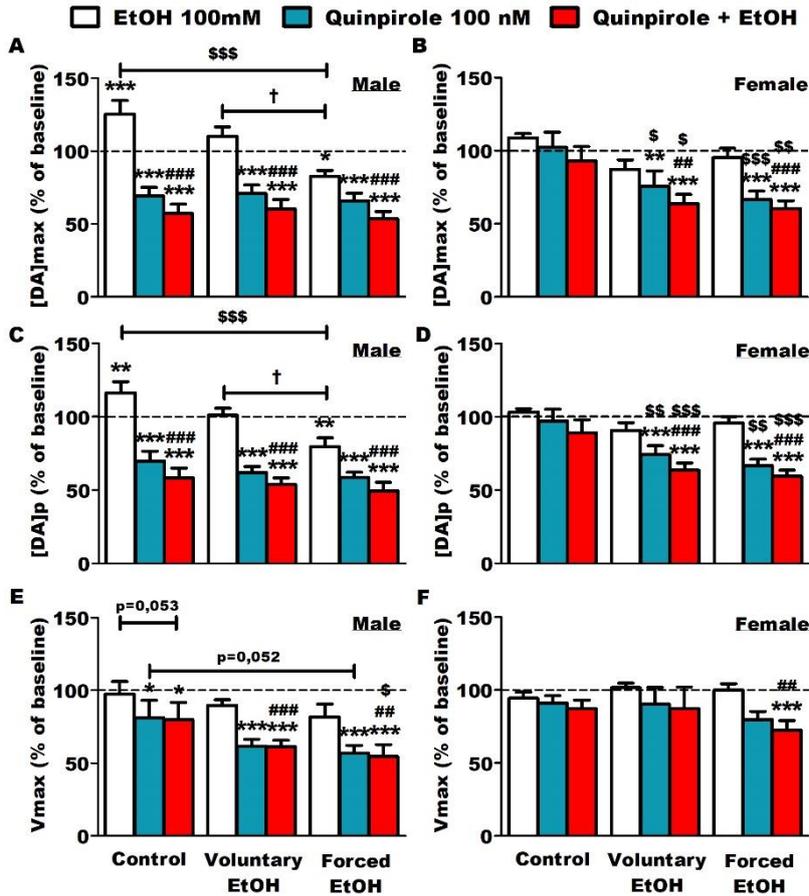


Figure 5. *Ex-vivo* FSCV results for pharmacology in male and female rats from both longitudinal studies. Control: n = 6 males and n = 6 females, Voluntary EtOH: n = 8 males and n = 7 females, Forced EtOH: n = 5 males and n = 10 females. (A)(B) Results for [DA]_{max} in male and female rats. Results are expressed as mean ± SEM of the maximum extracellular [DA], in percent of baseline. (C)(D) Results for [DA]_p in male and female rats. Results are expressed as mean ± SEM of the [DA] per pulse of stimulation, in percent of baseline. (E)(F) Results for V_{max} in male and female rats. Results are expressed as mean ± SEM of the dopamine transporter velocity, in percent of baseline. * p < 0.05, ** p < 0.01, *** p < 0.001 vs baseline. ## p < 0.01, ### p < 0.001 vs EtOH 100m M. \$ p < 0.05, \$\$ p < 0.01, \$\$\$ p < 0.001 vs Control. † p < 0.05 vs Forced EtOH.

Supplementary Appendix

Supplementary tables and figures

<u>Choices</u>	<u>P1</u>	<u>P2</u>	<u>P3</u>	<u>P4</u>
Reward trials (# pellets and probability)	1 (0.9)	2 (0.8)	3 (0.5)	4 (0.4)
Punished trials (seconds and probability)	5 (0.1)	10 (0.2)	30 (0.5)	40 (0.6)
Hypothetical maximum pellets if option chosen throughout	295	411	135	99

Table S1. Modalities of reward and punishment in the RGT. Advantageous choices (P1 and P2) are associated with low immediate reward but also low probability of punishment, while disadvantageous choices (P3 and P4) are associated with high immediate reward but also high probability of punishment. If a rat were to choose only one option, then the greatest number of pellets possible would be with P2 (411, most optimal option), then P1 (295), P3 (135) and P4 (99, least optimal option).

Figure number	Factor name	F or H values	p-value
Figure 1C. Sex differences in baseline RGT (% correct trials) 2way RM-ANOVA	Sex Session Sex x Session	$F_{1,1152}=9.114$ $F_{24,1152}=50.974$ $F_{24,1152}=5.396$	p=0.004 p<0.001 p<0.001
Figure 1D. Sex differences in baseline RGT (% choice) 2way RM-ANOVA	Sex Option Sex x Option	$F_{1,138}=0.339$ $F_{3,138}=9.753$ $F_{3,138}=3.124$	p=0.563 p<0.001 p=0.028
Figure 2A. RGT test after forced BD exposure Males 2way RM-ANOVA	Treatment Option Treatment x Option	$F_{1,27}=6.000$ $F_{3,27}=0.736$ $F_{3,27}=2.406$	p=0.037 p=0.539 p=0.089
Figure 2B. RGT test after forced BD exposure Females 2way RM-ANOVA	Treatment Option Treatment x Option	$F_{1,30}=7.405E-023$ $F_{3,30}=4.416$ $F_{3,30}=0.352$	p=1.000 p=0.011 p=0.788
Figure 2C. RGT test after forced BD exposure Advantageous choices P1+P2 2way RM-ANOVA	Sex Treatment Sex x Treatment	$F_{1,19}=4.308$ $F_{1,19}=4.971$ $F_{1,19}=2.691$	p=0.052 p=0.038 p=0.117
Figure 2D. RGT test after forced BD exposure Number of trials 2way RM-ANOVA	Sex Treatment Sex x Treatment	$F_{1,19}=0.0411$ $F_{1,19}=56.079$ $F_{1,19}=4.476$	p=0.842 p<0.001 p=0.048
Figure 2E. RGT test after forced BD exposure Number of omissions 2way RM-ANOVA	Sex Treatment Sex x Treatment	$F_{1,19}=3.579$ $F_{1,19}=23.785$ $F_{1,19}=5.236$	p=0.074 p<0.001 p=0.034
Figure 2F. RGT test after forced BD exposure Premature responses 2way RM-ANOVA	Sex Treatment Sex x Treatment	$F_{1,19}=0.0483$ $F_{1,19}=17.647$ $F_{1,19}=1.094$	p=0.828 p<0.001 p=0.309
Figure 3A. RGT test after voluntary BD exposure Males 2way RM-ANOVA	Treatment Option Treatment x Option	$F_{1,24}=26.761$ $F_{3,24}=0.390$ $F_{3,24}=2.694$	p<0.001 p=0.761 p=0.069
Figure 3B. RGT test after voluntary BD exposure Females 2way RM-ANOVA	Treatment Option Treatment x Option	$F_{1,27}=3.006$ $F_{3,27}=2.363$ $F_{3,27}=1.314$	p=0.117 p=0.093 p=0.290
Figure 3C. RGT test after voluntary BD exposure Advantageous choices P1+P2 2way RM-ANOVA	Sex Treatment Sex x Treatment	$F_{1,17}=1.902$ $F_{1,17}=2.170$ $F_{1,17}=0.380$	p=0.186 p=0.159 p=0.546
Figure 3D. RGT test after voluntary BD exposure Number of trials 2way RM-ANOVA	Sex Treatment Sex x Treatment	$F_{1,17}=0.725$ $F_{1,17}=6.484$ $F_{1,17}=0.643$	p=0.406 p=0.021 p=0.434
Figure 3E. RGT test after voluntary BD exposure Number of omissions 2way RM-ANOVA	Sex Treatment Sex x Treatment	$F_{1,17}=9.378$ $F_{1,17}=3.722$ $F_{1,17}=12.657$	p=0.007 p=0.071 p=0.002
Figure 3F. RGT test after voluntary BD exposure Premature responses 2way RM-ANOVA	Sex Treatment Sex x Treatment	$F_{1,17}=0.824$ $F_{1,17}=30.164$ $F_{1,17}=5.697$	p=0.377 p<0.001 p=0.029

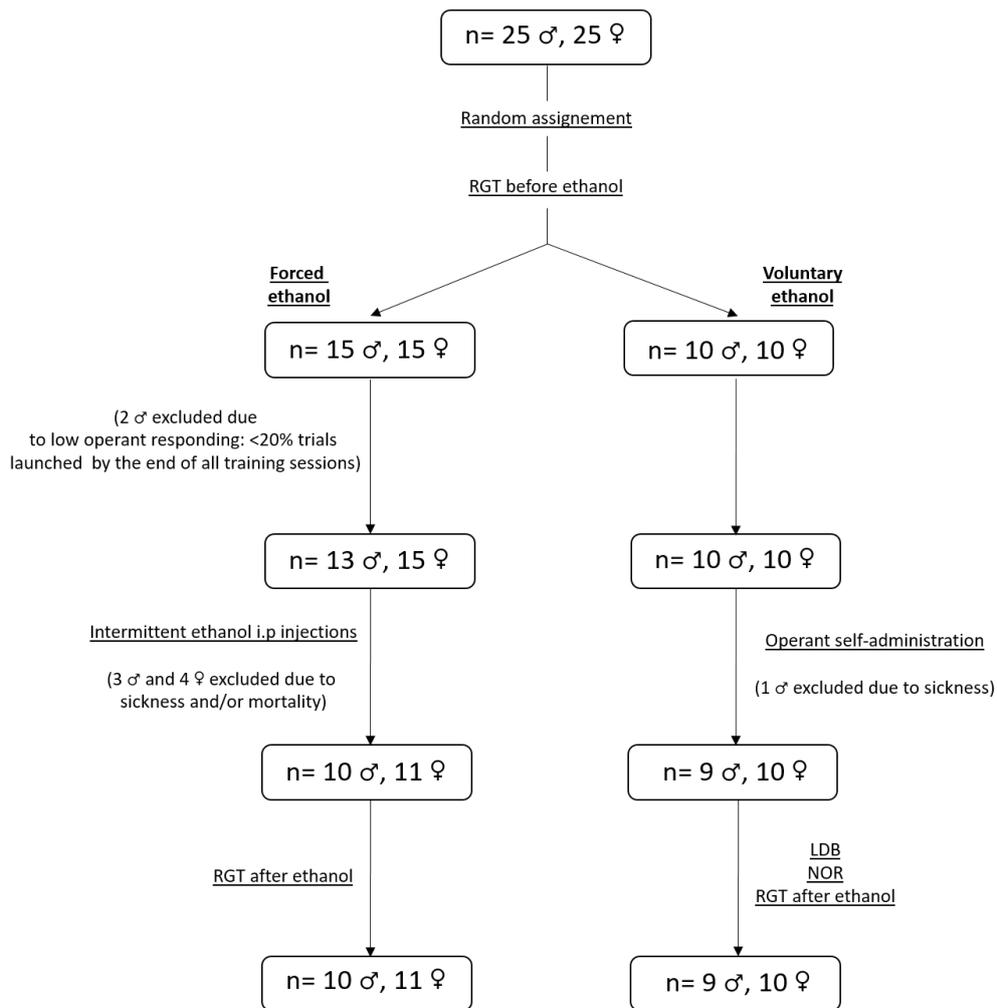
Table S2. Statistical analysis of the behavioral data.

Figure number	Factor name	F values	p-value
Figure 4X. FSCV baseline [DA]max 1way ANOVA or Kruskal-Wallis	Males Females	F _{2,16} =1.875 H=3.529	p=0.186 p=0.171
Figure 4X. FSCV baseline [DA]p 1way ANOVA	Males Females	F _{2,16} =2.371 F _{2,20} =0.623	p=0.125 p=0.547
Figure 4X. FSCV baseline Vmax 1way ANOVA or Kruskal-Wallis	Males Females	H=8.884 F _{2,20} =1.796	p=0.087 p=0.192
Figure 5A. FSCV [DA]max Males 2way RM-ANOVA	Group Treatment Group x Treatment	F _{2,48} =0.211 F _{3,48} =116.118 F _{6,48} =6.356	NS p<0.001 p<0.001
Figure 5B. FSCV [DA]max Females 2way RM-ANOVA	Group Treatment Group x Treatment	F _{2,60} =5.286 F _{3,60} =21.770 F _{6,60} =3.456	p=0.014 p<0.001 p=0.005
Figure 5C. FSCV [DA]p Males 2way RM-ANOVA	Group Treatment Group x Treatment	F _{2,48} =2.851 F _{3,48} =154.832 F _{6,48} =5.099	p=0.087 p<0.001 p<0.001
Figure 5D. FSCV [DA]p Males 2way RM-ANOVA	Group Treatment Group x Treatment	F _{2,60} =6.019 F _{3,60} =45.964 F _{6,60} =5.165	p=0.009 p<0.001 p<0.001
Figure 5E. FSCV Vmax Males 2way RM-ANOVA	Group Treatment Group x Treatment	F _{2,48} =2.298 F _{3,48} =41.274 F _{6,48} =1.776	p=0.133 p<0.001 p=0.124
Figure 5F. FSCV Vmax Males 2way RM-ANOVA	Group Treatment Group x Treatment	F _{2,60} =0.549 F _{3,60} =6.836 F _{6,60} =0.746	p=0.586 p<0.001 p=0.615

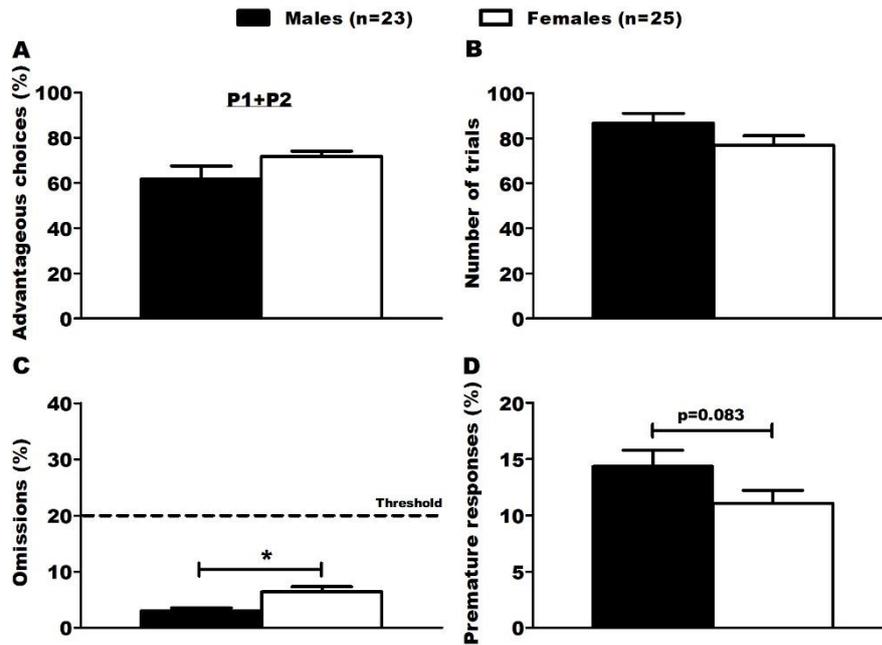
Table S3. Statistical analysis of the FSCV data.

	MALES	FEMALES
EtOH-induced DA release	+	0
DA release inhibition by quinpirole	+	0
Blockade of EtOH-induced DA release by quinpirole	+	0
Blockade of DA release by BD history	+	0
Increase in quinpirole sensitivity after BD history	0	+

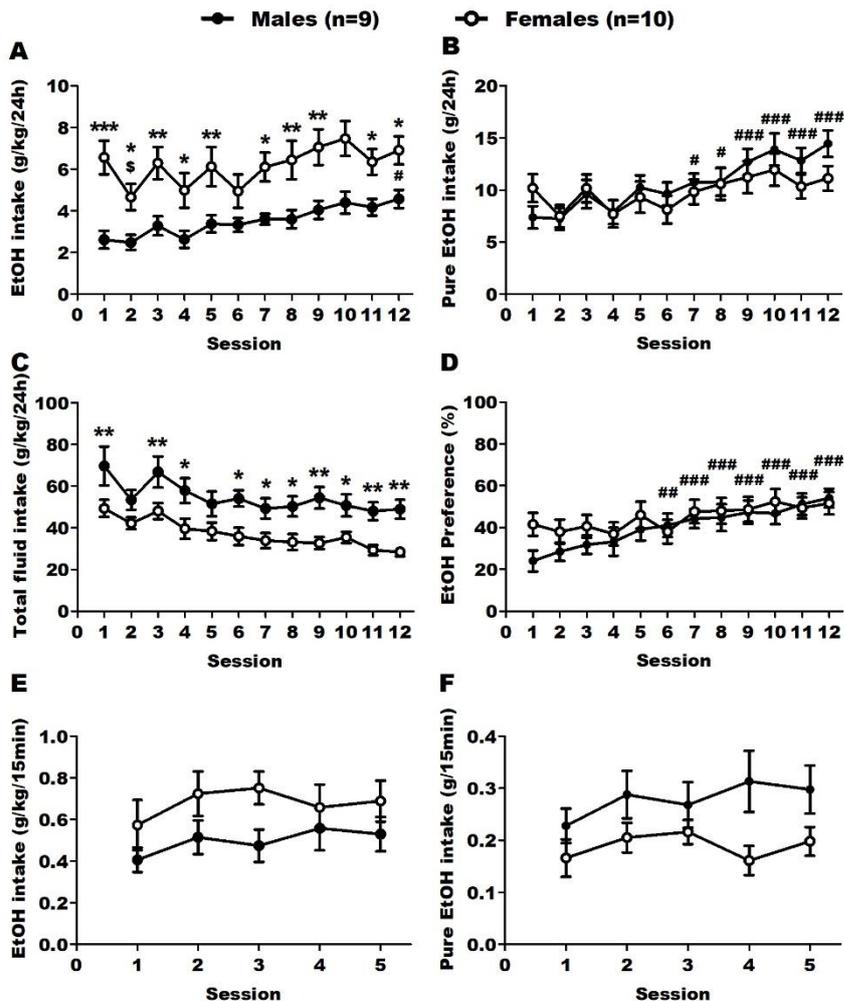
Table S4. Sex-dependent effects observed in the dopamine signaling study. The table presents a summary of the most significant data observed depending on sex. +: presence and -: lack of effects.



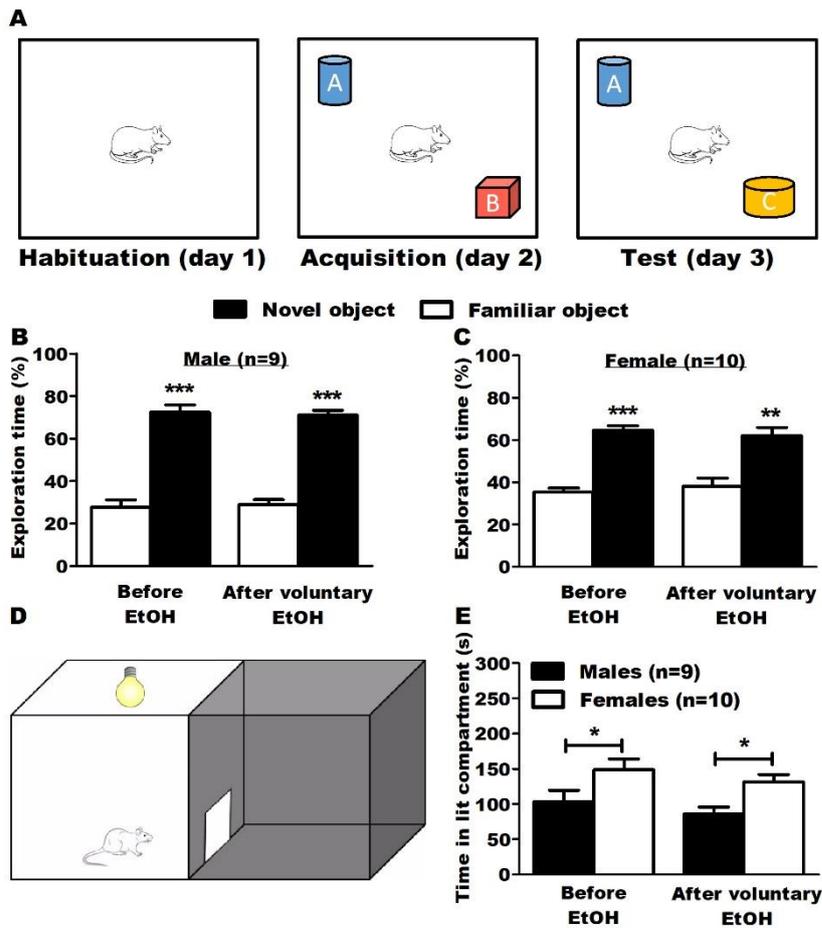
Supplemental figure 1. Flow chart of rat exclusion and selection during the study. The 50 rats (25 males and 25 females) were initially randomly assigned to a group of forced EtOH administration (15 males and 15 females) or a group of voluntary EtOH administration (10 males and 10 females). During the RGT training before EtOH administration, 2 male rats from the forced group were excluded due to low operant responding (<20% trials launched by the end of all training sessions). Results depicted in the RGT before EtOH are pooled from the two groups. After the EtOH i.p injections, 3 male rats and 4 female rats from the forced group were excluded due to sickness and/or mortality. After the operant self-administration procedure, 1 male rat was excluded from the voluntary group due to sickness.



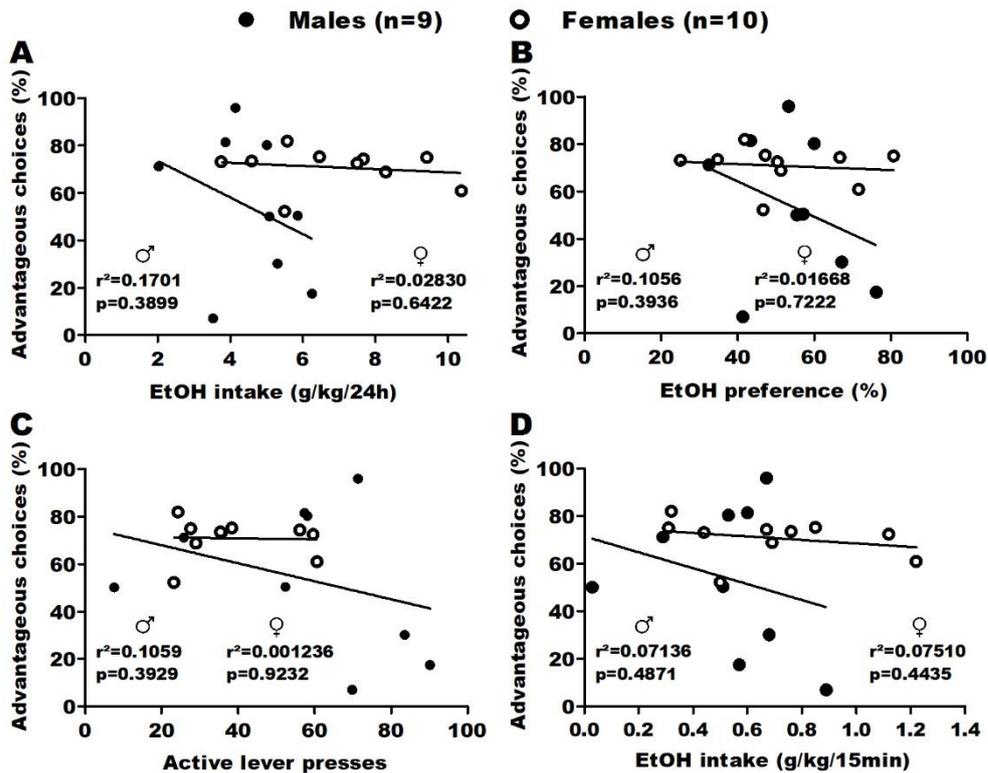
Supplemental figure 2. Other parameters during baseline sessions of the RGT, in animals from both longitudinal studies. n = 23 males, n = 25 females. (A) No sex differences in the proportion of advantageous choices (P1 + P2) during the test sessions. Results are expressed as mean \pm SEM of the proportion of advantageous choices over the total number of choices. (B) No sex differences in the number of trials made during the test sessions. Results are expressed as mean \pm SEM of the total number of trials made. (C) Female rats made significantly more omissions than male rats. The dot line represents the threshold of allowed omitted responses for the animals during baseline test sessions. Results are expressed as mean \pm SEM of the proportion of omitted trials over the total number of trials. ** p < 0.01. (D) Female rats made marginally less premature responses than male rats. Results are expressed as mean \pm SEM of the proportion of premature responses over the total number of trials.



Supplemental Figure 3. Results from the Intermittent Access Two-Bottle Choice (IA2BC) and Operant Self-Administration (OSA) paradigm, in male and female rats. (A) Female rats had a significantly higher intake of EtOH by weight than male rats during the IA2BC sessions. Male rats, but not females, escalated their intake on the last session. Results are expressed as a mean \pm SEM of the EtOH intake by weight during the 24 h sessions (g/kg/24h). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ versus male rats, # $p < 0.05$ versus first session in male rats. \$ $p < 0.05$ versus first session in female rats. (B) No sex differences in pure intake of EtOH during the IA2BC sessions. Male rats escalated their pure intake of EtOH while female did not. Results are expressed as a mean \pm SEM of the total of pure intake of EtOH during the 24 h sessions (g/24 h). # $p < 0.05$, ### $p < 0.001$ versus first session in male rats (C) Male rats had a significantly higher total fluid intake than female rats during the IA2BC sessions. Results are expressed as a mean \pm SEM of the total fluid intake by weight during the 24h sessions (g/kg/24 h). * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, versus female rats. (D) No sex differences in EtOH preference during the 24 h sessions. Male rats escalated their preference for EtOH while female did not. Results are expressed as a mean \pm SEM of the proportion of EtOH consumed over total fluid consumed. ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ versus first session in male rats. (E) No sex differences in EtOH intake by weight during the last 5 stable OSA FR3 15 min sessions. Results are expressed as a mean \pm SEM of the EtOH intake by weight during the 15 minutes sessions (g/kg/15 min). (F) No sex differences in pure EtOH intake during the last 5 stable OSA FR3 15 min sessions. Results are expressed as a mean \pm SEM of the total of pure EtOH intake during the 15 min sessions (g/15 min).



Supplemental Figure 4. Results of the anxiety (LDB) and learning / memory test (NOR) in the second longitudinal study, before and after voluntary EtOH. (A) Timeline of the NOR test. After exploring the box during the habituation phase, animals had the chance to explore 2 different objects (A and B) or during the acquisition phase. During the test phase, one of the objects was switched with a new different one (Novel Object, C), while the other remained (Familiar Object, A). (B) No differences in performances were observed before and after voluntary EtOH. Male and female rats spent significantly more time on the novel object, showing that they memorized the familiar object, both before and after voluntary EtOH. Results are expressed as mean \pm SEM of the proportion of time spent exploring each object over the total time spent exploring. (D) Schematic representation of the DLB test. The animal was positioned in the lit compartment, back to the central door, and allowed to freely move inside the box. (E) No effect of voluntary EtOH on the time spent inside the lit compartment during the LDB test. Female rats spent significantly more time inside the lit compartment than the male rats, both before and after voluntary EtOH. Results are expressed as mean \pm SEM of the time in seconds spent inside the lit compartment during the test. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.



Supplemental figure 5. Correlation analysis of the relation between baseline DM abilities and voluntary EtOH consumption. (A) No correlation between advantageous choices (P1+P2) during baseline RGT sessions and EtOH intake by weight during the last IA2BC session. Results are expressed as the percent of choices in the P1 and P2 options versus the EtOH intake by weight during the 24h sessions (g/kg/24h). (B) No correlation between advantageous choices (P1+P2) during baseline RGT sessions and EtOH preference during the last IA2BC session. Results are expressed as the percent of choices in the P1 and P2 options versus the proportion of EtOH consumed over total fluid consumed. (C) No correlation between advantageous choices (P1+P2) during baseline RGT sessions and active lever presses during the last 5 stable OSA FR3 15 min sessions. Results are expressed as the percent of choices in the P1 and P2 options versus the number of presses on the active lever during the 15 min sessions. (D) No correlation between advantageous choices (P1+P2) during baseline RGT sessions and EtOH intake by weight during the last 5 stable OSA FR3 15 min sessions. Results are expressed as the percent of choices in the P1 and P2 options versus the EtOH intake by weight during the 15 minutes sessions (g/kg/15 min)

Supplementary Materials and Methods

Anxiety: Light-Dark Box (LDB)

Behavioral testing took place in a calm room inside two opaque plexiglass boxes (45 x 45 x 45cm), divided into two equal compartments by a central partition (15 x 15cm): an open lit compartment (30 lux), and a closed dark compartment (two Lux). The rats were habituated daily to the room for one hour during one week, inside their home cage. They were transferred to the room 30 min prior to every behavioral test. The test consisted in a single 5 min session where the animals were positioned in the lit compartment, back to the central door, and were allowed to freely move inside the box. The entry latency, the time spent inside the lit compartment and the number of transitions between compartments were recorded. A transition was recorded when all four limbs of the animal passed the central partition. The boxes were cleaned after each trial to prevent a bias based on olfactory cues.

Learning and memory: Novel Object Recognition task (NOR)

Behavioral testing took place in a calm room inside two brightly illuminated (30 lux) opaque plexiglas boxes (45 x 45 x 45 cm). The task consisted in three phases, one each consecutive days: habituation, acquisition and test. The animals were transferred to the room 30 min prior to every behavioral test. The rats were first habituated to the boxes during a single 10 min session where they were allowed to move freely. During the acquisition phase, two objects (A and B) of distinct height, form and structure, were placed equidistant to the wall in each corner of the boxes. The rats were allowed to freely explore them for a single 10 min session. During the test phase, one object (counterbalanced for each box) was replaced with a new object (C) of different height, form and structure. The rats were allowed to once again freely explore them for a single 10 min session. Exploration time was recorded for each object, with any behavior of sniffing, licking or touching considered as interaction. The boxes and objects were cleaned after each trial to prevent a bias based on olfactory cues. A new set of different objects was used for the NOR test after EtOH exposure to limit retest effects.

Rat Gambling Task

Apparatus. Behavioral testing took place in four identical operant chambers (Imetronic, Pessac, France, 28 x 30 x 34 cm) in a calm room. Each chamber was standing in a dark, ventilated and sound-proof conditioning box. The chambers were divided into two equal compartments by a central plexiglass partition (0.5 x 29.5 x 30 cm), parallel to the wall and opened in its center (7 x 7 cm). They were also equipped on one side of the box with four nose-poke holes on a curved wall (dimly illuminated within with a white LED), equidistant from the food magazine at the opposite side. The nose-poke holes were equipped with an infrared detector connected to an external dispenser for the delivery of food pellets (45 mg, Test Diet, Cambridge Univ., UK). The apparatus and data collection were controlled using the POLY software (Imetronic, Pessac, France). The animals were moderately food restricted during the procedure (95% of their normal bodyweight).

Mesolimbic phasic dopamine transmission: Fast-Scan Cyclic Voltammetry (FSCV)

Surgery. Rats were anesthetized with isoflurane (IsoVet, 5%) before being decapitated, and their brain were extracted and immersed in ice-cold artificial cerebrospinal fluid (aCSF) (NaCl 126 mM, KCl 2,5 mM, NaH₂PO₄ 1,1mM, MgCl₂ 1,4 mM, CaCl₂ 0,5mM, NaHCO₃ 18mM, Glucose 11 mM, ascorbic acid 0,4 mM, pH 7,2-7,4) and glued into a vibratome (Leica, VT 1200S). Coronal slices (250 μm thick) of the NAc were selected and stored in a 31°C aCSF (NaCl 126 mM, KCl 2,5 mM, NaH₂PO₄ 1,1 mM, MgCl₂ 1,4 mM, CaCl₂ 2,4 mM, NaHCO₃ 18 mM, Glucose 11 mM, pH 7,2-7,4) reservoir gassed with carbogen (95% O₂, 5% CO₂) for at least one hour. After rest, the slices were transferred to a recording chamber and perfused with aCSF (3 ml/min, 31°C).

Recordings. DA measurements were conducted in the NAcc core using FSCV and carbon-fiber microelectrodes (7 μm diameter, cut to 100-150 μm long, GoodFellow, Huntington, England). Those electrodes were calibrated prior to the recordings using a 1μM dopamine solution in aCSF. A triangular

waveform potential ramping from -0.4V to +1.3 V was applied to the microelectrodes at 10 Hz during the recordings. A bipolar stimulating electrode (Stimulus Isolator A360, WPI, England) was placed on the afferent fibers coming from the VTA, around 100 μm near the working carbon-fiber microelectrode. Phasic DA release was evoked every five minutes using a monophasic stimulation (0,5 s long, 24 pulses, square-wave pulses, 2 ms/phase, 300 μA , 60 Hz). The electric signal was amplified, filtered and transmitted to the Tarheel CV software (Scott Ng-Evans, Electronics and Materials Engineering Shop, Seattle, WA, USA). Using color plots, changes in current were plotted as a function of applied potential over time, and the oxidation current converted to DA concentration. A baseline of three consecutive stable signals was obtained for each slice. For the pharmacology, EtOH 100mM and quinpirole 100nM were applied for at least 30 min and until achieving three consecutive stable signals. Experiment design was as follow: baseline recording, EtOH 100 mM, wash, quinpirole 100 nM and EtOH 100 mM + quinpirole 100 nM.

Supplementary results

Other parameters during baseline RGT test sessions

The RGT allows to evaluate the proportion of advantageous choices, as well as the number of trials, the proportion of omissions and the proportion of premature responses. We evaluated and compared these parameters between the male and female rats. Statistical analysis using Student's t-test revealed marginally more premature responses (Supplemental Figure 2D, $p=0.0830$) in male rats than female rats, but no significant differences in the number of trials (Supplemental Figure 2B, $p=0.1081$). Statistical analysis using Mann-Whitney rank sum test revealed significantly less omissions (Supplemental Figure 2C, $p=0.002$) in the male rats than the female rats, but no significant differences in the percent of advantageous choices (Supplemental Figure 2A, $p=0.804$).

Sex differences in the BD operant procedure

The operant BD procedure started with 12 sessions of the IA2BC paradigm, in order to develop EtOH palatability in the animals and escalate their EtOH intake. We first evaluated their EtOH intake relative to weight across the sessions (Supplemental Figure 3A), a 2way RM-ANOVA revealed a significant effect of the sex ($F_{(1,187)}=12.548$, $p=0.003$), of the session ($F_{(11,187)}=6.930$, $p<0.001$), and no interaction ($F_{(11,187)}=1.126$, $p=0.343$). The *post hoc* Tukey analysis revealed that female rats had a significantly higher EtOH intake relative to weight across sessions ($p<0.001$) than male rats, but that they didn't escalate their intake relative to weight, while the male rats did by the end of the procedure ($p=0.033$ for session 12 vs the first). We also evaluated pure intake of EtOH (Supplemental Figure 3B). A 2W-RM-ANOVA revealed no effect of the sex ($F_{(1,187)}=0.348$, $p=0.563$), a significant effect of the session ($F_{(11,187)}=13.606$, $p<0.001$), and a significant interaction ($F_{(1,187)}=2.288$, $p=0.012$). The *post hoc* Tukey analysis revealed that male rats significantly escalated their pure EtOH intake starting from the 7th session ($p=0.02$ for session 7, $p=0.014$ for session 8 and $p<0.001$ for sessions 9 to 12).

Then, we evaluated the total fluid intake (Supplemental Figure 3C). A 2way RM-ANOVA revealed a significant effect of the sex ($F_{(1,187)}=11.029$, $p=0.004$) and the session ($F_{(11,187)}=8.038$, $p<0.001$), but no interaction ($F_{(11,187)}=0.444$, $p=0.934$). The *post hoc* Tukey analysis revealed that male rats had a significantly higher total fluid intake than female rats ($p=0.005$ for session 1, $p=0.009$ for session 2, $p=0.011$ for sessions 4, $p=0.011$ for session 5, $p=0.031$ for session 7, $p=0.017$ for session 8, $p=0.003$ for session 9, $p=0.031$ for session 10, $p=0.009$ for session 11 and $p=0.005$ for session 12). We also evaluated the EtOH preference (Supplemental Figure 3D). A 2way RM-ANOVA revealed no effect of the sex ($F_{(1,187)}=0.261$, $p=0.616$), a significant effect of the session ($F_{(11,187)}=8.876$, $p<0.001$), and a significant interaction ($F_{(11,187)}=1.930$, $p=0.038$). The *post hoc* Tukey analysis revealed that male rats significantly escalated their EtOH preference starting from the 6th session ($p=0.007$ for session 6, $p<0.001$ for sessions 7 to 12), but not female rats.

Finally, the rats underwent daily self-administration sessions for several weeks. We evaluated their EtOH intake relative to weight (Supplemental Figure 3E) and their pure intake of EtOH (Supplemental Figure 3F) during the last 5 stable FR3 15min self-administration sessions. Regarding the EtOH intake relative to weight, a 2way RM-ANOVA revealed no effect of the sex ($F_{(1,63)}=2.146$, $p=0.162$), no effect of the session ($F_{(4,63)}=2.084$, $p=0.093$), and no interaction ($F_{(4,63)}=0.753$, $p=0.560$). Regarding the pure intake of EtOH, a 2way RM-ANOVA revealed a marginal effect of the sex ($F_{(1,68)}=3.887$, $p=0.065$), no effect of the session ($F_{(4,68)}=2.056$, $p=0.096$), and no interaction ($F_{(4,68)}=1.773$, $p=0.144$).

Sex differences and voluntary EtOH effect on anxiety and memory

Learning and memory. In the NOR test, the rats were presented with 2 objects and tested with retention in presence of a new object again 24 hours later. We evaluated the time spent on the familiar and the novel object, before and after voluntary EtOH. For male rats (Supplemental Figure 4B), a 2way RM-ANOVA revealed a significant effect of the object ($F_{(1,34)}=211.055$, $p<0.001$), no effect of the treatment ($F_{(1,134)}=5.650E-030$, $p=1.000$), and no interaction ($F_{(1,34)}=0.203$, $p=0.655$). The *post hoc* Tukey analysis revealed that male rats explored the novel object significantly more than the familiar object, both before ($p<0.001$) and after voluntary EtOH ($p<0.001$). For female rats (Supplemental Figure 4C), a 2way RM-ANOVA revealed a significant effect of the object ($F_{(1,9)}=38.124$, $p<0.001$), no effect of the treatment ($F_{(1,9)}=0.000$, $p=1.000$), and no interaction ($F_{(1,9)}=0.349$, $p=0.569$). The *post hoc* Tukey analysis revealed that female rats explored the novel object significantly more than the familiar object, both before ($p<0.001$) and after voluntary EtOH ($p=0.002$).

Anxiety. In the DLB test, the rats were left for 5 minutes to explore the box. We evaluated the time spent in the lit compartment (Supplemental Figure 4E), a 2way RM-ANOVA with a significant effect of the sex ($F_{(1,17)}=8.383$, $p=0.010$), no effect of the treatment ($F_{(1,17)}=3.378$, $p=0.084$), and no interaction ($F_{(1,17)}=0.000249$, $p=0.988$). The *post hoc* Tukey analysis revealed that male rats spent significantly less time in the lit compartment than female rats, both at before ($p=0.021$) and after voluntary EtOH ($p=0.020$).

Relation between baseline DM abilities and voluntary EtOH consumption

We used correlation analysis to assess the relation between baseline DM performances in the RGT and the following voluntary EtOH consumption in the IA2BC and OSA procedures (Supplemental Figure 5). For both sexes, Pearson correlation tests revealed no significant correlation between advantageous choices (P1+P2) during baseline RGT test sessions and EtOH intake by weight during the last session of IA2BC (Supplemental Figure 5A, $r^2=0.1701$ and $p=0.3899$ for males, $r^2=0.02830$ and $p=0.6422$ for females), EtOH preference during the last session of IA2BC (Supplemental Figure 5B, $r^2=0.1056$ and $p=0.3936$ for males, $r^2=0.01668$ and $p=0.7222$ for females), active lever presses during the last 5 stable FR3 15 min OSA sessions (Supplemental Figure 5C, $r^2=1059$ and $p=0.3929$ for males, $r^2=0.01236$ and 0.9232 for females), and EtOH intake during the last 5 stable FR3 15 min OSA sessions ($r^2=0.07136$ and $p=0.4871$ for males, $r^2=0.07510$ and $p=0.4435$ for females).

RÉSULTATS

ANNEXES

Article 4 : Interstrain differences in voluntary binge drinking behavior and in two acute ethanol injections-induced synaptic plasticity deficits in rats

Publié dans *Addiction Biology*

Résumé :

Cette dernière étude s'éloigne un peu du cadre des précédentes, et est donc présentée en résultats annexes. La propension à boire de l'alcool et initier le comportement *BD* est déterminée par des facteurs génétiques. Nous avons ainsi pour objectif de comparer trois souches de rats non consanguines (Long-Evans, Sprague-Dawley et Wistar) dans notre modèle volontaire de *BD*. Puisque nous avons observé une propension différente au *BD*, nous avons aussi cherché à évaluer des différences liées à la souche en utilisant une autre procédure consistant en deux expositions aiguës à l'éthanol, connue pour altérer la dépression à long terme dans la plasticité synaptique de l'hippocampe. Nos résultats montrent que, tant dans les procédures d'IA2BC que d'AA, le Long-Evans a eu la consommation la plus forte d'EtOH, le Wistar la consommation la plus faible, et le Sprague-Dawley a été intermédiaire. Les rats Long-Evans ont également été les consommateurs les plus rapides, avec le temps le plus court pour atteindre 50% de leur consommation maximale en 15 min. Lorsque nous avons testé les effets d'une exposition aiguë à l'alcool, la dépression à long terme (DLT) dans l'hippocampe a été abolie spécifiquement chez le rat Long-Evans, sans effet chez les autres souches. Notre étude révèle ainsi que le Long-Evans est la souche idéale dans notre modèle animal pour l'étude du *BD*. De plus, avec le paradigme d'exposition aiguë forcée à l'éthanol, le Long-Evans a présenté une augmentation de la sensibilité aux effets délétères du *binge* sur la plasticité synaptique de l'hippocampe. D'autres études sont maintenant nécessaires pour expliquer pourquoi le rat Long-Evans est plus enclin au *BD*.

Interstrain differences in voluntary binge drinking behavior and in two acute ethanol injections-induced synaptic plasticity deficits in rats

Pierre Sauton*¹, MSc, Chloé Deschamps*¹, MSc, Virginie Jeanblanc², BSc, Olivier Pierrefiche^{1**}, PhD, Jérôme Jeanblanc^{1**}, PhD, Mickael Naassila^{1**}, PhD

*contributed equally to the work

** last co-authors

¹ INSERM UMR 1247 – Research Group on Alcohol & Pharmacodependences (GRAP),
Université de Picardie Jules Verne, Amiens, France

² Animal Facility PlatAnN, Université de Picardie Jules Verne, Amiens, France

Correspondence and requests for reprints should be addressed to: Professor M. Naassila,
INSERM UMR 1247 – GRAP, Université de Picardie Jules Verne, CURS, Chemin du Thil, 80025
Amiens cedex 1, Tel: +33 3 22 82 76 72; Fax: +33 3 22 82 53 99, E-mail: mickael.naassila@u-picardie.fr

Running head : Rat strains and binge drinking

Number of words in the abstract: 249

Number of words in the Manuscript: 6351

Number of tables: 0

Number of figures: 7

Supplemental informations : 1 file

Supplemental figures : 4

Abstract

Propensity to drink alcohol and to initiate binge drinking (BD) behavior is driven by genetic factors. Recently, we proposed an original animal model useful in the study of voluntary BD in outbred Long-Evans rats by combining intermittent access to 20% ethanol in a 2-bottle choice (IA2BC) paradigm to 15min daily sessions of 20% ethanol operant self-administration. We sought to compare three strains of outbred rats (Long-Evans, Sprague-Dawley and Wistar) in our BD model. Because we found different propensity to BD between strains we also sought to test interstrain differences using another procedure of two acute ethanol exposures known to alter long term depression of hippocampal synaptic plasticity. Our results demonstrate that in both IA2BC and operant procedures, the Long-Evans strain consumed the highest, Wistar the lowest amount of ethanol and the Sprague-Dawley was intermediate. Long-Evans rats were also the fastest consuming with the shortest time to reach 50% of their maximum consumption in 15min. When we tested the acute effects of ethanol, long-term depression in hippocampus was abolished specifically in Long-Evans rats with no impact in the two other strains. Thus, our study reveals that the Long-Evans strain is the ideal strain in our recently developed animal model useful in the study of BD. In addition, with the other paradigm of forced acute ethanol exposure, the Long-Evans strain displayed an increase in sensitivity to the deleterious effect of BD on hippocampal synaptic plasticity. Further studies are needed in order to investigate why Long-Evans rats are more prone to BD.

Introduction

Similar to humans, genetic background plays a critical role in propensity to drink alcohol in rodent models useful in the study of alcohol use disorder (AUD). Thus the use of heterogeneous outbred rodents in constant controlled conditions seems to be advantageous for translatability into human AUD[1]. Significant differences have been shown among the three strains Long-Evans (LE), Sprague-Dawley (SD) and Wistar (W) using different concentrations of ethanol and forced or voluntary ethanol presentation procedures[2]. While the three strains did not differ in sensitivity to ethanol-induced hypothermia and motor impairment, the LE strain consumed more ethanol than W and SD rats[2]. Previous studies showed that LE rats were highly susceptible to the effects of chronic ethanol exposure, both

in terms of liver and brain injury. Thus, more severe ethanol-mediated liver disease and steatohepatitis have been demonstrated in alcohol fed LE compared with SD rats[3].

Difference in ethanol drinking could also be due to procedures of ethanol drinking and or exposure. In the inhalation procedure, one study tested ten rat strains in a 2-bottle choice procedure after a 4-week period of ethanol vapor exposure[4]. In this study, among the ten strains, W and LE rats exhibited the highest degree of ethanol vapor-induced ethanol drinking reaching 8.1 and 5.2 g of pure ethanol/kg bodyweight per day, respectively.

In the procedure of intermittent access to 20% ethanol in 2-bottle choice (IA2BC), first published in the early 1970s[5,6], the presentation of the ethanol solutions to the animals on every other day leads to a gradual escalation of ethanol intake and preference. Most of the studies used LE and W rats and some studies used SD rats[7]. However, the percentage of SD rats not showing drinking escalation seems to be higher in this strain compared to the LE and W strains[8]. Interstrain differences in ethanol drinking may come from strain differences in the fact of reaching pharmacologically relevant blood ethanol concentrations. In this regard, LE rats reach high blood ethanol concentrations with lower levels of ethanol intake compared to W, SD and alcohol-preferring (P or Sardinian) rats[9–11]. Carnicella et al. (2014) suggested that the LE strain might be the ideal outbred strain for the IA2BC procedure[7]. In addition they also suggested that important differences in ethanol drinking behavior can be due not only to interstrain differences but also to inter-laboratory and inter-supplier variability[7]. Palm et al. (2011) reported 2-fold differences in ethanol intake in a 3-bottle choice procedure (water, 5% and 20% ethanol) among W rats from five different suppliers and rats from all strains showed very little or no escalation in ethanol intake over time[12].

Recently, we proposed an original rat model useful in the study of ethanol binge drinking (BD) with good face validity and predictive validity[13–15]. We proposed several criteria for an ideal preclinical model useful in the study of BD behavior[16,17]. In this model we combined 4 weeks IA2BC procedure to several weeks of 15min daily session of 20% ethanol operant self-administration[14]. Because numerous alcohol studies have shown large interstrain differences and because other laboratories could be interested in our model using other strains of rats, we investigated the effect of the rat strain using LE, SD and W strains.

Because we observed large interstrain differences in voluntary BD behavior, we sought to investigate whether interstrain differences may also exist regarding the consequence of acute

BD on synaptic plasticity in hippocampus, in rats with no history of chronic ethanol BD. We chose to focus on hippocampus because animal and human studies have repeatedly shown that hippocampus is particularly vulnerable to BD-induced both morphological and functional alterations in adolescents and young adults[18]. Insults to the hippocampus have pervasive implications for the brain more broadly, and for key cognitive and emotional processes; impairment in these processes may further exacerbate psychopathology and could contribute to the persistence of BD behavior and the development of AUD[19]. There is large evidence for the involvement of hippocampus-dependent learning and memory as well as hippocampal plasticity in development and maintenance of addiction[20]. We focused on long-term depression (LTD) of synaptic activity since we previously showed [21,22] that LTD is impaired 48h after a BD exposure in adolescent SD rats and it seems that LTD may be the form of synaptic plasticity that could be particularly sensitive to the effects of BD exposure. To our knowledge, no work has yet studied the effect of the strain on hippocampal synaptic plasticity before or after exposure to ethanol. It is noteworthy that our goal was not to examine interstrain differences in the effect of voluntary BD on hippocampal synaptic plasticity or the role of hippocampal synaptic plasticity in the propensity to BD behavior. Our goal was to focus on interstrain differences in two aspects of BD with the propensity to BD behavior and the consequences of acute BD exposure.

Materials and Methods

Ethics and study approval. Experiments were carried out in accordance to the guidelines for Care and Use of Laboratory Animals (NIH) and the E.C. regulations for animal use in research (CEE no. 86/609) and were approved by the local research ethics committee (CREMEAP; no. APAFIS#2145-201510051547534). All efforts were made to minimize animal suffering and to reduce the number of animals used.

Drugs. Ethanol (95%, v/v) was purchased from VWR International (France) and diluted in tap water to a final concentration of 20% (v/v).

Animals. *Behavioral experiments:* Males LE (N=30; Janvier laboratories, Le Genest-Saint-Isle, France), SD (N=10; Charles River, Saint-Germain-Nuelles, France) and W (N=30; Janvier Laboratories, Le Genest-Saint-Isle, France) rats were used. The rats arrived at the age of 7

weeks and were individually housed with no enrichment in their IVC (isolated ventilated cages) home cage and in a 12/12 light/dark phase with the dark one starting at 7:00pm. Food and water were provided *ad libitum*. The experiments started one week after their arrival. At the end of behavioral experiments animals were 12-14 weeks old.

Electrophysiology: Naïve LE (N=9), SD (N=7) and W (N=6) rats from the same origins were housed in the exact same conditions and used at the age of 14 weeks.

A time line of the experiments and treatments is presented on Figure 1.

IA2BC. Rats were submitted to a 20% intermittent access paradigm to induce an escalation in ethanol consumption for 4 weeks as described previously [7,10,14,23]. Before the operant BD procedure, 9 sessions of the IA2BC paradigm were carried out in order to develop ethanol palatability and to facilitate escalation in ethanol intake. Thus, the same rats underwent the IA2BC followed by the self-administration procedure. Rats had access to 2 bottles, one containing tap water and one containing a 20% ethanol solution (v/v) every other day in their home cage. Bottles were placed at 2:00pm and removed at the same time the next day. Bottles were weighted at the end of each drinking session and the rats twice a week.

20% Ethanol operant self-administration. Rats were trained as described[14] (see *Supplementary information* for details). Briefly, rats were submitted to successive schedules of reinforcement from Fixed Ratio 1 (FR1) during 2 overnights, FR1 1hr for 5-7 sessions, FR3 1 hr, FR3 30 min and finally FR3 15 min. Due to different speeds in learning the task and to reach stable baseline of self-administration between strains, and to ease comparison between the levels of consumption reached by schedule, only the 4-5 last stable sessions for each schedule are depicted in the results.

Binge ethanol exposure for electrophysiology. As we previously described[22,24], animals from the ethanol group received 2 i.p. injections of ethanol (ethanol 20% v/v, 3g/kg), 9h apart, and control group received 2 i.p. injections of 0.9% NaCl. All recordings were performed 48h after the first injection.

Blood ethanol concentration determination. Because we observed large differences in the propensity to drink ethanol during the first drinking sessions we sought to evaluate if it was linked to differences in ethanol metabolism before the development of ethanol tolerance. Differences in ethanol metabolism after chronic BD should be mainly explained by the large variability in the level of ethanol intake. Five naïve SD, W and LE rats received an injection of

an ethanol solution (20% v/v, 3 g/kg i.p.) at 14 weeks of age. Thirty and 240 minutes after the injection, rats were briefly anesthetized with isoflurane (5% for the induction, then 2% for the 2 min of the blood collection) and blood samples were collected from the sublingual vein in heparinized Eppendorf® tubes for immediate centrifugation. Ethanol concentration in the plasma was determined using the Analox® apparatus.

Electrophysiology on hippocampus slices. After anesthesia with isoflurane, brains were removed and immersed in a cutting solution (220mM Sucrose, 2mM KCl, 1.3mM NaH₂PO₄, 26mM NaHCO₃, 6mM MgCl₂, 0.2mM CaCl₂, 10mM glucose; pH 7.2-7.4 ; 4°C) and 400µm-thick hippocampus slices were obtained with a vibratome (Leica VT1200S, Reuil-Malmaison, France). Slices were stored for 2h at 21°C in a carbogen (95% O₂, 5% CO₂) gassed artificial cerebrospinal fluid (aCSF: 125mM NaCl, 3mM KCl, 1.25mM NaH₂PO₄, 25mM NaHCO₃, 1.3mM MgCl₂, 2.3mM CaCl₂, 10mM glucose; pH 7.2-7.4). Recorded slices, perfused with aCSF (28 ± 1°C, flow rate: 6mL/min), were stimulated at the Schaffer collaterals using a bipolar tungsten electrode (PHYMEP, France) every 20s. Field EPSPs were recorded with a 3M NaCl (1-3 MΩ) filled glass microelectrode placed into the stratum radiatum of the CA1 area. For each slice, an input/output relationship was performed to determine the maximal response and the test stimulus intensity was set to evoke 50-60% of the maximal response. Signals were amplified (Grass amplifier, ×1000-2000), filtered (1-3 KHz), and recorded on computer with Signal software (CED, Cambridge, UK) for off-line analysis. LTD was induced by 900 paired stimuli (200ms interpulse interval) delivered at 1Hz (pLFS200-900). LTD magnitude is expressed as a percentage of change of the response averaged over the last 10min of recording and compared with the normalized baseline level taken before LTD induction. For these experiments, “n” is the number of slices recorded.

Data Analyses. All data were presented as means ± standard error (SEM). Data were analyzed (SigmaPlot 11.0, SysStat Software, Inc.) using an analysis of variance test (one or two-ANOVA with or without repeated measures) followed by a Tukey multiple comparison test when a significant effect was observed for the data following a normal distribution and an equality of variances. When the data do not follow these criteria, a non-parametric analysis was performed (Kruskall Wallis and Dunn’s tests). For single comparison, we used a Student’s t-test (2-tails) and for the correlation we used the Pearson correlation test. The significance threshold was fixed at p < 0.05. It is noteworthy that we runned Tukey multiple comparison test

even when only one main effect was found or no significant interaction between factors. Like the ANOVA, the Tukey test requires normal distribution and equality of variance but does not require 'protection' by a 'significant' ANOVA.

Results

Interstrain differences in the IA2BC paradigm

Regarding ethanol intake (Figure 2A), a 2-way repeated measures-ANOVA (RM-ANOVA) revealed a significant effect of the group ($F_{(2,536)}=98.41$, $p < 0.001$), the session ($F_{(8,536)} = 4.71$, $p < 0.001$) and a significant interaction between these two factors ($F_{(16,536)} = 4.21$, $p < 0.001$). The *post hoc* test revealed that LE rats were the only strain to escalate ethanol intake ($p < 0.001$ for all the sessions *versus* the first one). They consumed significantly more ethanol across all sessions than W and SD rats (all p 's < 0.001). SD rats consumed significantly more ethanol than W rats from the 2nd to the last session (all p 's < 0.05 except session 7 in which $p = 0.07$). Results on water intake, total fluid intake and preference (Figure 2B-D) are given as supplementary informations.

Interstrain differences in the operant self-administration paradigm

First rats were submitted to 2 successive overnight sessions (16 hrs each) under a fixed ratio (FR) 1 schedule (Figure 3A). During overnight sessions rats did not have access to food as it is usually done[25]. Regarding the number of active lever presses, a 2-way RM-ANOVA revealed an effect of the group ($F_{(2,67)} = 14.19$, $p < 0.001$), the session ($F_{(1,67)} = 42.14$, $p < 0.001$) and an interaction between the factors ($F_{(2,67)} = 3.98$, $p < 0.05$). The *post hoc* test revealed that the W rats made overall significantly less active lever presses than the LE rats ($p < 0.001$) and SD ($p < 0.001$). After the overnight session, rats were exposed to different schedules and sessions duration from which the number of active lever presses for the last 4 (FR1 1h) and 5 (FR3 30min and FR3 15min) stable sessions for each schedule are depicted in Figure 3B-D. In regards with the 4 FR1 sessions (Figure 3B), the 2-way RM ANOVA revealed a significant effect of both factors (group: $F_{(2,198)} = 23.58$, $p < 0.001$ and sessions: $F_{(3,198)} = 4.92$, $p < 0.01$) and a marginal interaction between those factors ($F_{(6,198)} = 1.87$, $p = 0.088$). The Tukey test indicated a significant difference between the LE rats and both the W and SD rats for the 3 first sessions and only between the LE and the W for the 4th sessions. Concerning the FR3-30 min sessions

(Figure 3C), the analysis of the data revealed an effect of both factors too (groups: $F_{(2,264)} = 5.36$, $p < 0.01$ and session: $F_{(4,264)} = 4.08$, $p < 0.01$) and an interaction between them ($F_{(8,264)} = 5.52$, $p < 0.001$). The *post hoc* test indicated that the differences between the LE and both others strains are more important at the two first FR3-30 min sessions. In regards with the FR3-15 min sessions (Figure 3C), a 2-way RM-ANOVA revealed a significant effect of the group ($F_{(2,264)} = 33.59$, $p < 0.001$), of the session ($F_{(4,264)} = 5.27$, $p < 0.001$) but no interaction between these 2 factors ($F_{(8,264)} = 0.87$, ns). LE rats made overall significantly more active lever presses than the W and the SD rats. We also found a punctual difference between the W and the SD rats, with the later showing higher levels of active lever presses.

In Figure 4, we depicted the results of the different schedules expressed in ethanol consumed (g/kg). The data analysis from the 2 overnight sessions revealed a significant effect of both factors (Strain: $F_{(2,67)} = 26.11$, $p < 0.001$ and session: $F_{(1,67)} = 35.89$, $p < 0.001$) and an interaction between both factors ($F_{(2,67)} = 4.83$, $p < 0.001$). The *post hoc* test indicated a significant difference between W and the other strains in session 1 ($p < 0.001$) but only with the LE for the second session ($p < 0.001$). Concerning the FR1-1 hr schedule, the 2 way RM ANOVA revealed a significant effect of both factors (Strain: $F_{(2,198)} = 60.96$, $p < 0.001$ and session: $F_{(3,198)} = 3.26$, $p < 0.05$) and no interaction between both factors ($F_{(6,198)} = 0.98$, ns). The *post hoc* test showed no difference between sessions within each strain but a significant difference between the LE group and both other groups for all sessions ($p < 0.001$). No difference between SD and W were observed. For the FR3-3 min sessions the analysis revealed a significant effect of both factors (groups: $F_{(2,264)} = 23.92$, $p < 0.001$ and Session: $F_{(4,264)} = 3.371$, $p < 0.01$) and an interaction between these factors ($F_{(8,264)} = 5.60$, $p < 0.001$). Similarly, to the FR1-1hr session, the *post hoc* test revealed a significant difference between the LE rats and the 2 others strains for almost all the sessions and no difference between the W and SD (see Figure legends for details). Finally, in regards with the 15min FR3 sessions (Figure 4D) a 2-way RM-ANOVA revealed a significant effect of the group ($F_{(2,264)} = 59.56$, $p < 0.001$), of the session ($F_{(4,264)} = 4.32$, $p < 0.01$) and no interaction between both factors ($F_{(8,264)} = 1.19$, $p > 0.05$). The *post hoc* test indicated a significant difference between the LE rats and the 2 other strains for each of the 5 stable sessions (all p 's < 0.05). Between the SD and the W rats, the difference appeared only after the 3rd stable session (all p 's < 0.05) despite a trend for the 2 first sessions ($p = 0.067$ and $p = 0.098$ respectively). It is noteworthy that the inactive lever presses also showed differences between strains all along the acquisition of the binge behavior (see

supplemental information and supplemental figure 2). In addition to these differences, we also found that the ratio between active lever presses and earned rewards, i.e. efficiency of the rats to get their reward, is slightly different depending on the strain (see supplementary results and supplementary figure 1).

Since propensity to ethanol drinking may be dependent upon individual animal differences, especially in outbred rats, we wanted to look at the individual differences among the 3 strains[1]. In Figure 5, individual data regarding the cumulative number of active lever presses are presented and show that only one SD rats and two W rats display a pattern of drinking similar to the one of the majority of the LE rats (rapid increase and high intake).

After reaching a baseline of consumption, the cumulative active lever presses (Figure 6A) shows a linear increase of the number of active lever presses for the SD and W with a beginning with a relative low number of presses performed during the first 3min. The LE rats exhibit a fast increase with a tendency to reach an asymptote at the end of the session. A 2-way RM-ANOVA (time points) revealed an effect of the factor strains ($F_{(2,252)} = 28.23$, $p < 0.001$), of the factor time point ($F_{(4,252)} = 78.81$, $p < 0.001$) and an interaction between both factors ($F_{(8,252)} = 7.27$, $p < 0.001$). In regards with intra-group evolutions, the SD and the W rats show a slow increase in presses and no difference was observed between the 2 first time points. Within the LE group, all the time points were different from each other (all p 's < 0.05) except between the 2 lasts ($p = 0.7$). Long-Evans rats are significantly different from the others strains whatever the time point selected (all p 's < 0.01). It is only at the last time point that a difference emerges between the SD and the W rats ($p < 0.05$). Figure 4B presents the cumulative lever press data expressed as % of the final number of presses. The analysis of the individual pattern (Figure 5) shows that some rats from the SD and the W strains are able to develop a phenotype similar to the one of the vast majority of the LE. The latency to get the first ethanol reward was around 6 times shorter in LE (about 35sec) compared with the ones of SD and W rats (about 220sec) (Figure 6C). A Kruskal-Wallis analysis revealed a main effect of the factor strains ($K = 32.08$, $p < 0.001$) and the *post hoc* test (Dunn) indicated a significant difference between the strains LE and both SD and W rats ($p < 0.001$). Long-Evans rats were also the fastest to reach 50% of their maximum consumption. When comparing the time to reach 50% of the total number of active lever presses in 15min, LE rats consumed 11 rewards (in only 4min) whereas SD rats consumed 7 rewards in 8min and W rats consumed only 3

rewards in about 6.5min (Figure 6D). The one-way ANOVA revealed a significant effect of the factor strain ($F_{(2,62)} = 13.28$, $p < 0.001$). The *post hoc* test indicates a significant difference between the LE and the 2 other strains ($p < 0.001$) and no difference between the SD and the W rats.

Interstrain differences in hippocampus long-term synaptic depression 48h after ethanol binges

Electrophysiological recordings are depicted on Figure 7A. There was no interstrain difference in the EPSP slope after NaCl treatment (Figure 7B). However, there was a interstrain difference after ethanol treatment regarding the LTD magnitude (Figure 7C). Regarding the LTD magnitude, the 2-way ANOVA (Figure 5C) showed a significant effect of strain ($F_{(2,28)}=5.903$, $p=0.007$), no significant effect of treatment ($F_{(1,28)}=1.362$, $p=0.253$) and no significant effect of their interaction ($F_{(2,28)}=1.749$, $P = 0.192$). Tukey *Post hoc* analysis revealed no differences in LTD magnitude for control slices between strains (SD vs W: $p=0.917$; SD vs LE: $p=0.878$; LE vs W: $p=0.532$) and a decrease of LTD magnitude in ethanol slices from LE rats compared with other strains (LE vs W: $p=0.002$; LE vs SD : $p=0.037$; SD vs W: $p=0.805$). There was no effect of ethanol in both SD (ethanol: $-30.811 \pm 4.788\%$, $n = 4$ slices, $N=4$ rats; NaCl: $-31.460 \pm 3.877\%$, $n=3$, $N=3$; $p=0.939$) and W rats (ethanol: $-35.314 \pm 3.157\%$, $n=6$, $N=3$; NaCl: $-34.568 \pm 2.36\%$, $n=6$, $N=3$; $p=0.908$) with 100% of tested slices being unaffected by ethanol. In contrast, in LE rats, ethanol decreased LTD magnitude compared with control (ethanol: $-13.452 \pm 5.210\%$, $n=9$, $N=6$; NaCl: $-27.655 \pm 4.615\%$, $n=6$, $N=3$; $p=0.022$) and it is striking to notice that this occurred in 2/3 slices tested while the remaining ones showed unaltered LTD (Supplemental Figure 3).

Peak of BECs 30 min after i.p. injection of a dose of 3g/kg showed no difference between the strains (Supplementary Figure 4A). A difference appeared only at the second timepoint suggesting a faster metabolism of ethanol by the LE as compared to the SD but not the W rats (Supplementary Information and Supplementary Figure 4A-B).

Discussion

This study suggests that the LE strain is the ideal one to investigate the binge drinking behaviour in a paradigm in which the IA2BC procedure is used prior to the operant self-

administration procedure. Hippocampal synaptic plasticity is also specifically impaired in the LE strain after BD exposure.

Escalation of ethanol drinking and ethanol preference was observed only in the LE strain and was similar to that we and other studies previously described in LE rats[10,26]. Long-Evans rats reached 5g of pure ethanol/kg bodyweight/d that is more than 10 times higher than W rats and twice than SD rats. They also reached an ethanol-preferring phenotype since their ethanol preference exceeded 50% at the last session while the ethanol preference of the two other strains stayed very low and did not escalate their preference. The fact that we observed very low levels of both ethanol intake and preference in both SD and W rats is in contrast with results of previous studies that showed a robust escalation[9,10]. Most of the studies that employed the IA2BC procedure used LE and W rats and some studies used SD rats; escalation has been reported for the three strains (see for review [7]). Numerous factors may contribute to our results showing the lack of escalation in both W and SD rats. First, our housing conditions and our IA2BC procedure may have influenced the propensity for drinking escalation. Our rats are housed with no enrichment in their isolated ventilated home cages and we started alcohol access of the IA2BC during the light cycle. In procedures that start the session in the light cycle, rats seem to consume lower levels of ethanol for several hours after the first 30 min of BD (possibly until the dark cycle begins), and then consume high levels during the dark cycle[7]. Unfortunately, we did not measure ethanol intake during the first 30 min of alcohol access to see if this could have influenced the drinking pattern of the different strains. The amount of consumed alcohol after escalation is variable in LE (3-4 to 5-6 g/kg/24h), W (3.4 to 5.8 g/kg/24h) and SD (4.3 to 5.6 g/kg/24h) rats[7]. Another study that used a 3 bottle-choice procedure (water, ethanol 5% and ethanol 20%) reported very little or no escalation in ethanol intake with a two-fold-difference in ethanol intake in W rats from 5 different suppliers[12]. Overall, inter-strain, inter-supplier, and inter-laboratory variability in the amount of ethanol consumed and in the drinking escalation function has to be considered[7]. It is striking to note that genetic and epigenetic factors in the hippocampus may be involved in the drinking pattern in the IA2BC paradigm. In this regard, it has been shown that W rats differentially consuming alcohol in the IA2BC paradigm differ in epigenetically determined expression of BDNF exon VI in the hippocampus during early abstinence[27].

Interstrain differences were also observed in the operant procedure indicating difference in learning abilities. During the first overnight sessions of operant self-administration, W rats displayed the lowest level of active lever responses while SD rats displayed a better discrimination of the active lever. During the 15min FR3 sessions, the W rats displayed a better discrimination of the active lever. During the 1h FR1 and 30min FR3 sessions, LE rats displayed higher level of active lever responses compared to other strains. The interstrain difference in the level of ethanol intake observed in the BD operant session (15min, FR3) was similar to that observed in the IA2BC procedure with the LE strain consuming the highest and W the lowest amount of ethanol and the SD were intermediate. Thus, the level of ethanol intake during the escalation procedure could predict the interstrain differences in the operant BD procedure. From the present study the most important result is that we can propose that the LE strain seems to be the ideal strain in our recently developed animal model useful in the study of BD.

Learning of operant self-administration is greatly influenced by prior drinking history from intermittent access. The IA2BC procedure may be effective in inducing significant level of ethanol self-administration in the operant procedure when sucrose is not used[25]. Carnicella et al. (2014) have shown in LE rats that the success rate is 70% to reach the 0.4g/kg bodyweight/30min in the operant procedure after the IA2BC without using sucrose[7]. Thus, in the whole population of LE rats, 20% did not reach the 4g/kg bodyweight/d in the IA2BC procedure and thereafter 10% did not reach the 0.4g/kg bodyweight/30min cut-off in the operant procedure, leading to a 70% success rate[7]. Without the IA2BC procedure the success rate was only 40%[7]. In our study, 77% of animals from the LE group (23/30), 0% (0/10) from the SD group and only 3% (1/30) of the animals of the W group reached the 4g/kg bodyweight/d cut-off in the IA2BC procedure. Furthermore, in the operant procedure, 90% of the animals from the LE group (27/30), 80% (8/10) from the SD group and only 7% of the animals from the W group (2/30) reached the 0.4g/kg bodyweight/15min cut-off. Our results on the LE strain are very similar to those of Carnicella et al. (2014) and confirm that the IA2BC is able to facilitate ethanol self-administration in the operant procedure and that the LE strain is the ideal strain. Even though none of the SD rats reached the threshold of 4g/kg in the IA2BC procedure, 80% of rats reached the intoxication threshold of 0.4g/kg in operant self-administration procedure but remained below the level of drinking of the LE rats. Therefore, the level of consumption in the IA2BC procedure is not predictive of the level of consumption in the operant paradigm.

The difference in the levels of ethanol intake in the IA2BC between strains are similar to that in the operant self-administration procedure with the FR3 schedule of our model useful in the study of BD: LE > SD > W rats. Previous study has also demonstrated that LE rats consumed more ethanol than other strains such as the W and SD rats[2]. However, using a different procedure such as the sucrose-fading procedure, previous study has shown that LE rats drink less ethanol than W and SD rats[28]. Overall our results confirm that ethanol drinking propensity, ethanol drinking escalation in the IA2BC procedure and ethanol BD in our model using the operant self-administration procedure are strongly interstrain dependent. Regarding the IA2BC procedure our results and those of others suggest that the LE strain is ideal[29]. We show here that this strain is also the ideal one in the model useful in the study of BD we developed by combining the IA2BC procedure with the 15min session of FR3 20% ethanol operant self-administration procedure. Our results on BD using the LE strain are in line with those of previous studies that demonstrated high level of ethanol intake in this strain compared with the other rat strains. Our results also show that LE rats are the fastest consumers with the shortest time to reach 50% of their maximum consumption in 15min. Thus, LE rats consume a large quantity of alcohol in just a few minutes making them excellent binge drinkers. Our analysis of the cumulative number of lever presses further confirmed that the LE strain is the ideal one regarding face validity of an animal model useful in the study of human BD behavior. Our data show that LE rats display a very low latency to get the first alcohol reward (40sec), and to reach their 50% of maximum in the number of active lever presses in only 4min to consume 11 rewards. The two other strains, displayed 6 times higher latency to get their first ethanol reward and about 2 times more time to reach their 50% of maximum in the number of active lever presses with only 7 and 3 rewards for SD and W, respectively. It is noteworthy that previous studies have suggested that LE rats reach high BECs with lower levels of ethanol intake compared to W, SD and alcohol-preferring (P or Sardinian) rats[9–11]. Long-Evans rats may thus experience subjective response to the rewarding effects of ethanol at a lower level of ethanol intake and consequently may display higher liability to escalate their ethanol intake and initiate BD behavior compared with other rat strains. Those results are in contrast with our results. We did not find higher BECs in LE rats compared with the two other strains at 30 minutes after ethanol injection whereas LE rats displayed lower BECS at 240 minutes. The decrease in BECs between 30 and 240min was higher in LE compared with that of SD rats but not that of W rats. Quick cycles of elevated and low BECs

have been suggested to be an important component of the BD phenotype's establishment. In accordance with the withdrawal kindling hypothesis in humans such repeated cycles induce structural and functional brain changes and have been associated with cognitive and affective deficits[30]. A more complete study on interstrain differences in ethanol metabolism needs to be carried out since we did not measure BECs after a voluntary BD session of self-administration and after several weeks of BD.

We observed that about 2/3 of our population of LE rats developed BD behavior, thus revealing inter-individual susceptibility to develop this behavior as observed in humans. A recent study demonstrated that biological aspects related to ethanol preference were uncovered to be due to the individual animal differences in outbred rats[1]. Further studies are needed in order to explore brain mechanisms mediating this liability. In addition it is noteworthy that our SD rats do not exhibit similar alcohol consumption levels as reported in a study from the Bartlett's laboratory[9] and rising again the point made by Palm et al. showing strong differences in ethanol consumption within a same strain but from different suppliers[12]. This makes somehow very difficult to compare studies from different places around the globe and all the housing conditions should always be detailed since we observed that the delay between the arrival and the beginning of the drinking sessions, or the number of animals per cage, or the level of enrichment can greatly affect the levels of ethanol consumption and thus escalation and BD propensity (personal observations).

Most of the studies on voluntary BD in rodents are using the drinking-in-the-dark model in inbred mice[31]. The vast majority of studies on operant ethanol self-administration in rodents has been carried out in rats and only very few studies has been published in mice[32]. Rats have been suggested to be the smart choice for studies on behavioral genetics and particularly in the addiction field[33]. We recently proposed a new procedure in outbred rats to mimic BD behavior and we demonstrated that our model displays good face validity and predictive validity[13–16]. Our animal model that is useful in the study of BD is based on the combination of the IA2BC procedure followed by 15min daily session of 20% ethanol operant self-administration[14]. The use of heterogeneous outbred rodents in constant controlled conditions seems to be advantageous for translatability into human BD behavior[1,16]. Here, we provide new data demonstrating that the LE strain is the ideal strain to study BD behavior. Further studies are still needed in order to investigate the effects of sex and of suppliers.

Despite the use of constant controlled conditions, previous studies on heterogeneous outbred W rats have stressed out the influence of different suppliers on ethanol intake in the IA2BC procedure and have also shown the influence on naltrexone response[34].

It is striking to note that we observed the same interstrain differences in both the IA2BC and operant self-administration procedures. The two procedures are completely different and may require different neuroadaptations and brain processes: drinking driven either by the bottle availability and the low level of effort to get ethanol (IA2BC in the homecage) or ethanol-associated cues (operant self-administration procedure in the novel environment of the skinner box) associated with the higher demand of pressing on a lever (motivational aspects). By combining two procedures, IA2BC and operant self-administration, this paradigm asks the question of the relevance of each procedure or their combination regarding AUD. The IA2BC procedure induces a facilitation of ethanol intake with an escalation of the intake assessed with two bottles and also facilitates future ethanol drinking in the operant self-administration task[7]. Six to seven weeks of IA2BC induce a long-lasting increase in both ethanol intake and preference even after 40 days of abstinence[10]. The combination of the two procedures has been suggested to be useful to study alcohol abuse[7]. The two procedures (IA2BC (3 days a week) and operant self-administration (5 days a week)) are characterized by repeated cycles of excessive drinking and abstinence (unlike continuous ethanol access paradigm) that may induce neuro-adaptations relevant to AUD, thus rendering LE rats sensitive to AUD treatments such as acamprosate and naltrexone[10]. In our own studies, we demonstrated that both rats exposed to either IA2BC paradigm or rats made dependent in the post-dependent state model and tested in operant self-administration procedure are sensitive to a HDAC inhibitor[26]. Finally, another study that investigated strain differences in SD *versus* inbred Lewis rats suggested that operant self-administration studies are more highly predictive of the reinforcing properties of ethanol[35].

Based on the results of our behavioral experiments, we wished to know (or needed to check) whether electrophysiological properties of neuronal network were the same in the different strains and whether ethanol-induced alterations of these properties were similar.

For this purpose we chose a passive exposure to ethanol (same level of ethanol exposure for every strain) and we analyzed synaptic LTD magnitude in the hippocampus, an electrophysiological signal related to cognitive function which is sensitive to ethanol in rodents

[21,36]. Our results on BD using the LE strain are in line with those of previous studies that demonstrated high susceptibility to ethanol-induced brain and liver damages in this strain compared with the other rat strains. Furthermore, our results showing that LTD in hippocampal slices is almost abolished 48h after a BD exposure only in the adult LE strain had never been found before and reveals a specific sensitivity of such synaptic property in this strain. It is striking that our measurements in slices from control animals demonstrate that there is no strain effect on LTD magnitude in naïve conditions (i.e., before ethanol exposure), hence, reinforcing the interest to study LE rats in the context of ethanol exposure. In addition, it is striking to notice that we found that about 2/3 of our population of LE rats developed BD behavior and we also found that about 2/3 of slices from LE rats were sensitive to BD exposure on hippocampal synaptic plasticity. Altogether, our results suggest that the LE strain is of particular interest to model BD behavior in humans regarding both behavior and cognitive deficits. Regarding the other strains and in contrast to LE, lack of ethanol sensitivity of synaptic plasticity in adult SD rats has been shown previously [37] and is reflected in learning behavior[38]. For adult W rats, the lack of ethanol sensitivity of synaptic plasticity is also a new result since in this strain, only one paper showed an abolition of LTD although after chronic ethanol exposure [39]. Interestingly, LTD abolition found in adult LE rats 48h after two BD exposures is similar to LTD abolition in SD rats exposed to the same ethanol procedure but during adolescence [17, 18], suggesting again a specific sensitivity of LE rats to ethanol. It is difficult to explain how the different responses to BD exposure may occur. However, induction of LTD was performed using a PLFS200-900 stimulation known to trigger NMDA-dependent LTD on adolescent SD rats[24,40] and on both adolescent and adult W rats[41] and LE rats[39]. It is thus unlikely that difference in sensitivity to ethanol arises from a different form of LTD triggered in our experimental conditions. Another possibility would be that ethanol triggered different neuroadaptations in the different strains, but to the best of our knowledge, no study has yet addressed this issue. Further understanding the mechanisms in the different responses to ethanol was out of the scope of the present study and will require dedicated studies.

This study has some limitations that need to be pointed out. First our aim was not to explore a causal link between the propensity to drink ethanol and the sensitivity to the synaptic plasticity impairing effect of acute ethanol. Our goal was to focus on interstrain differences in two different paradigms when investigating chronic BD behavior on the one hand and the

impact of acute BD exposure on the other hand. Second, we did not use female because analysis of gender difference was beyond the scope of the present study. In addition, the effect of different suppliers was not investigated because it would be more appropriate to use one strain from at least 3 different suppliers and it becomes the main objective of a new whole study. It is also important to notice that the lack of escalation in ethanol drinking in the IA2BC paradigm in our W and SD rats potentially due to numerous factors (strain, procedure, supplier) may have influenced the propensity of these 2 strains to BD behavior in the operant paradigm. Finally, since BECs were measured at 14 weeks of age we cannot rule out potential effects of age on ethanol metabolism.

In summary, the present study brings new data regarding the genetic vulnerability to BD behavior and also to ethanol-induced deficits in synaptic plasticity. Further studies are needed in order to identify genes and neuronal mechanisms involved in this vulnerability and to explore the effect of gender and different suppliers.

Funding and Disclosure. PS and CD have a PhD fellowship funded by the French Ministry of Superior Education, Research and Innovation. All authors reported no biomedical financial interests or potential conflicts of interest related to the work of the present study.

Acknowledgements. The data that support the findings of this study are available on request from the corresponding author. This study was supported by the Conseil Régional des Hauts-de-France (CR HdF), the Inter-ministerial Mission for the fight against drugs and drug addiction (MILEDCA)-National Institute of Health and Medical Research (INSERM) -Institute of Cancer (InCa) (Contracts A08095ES and A09119ES), Institut de France/Fondation NRJ “Biology of addiction” 2009 grant and the National Academy of Medicine. PS is supported by a doctoral fellowship from the CR HdF and INSERM and CD is supported by a doctoral fellowship from the Ministry of Higher Education of Research and Innovation.

Author contributions. J.J, O.P. and M.N. designed research; P.S., C.D., V.J. and J.J. performed research; P.S., C.D. and J.J. analyzed data; P.S., J.J, C.D., O.P. and M.N. wrote the manuscript.

References

1. Augier E, Barbier E, Dulman RS, Licheri V, Augier G, Domi E, et al. A molecular mechanism for choosing alcohol over an alternative reward. *Science*. 2018;360:1321–1326.
2. Khanna JM, Kalant H, Shah G, Sharma H. Comparison of sensitivity and alcohol consumption in four outbred strains of rats. *Alcohol*. 1990;7:429–434.
3. DeNucci SM, Tong M, Longato L, Lawton M, Setshedi M, Carlson RI, et al. Rat Strain Differences in Susceptibility to Alcohol-Induced Chronic Liver Injury and Hepatic Insulin Resistance. *Gastroenterol Res Pract*. 2010;2010:1–16.
4. Aufrère G, Bourhis B Le, Beaugé F. Ethanol intake after chronic intoxication by inhalation of ethanol vapour in rats: Behavioural dependence. *Alcohol*. 1997;14:247–253.
5. Wayner MJ, Greenberg I, Tartaglione R, Nolley D, Fraley S, Cott A. A new factor affecting the consumption of ethyl alcohol and other sapid fluids. *Physiol Behav*. 1972;8:345–362.
6. Wise RA. Voluntary ethanol intake in rats following exposure to ethanol on various schedules. *Psychopharmacologia*. 1973;29:203–210.
7. Carnicella S, Ron D, Barak S. Intermittent ethanol access schedule in rats as a preclinical model of alcohol abuse. *Alcohol*. 2014;48:243–252.
8. Moorman DE, Aston-Jones G. Orexin-1 receptor antagonism decreases ethanol consumption and preference selectively in high-ethanol-preferring Sprague–Dawley rats. *Alcohol*. 2009;43:379–386.
9. Bito-Onon JJ, Simms JA, Chatterjee S, Holgate J, Bartlett SE. Varenicline, a partial agonist at neuronal nicotinic acetylcholine receptors, reduces nicotine-induced increases in 20% ethanol operant self-administration in Sprague-Dawley rats. *Addict Biol*. 2011. 2011. <https://doi.org/10.1111/j.1369-1600.2010.00309.x>.
10. Simms JA, Steensland P, Medina B, Abernathy KE, Chandler LJ, Wise R, et al. Intermittent access to 20% ethanol induces high ethanol consumption in Long-Evans

- and Wistar rats. *Alcohol Clin Exp Res*. 2008;32:1816–1823.
11. Sabino V, Kwak J, Rice KC, Cottone P. Pharmacological Characterization of the 20% Alcohol Intermittent Access Model in Sardinian Alcohol-Preferring Rats: A Model of Binge-Like Drinking. *Alcohol Clin Exp Res*. 2013. 2013. <https://doi.org/10.1111/acer.12008>.
 12. Palm S, Roman E, Nylander I. Differences in voluntary ethanol consumption in Wistar rats from five different suppliers. *Alcohol*. 2011. 2011. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2010.11.005>.
 13. González-Marín MC, Lebourgeois S, Jeanblanc J, Diouf M, Naassila M. Evaluation of alcohol use disorders pharmacotherapies in a new preclinical model of binge drinking. *Neuropharmacology*. 2018;140:14–24.
 14. Jeanblanc J, Sauton P, Jeanblanc V, Legastelois R, Echeverry-Alzate V, Lebourgeois S, et al. Face validity of a pre-clinical model of operant binge drinking: just a question of speed. *Addict Biol*. 2018;23:643–652.
 15. Lebourgeois S, González-Marín MC, Jeanblanc J, Naassila M, Vilpoux C. Effect of N - acetylcysteine on motivation, seeking and relapse to ethanol self-administration. *Addict Biol*. 2018;23:643–652.
 16. Jeanblanc J, Rolland B, Gierski F, Martinetti MP, Naassila M. Animal models of binge drinking, current challenges to improve face validity. *Neurosci Biobehav Rev*. 2018. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.05.002>.
 17. Rolland B, Naassila M. Binge Drinking: Current Diagnostic and Therapeutic Issues. *CNS Drugs*. 2017;31.
 18. Schulteis G, Archer C, Tapert SF, Frank LR. Intermittent binge alcohol exposure during the periadolescent period induces spatial working memory deficits in young adult rats. *Alcohol*. 2008;42:459–467.
 19. Wilson S, Bair JL, Thomas KM, Iacono WG. Problematic alcohol use and reduced hippocampal volume: a meta-analytic review. *Psychol Med*. 2017;47:2288–2301.
 20. Kutlu MG, Gould TJ. Effects of drugs of abuse on hippocampal plasticity and

hippocampus-dependent learning and memory: Contributions to development and maintenance of addiction. *Learn Mem.* 2016.

21. Silvestre de Ferron B, Bennouar K-E, Kervern M, Alaux-Cantin S, Robert A, Rabiant K, et al. Two Binges of Ethanol a Day Keep the Memory Away in Adolescent Rats: Key Role for GLUN2B Subunit. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2016;19:pyv087.
22. Drissi I, Deschamps C, Fouquet G, Alary R, Peineau S, Gosset P, et al. Memory and plasticity impairment after binge drinking in adolescent rat hippocampus: <scp>GluN2A</scp> / <scp>GluN2B NMDA</scp> receptor subunits imbalance through <scp>HDAC2</scp>. *Addict Biol.* 2020;25:e12760.
23. Wise R a. Voluntary ethanol intake in rats following exposure to ethanol on various schedules. *Psychopharmacologia.* 1973;29:203–210.
24. Silvestre de Ferron B, Bennouar K-E, Kervern M, Alaux-Cantin S, Robert A, Rabiant K, et al. Two Binges of Ethanol a Day Keep the Memory Away in Adolescent Rats: Key Role for GLUN2B Subunit. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2016;19:pyv087.
25. Simms JA, Bito-Onon JJ, Chatterjee S, Bartlett SE. Long-Evans Rats Acquire Operant Self-Administration of 20% Ethanol Without Sucrose Fading. *Neuropsychopharmacology.* 2010;35:1453–1463.
26. Simon-O’Brien E, Alaux-Cantin S, Warnault V, Buttolo R, Naassila M, Vilpoux C. The histone deacetylase inhibitor sodium butyrate decreases excessive ethanol intake in dependent animals. *Addict Biol.* 2015;20:676–689.
27. Peregud D, Stepanichev M, Gulyaeva N. Drinking Pattern in Intermittent Access Two-Bottle-Choice Paradigm in Male Wistar Rats Is Associated with Exon-Specific BDNF Expression in the Hippocampus During Early Abstinence. *J Mol Neurosci.* 2020. 26 June 2020. <https://doi.org/10.1007/s12031-020-01645-1>.
28. Gauvin D V., Moore KR, Holloway FA. Do rat strain differences in ethanol consumption reflect differences in ethanol sensitivity or the preparedness to learn? *Alcohol.* 1993. 1993. [https://doi.org/10.1016/0741-8329\(93\)90051-O](https://doi.org/10.1016/0741-8329(93)90051-O).
29. Moorman DE, Aston-Jones G. Orexin-1 receptor antagonism decreases ethanol consumption and preference selectively in high-ethanol–preferring Sprague–Dawley

- rats. *Alcohol*. 2009;43:379–386.
30. Stephens DN, Duka T. Cognitive and emotional consequences of binge drinking: role of amygdala and prefrontal cortex. *Philos Trans R Soc B Biol Sci*. 2008;363:3169–3179.
 31. Huynh N, Arabian NM, Asatryan L, Davies DL. Murine Drinking Models in the Development of Pharmacotherapies for Alcoholism: Drinking in the Dark and Two-bottle Choice. *J Vis Exp*. 2019. 7 January 2019. <https://doi.org/10.3791/57027>.
 32. González-Marín M del C, Coune F, Naassila M. Vulnerability to ethanol sensitization predicts higher intake and motivation to self-administer ethanol: Proof of the incentive salience sensitization theory? *Addict Biol*. 2019. 24 November 2019. <https://doi.org/10.1111/adb.12833>.
 33. Parker CC, Chen H, Fligel SB, Geurts AM, Richards JB, Robinson TE, et al. Rats are the smart choice: Rationale for a renewed focus on rats in behavioral genetics. *Neuropharmacology*. 2014;76:250–258.
 34. Momeni S, Segerström L, Roman E. Supplier-dependent differences in intermittent voluntary alcohol intake and response to naltrexone in Wistar rats. *Front Neurosci*. 2015;9.
 35. Wilson AW, Neill JC, Costall B. Strain differences in ethanol preference and reinforced behaviour: A comparison of two-bottle choice and operant self-administration paradigms. *Behav Pharmacol*. 1997. 1997. <https://doi.org/10.1097/00008877-199702000-00004>.
 36. Coune F, Silvestre de Ferron B, González-Marín MC, Antol J, Naassila M, Pierrefiche O. Resistance to ethanol sensitization is associated with a loss of synaptic plasticity in the hippocampus. *Synapse*. 2017. 2017. <https://doi.org/10.1002/syn.21899>.
 37. Pyapali GK, Turner DA, Wilson WA, Swartzwelder HS. Age and dose-dependent effects of ethanol on the induction of hippocampal long-term potentiation. *Alcohol*. 1999. 1999. [https://doi.org/10.1016/S0741-8329\(99\)00021-X](https://doi.org/10.1016/S0741-8329(99)00021-X).
 38. Markwiese BJ, Acheson SK, Levin ED, Wilson WA, Swartzwelder HS. Differential effects of ethanol on memory in adolescent and adult rats. *Alcohol Clin Exp Res*. 1998;22:416–421.

39. Thinschmidt JS, Walker DW, King MA. Chronic ethanol treatment reduces the magnitude of hippocampal LTD in the adult rat. *Synapse*. 2003. 2003. <https://doi.org/10.1002/syn.10203>.
40. Kemp N, Bashir ZI. NMDA receptor-dependent and -independent long-term depression in the CA1 region of the adult rat hippocampus in vitro. *Neuropharmacology*. 1997;36:397–399.
41. Kemp N, McQueen J, Faulkes S, Bashir ZI. Different forms of LTD in the CA1 region of the hippocampus: role of age and stimulus protocol. *Eur J Neurosci*. 2000;12:360–366.

Legends of the figures.

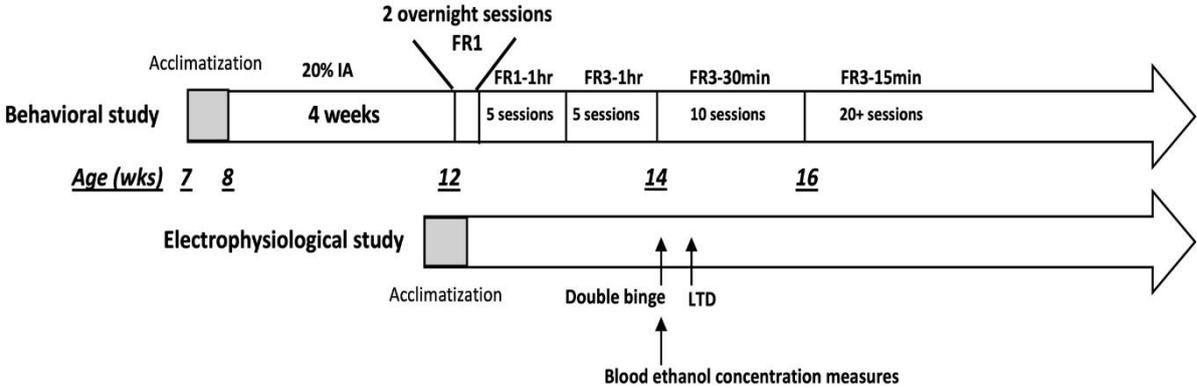


Figure 1: Time line of the experiments and treatments. Two cohorts of animals were used: one for the behavioral study (top) and the other one for electrophysiological study (bottom). The number of weeks, the age (in weeks) of the animals, the number and duration of sessions and the schedule of reinforcement (FR, fixed ratio) are indicated.

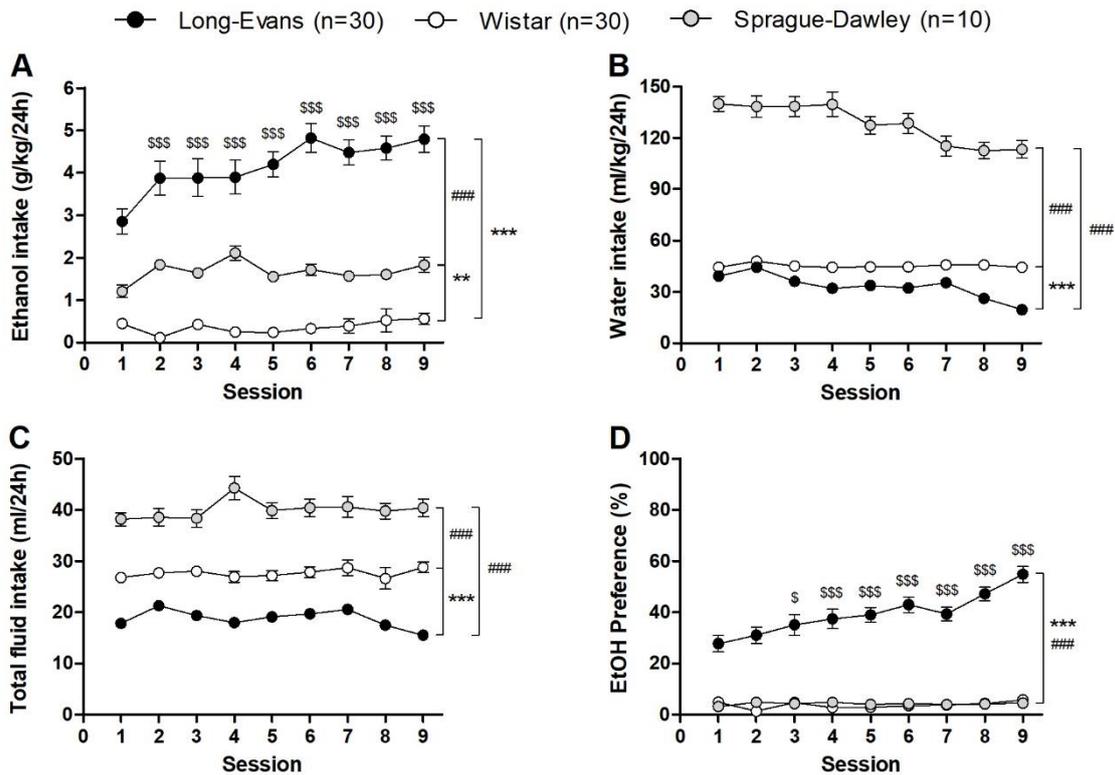


Figure 2: Strain differences (Wistar (W), Long-Evans (LE) and Sprague-Dawley (SD)) in the IA2BC paradigm prior to operant self-administration. (A) LE rats were the only strain to escalate their ethanol intake, and consumed significantly more ethanol across sessions than W rats and SD rats. SD rats consumed significantly more ethanol across sessions than W rats. Results are expressed as a mean \pm SEM of the ethanol intake relative to weight during the 24h sessions (g/kg/24h). (B) SD rats consumed significantly more water across sessions than W and LE rats. W rats consumed significantly more water than LE rats. Results are expressed as a mean \pm SEM of the water intake relative to weight during the 24h sessions (ml/kg/24h). (C) SD rats consumed significantly more fluid in total than W and LE rats, W rats consumed significantly more fluid in total than LE rats. Results are expressed as a mean \pm SEM of the total fluid intake relative to weight during the 24h sessions (ml/24h). (D) LE rats were the only strain to escalate their preference for ethanol, and developed a significantly higher preference than W and SD rats across sessions. Results are expressed as a mean \pm SEM of the proportion of ethanol consumed over total fluid consumed. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ versus W. ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ versus SD. \$ $p < 0.05$, \$\$\$ $p < 0.001$ versus 1st session.

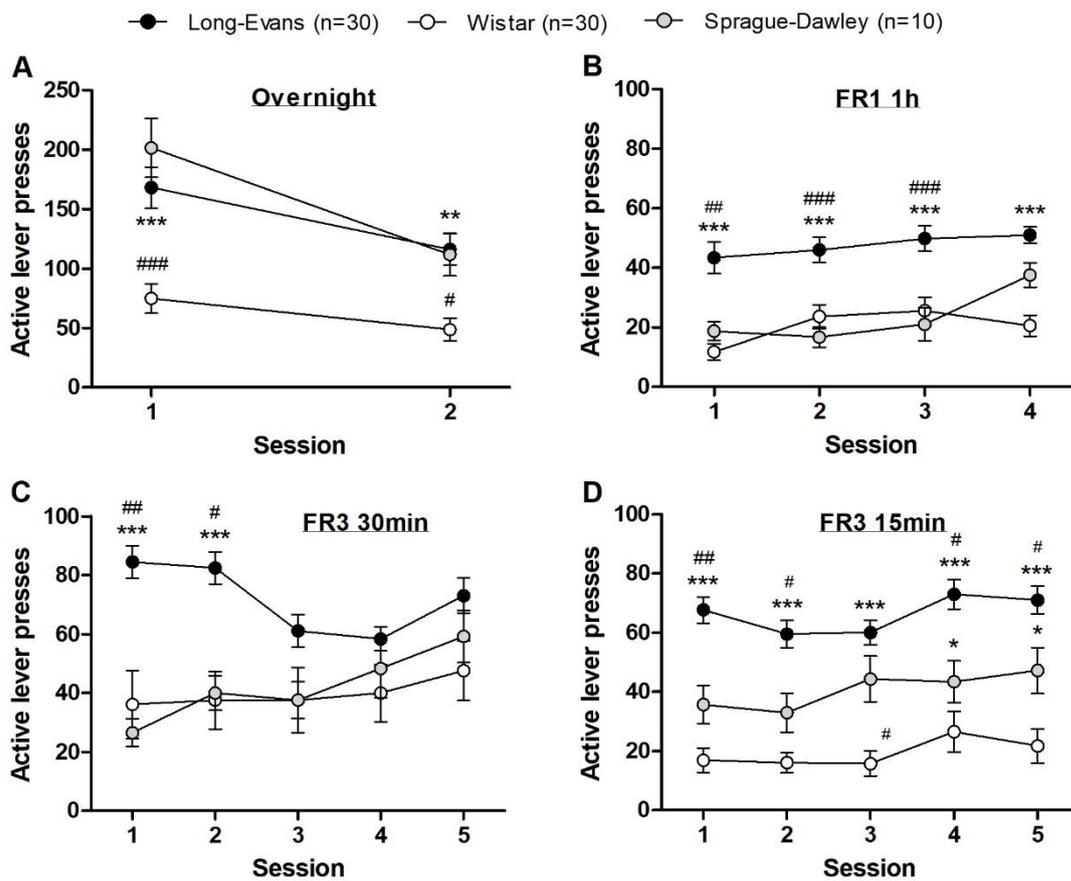


Figure 3: Strain differences in active lever presses during the Operant Self-Administration (OSA) procedure. (A) The LE and SD rats were performing significantly better than the W rats during the 2 overnight (ON) sessions. Results are expressed as a mean \pm SEM of the number of presses on the active lever. ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ versus W. ### $p < 0.001$ versus SD. (B) (C) (D) LE rats were performing significantly better than W and SD rats during the OSA sessions. Results are expressed as a mean \pm SEM of the number of presses on the active lever. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ versus W. # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ versus SD.

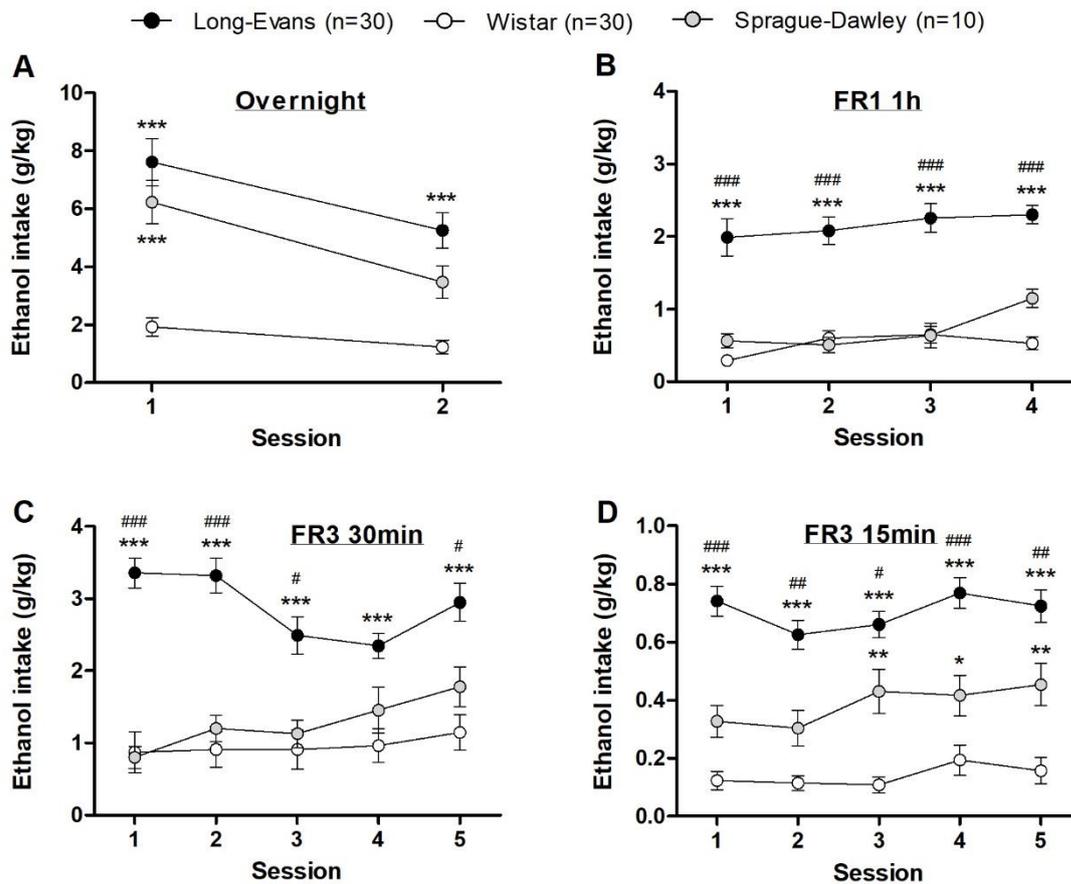


Figure 4: Ethanol intake (g/kg) during the OSA procedure. (A) The LE rats consumed significantly more ethanol during both ON sessions than the W rats, while the SD rats consumed significantly more ethanol than the W rats during the first session. Results are expressed as a mean \pm SEM of the ethanol intake in g/kg. *** $p < 0.001$ versus W. (B) (C) (D) The LE rats consumed significantly more ethanol than the SD and W rats across the OSA sessions. Results are expressed as a mean \pm SEM of the ethanol intake in g/kg. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ versus W. # $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, ### $p < 0.001$ versus SD.

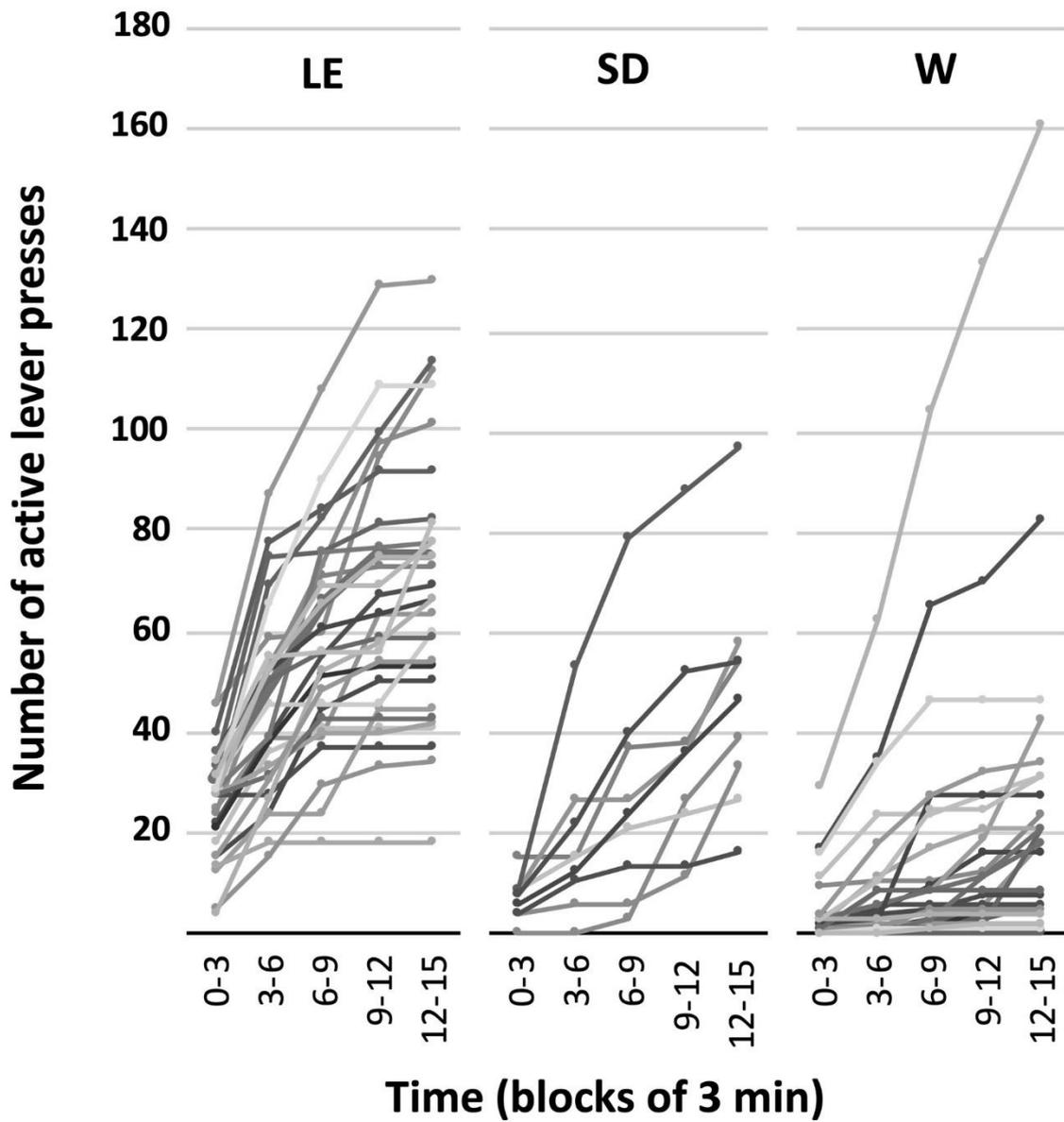


Figure 5: Individual cumulative active lever presses for each strain. Results are presented as cumulative number of active lever presses by bins of 3min.

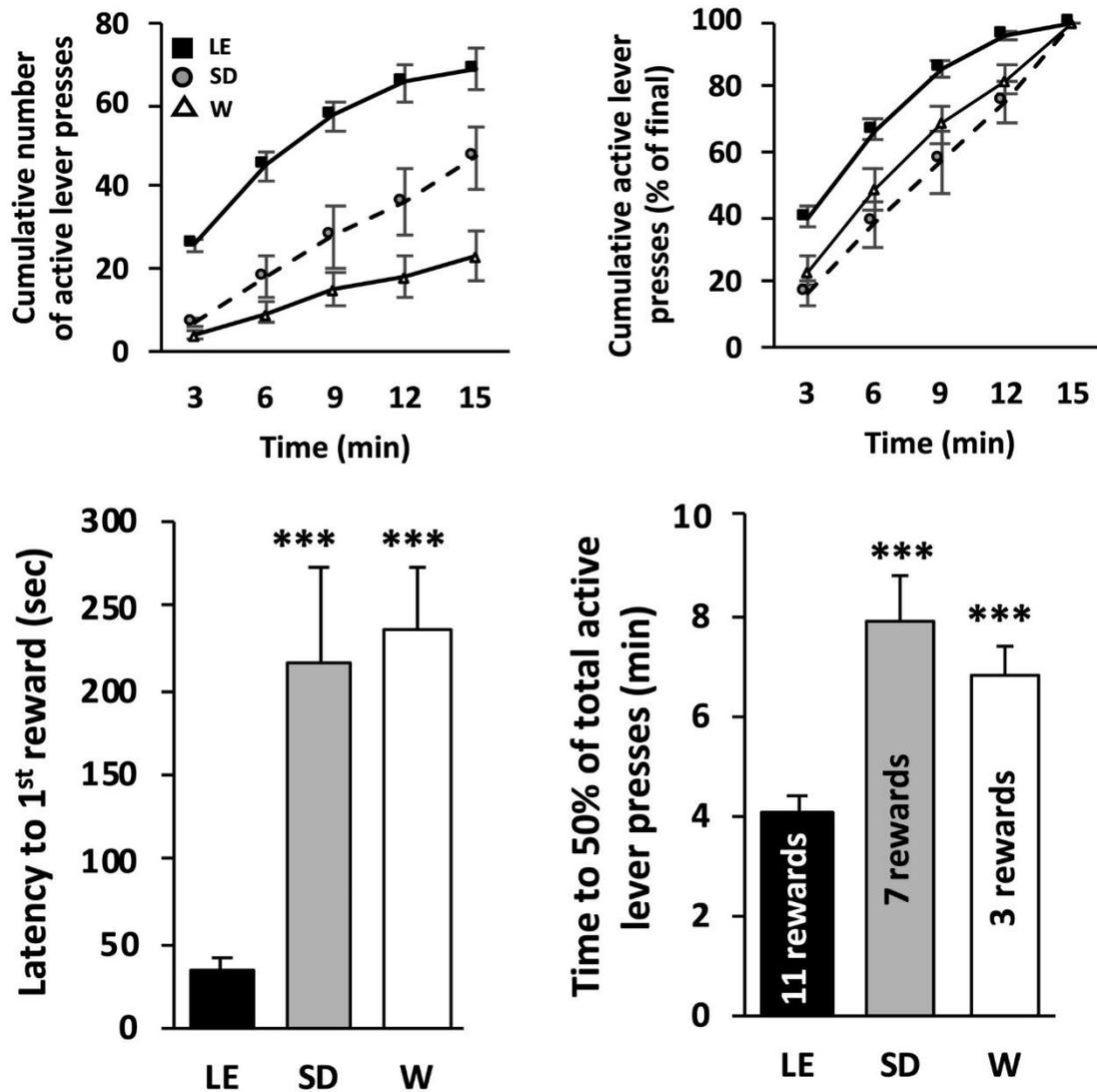


Figure 6: Pattern of ethanol self-administration. **A)** Cumulative active lever presses for the 3 different strains of rats over a typical BD self-administration session. Results are expressed as Mean \pm SEM of active lever presses by bin of 3min. For clarity purpose, no statistical signs were depicted in this panel (see Results section for details). **B)** Cumulative lever presses normalized to total active presses. Results are expressed as Mean \pm SEM of the percentage of final amount of active lever presses. **C)** Latency to obtain the first reward (after 3 active lever presses). Results are expressed as Mean \pm SEM latency in sec. $n = 30$ (LE), 10 (SD), 30 (W). ***: $p < 0.001$ vs LE. **D)** Latency to perform 50% of the total number of active lever presses expressed in Mean \pm SEM. $n = 30$ (LE), 10 (SD), 30 (W). ***: $p < 0.001$ vs LE. The numbers indicated within each bar graph represent the actual number of rewards obtained during the time depicted.

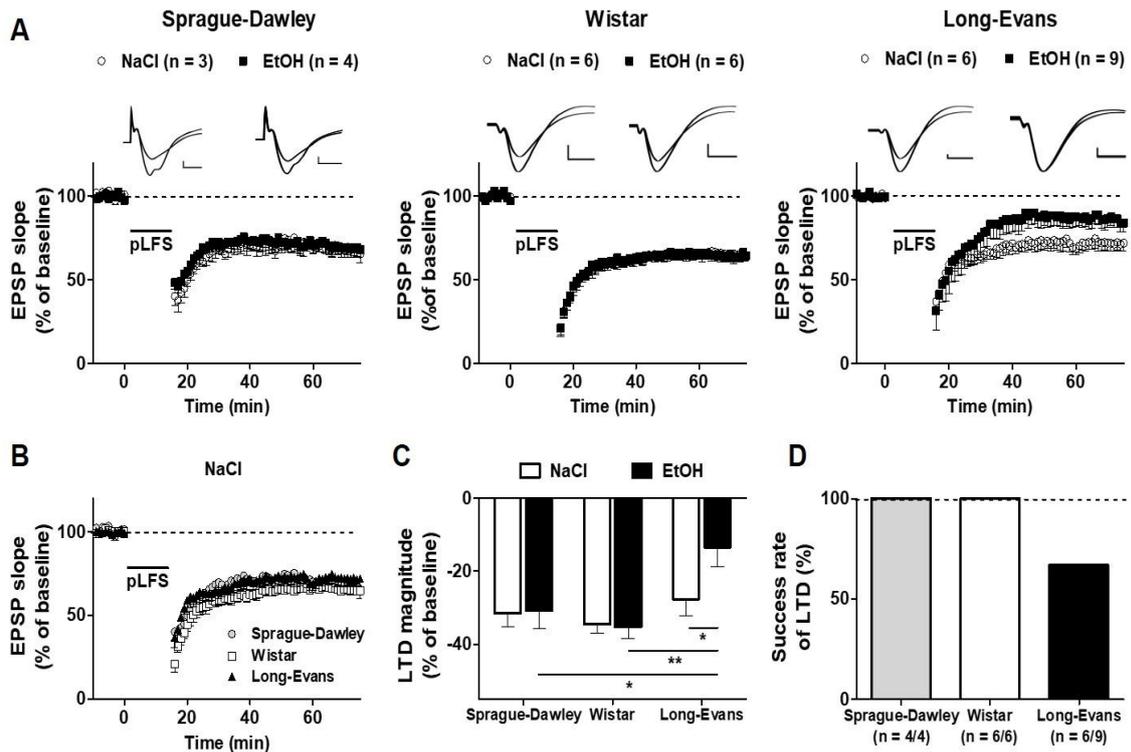


Figure 7: Strain differences in synaptic long-term depression in hippocampus slice 48h after ethanol binges. (A) Top panel: averaged raw signals during baseline and at the end of the recording (vertical calibration bar: 0.1mV; horizontal calibration bar: 5ms). Bottom panel: time course of long-term depression in SD, W and LE rats 48h after ethanol. (B) Time course of LTD in NaCl SD, W and LE rats. (C) Bar graph illustrating the LTD magnitude in NaCl and ethanol conditions between strains. LTD magnitude after ethanol was significantly lower in LE rats compared with W and SD rats. (D) Success rate of LTD between strains. LTD was successfully induced in all slices tested from SD and W rats whereas only 3 slices exhibited LTD in LE rats. Mean values are given \pm SEM. n is the number of slices. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$.

Supplementary Informations

Supplementary Materials and Methods

20% Ethanol operant self-administration. Rats were trained to self-administer ethanol (0.1 mL of a 20% ethanol solution w/v per delivery, 3 sec of timeout). After 2 overnight sessions (FR1) rats were submitted to shorter sessions 5 days per week following a specific order of schedules: FR1 – 1 hour for 5-7 days, FR3 – 1 hour for 5-7 days and finally FR3 – 30 minutes until stable baseline of drinking was reached. To obtain the binge drinking phenotype, the duration of the sessions was then reduced again to 15 min. This reduction in the duration of the sessions leads to intoxicating levels of ethanol self-administration[13]. The number of active and inactive lever presses as well as the number of obtained rewards were recorded during each operant self-administration session. All sessions (except the overnight ones) were conducted between 2:00 pm and 5:00 pm.

Supplementary Results

Strain differences in the intermittent access 2-bottle choice (IA2BC) paradigm

Regarding water intake (fig. 1B), a 2-way RM-ANOVA revealed a significant effect of the group ($F_{(2,533)} = 414.18$, $p < 0.001$), the session ($F_{(8,533)} = 33.46$, $p < 0.001$) and a significant interaction between these 2 factors ($F_{(16,533)} = 4.21$, $p < 0.001$). The *post hoc* test revealed that SD rats consumed significantly more water across all sessions than LE and W rats ($p < 0.001$); and that W rats consumed significantly more water than LE rats from the 3rd to the last session ($p < 0.01$ for sessions 3 to 9).

Regarding total fluid intake (fig. 1C), a 2-way RM-ANOVA revealed a significant effect of the group ($F_{(2,536)} = 119.83$, $p < 0.001$), the session ($F_{(8,536)} = 2.64$, $p < 0.01$) and a significant interaction between these two factors ($F_{(16,533)} = 4.21$, $p < 0.001$). The *post hoc* test revealed that SD rats consumed significantly more fluid in total across all sessions than LE and W rats ($p < 0.001$); and that W rats consumed significantly more fluid in total across all sessions than LE rats ($p < 0.001$).

Regarding preference for ethanol (fig. 1D), a RM-ANOVA revealed a significant effect of the group ($F_{(2,536)} = 116.94$, $p < 0.001$), the session ($F_{(8,536)} = 7.57$, $p < 0.001$) and a significant

interaction between these two factors ($F_{(16,536)} = 8.12, p < 0.001$). The *post hoc* test revealed that LE rats were the only strain to escalate their preference for ethanol ($p = 0.011$ for the 3rd session versus the 1st, $p < 0.001$ for all the following sessions versus the first). They developed a significantly higher preference for the ethanol solution across all sessions than W and SD rats ($p < 0.001$).

Strain differences in the operant self-administration paradigm

In the self-administration chambers, rats have access to 2 levers, one active (results described in the main part of the manuscript) but also an inactive lever on which the presses lead to no consequences. The analysis of the data collected revealed some differences between the 3 strains studied, whatever the schedule used (Supplemental fig.1 A-D). During the 2 overnight sessions, we observed a decrease in the number of inactive lever presses indicating the acquisition of the discrimination between the active and the inactive levers (Suppl. Fig. 1A). The analysis revealed a significant effect of both factors (groups: $F_{(2,67)} = 68.72, p < 0.001$ and sessions: $F_{(1,67)} = 131.77, p < 0.001$) and an interaction between those factors ($F_{(2,67)} = 32.61, p < 0.001$). The *post hoc* test indicated that for both sessions, the SD pressed more on the inactive lever than the 2 other strains ($p < 0.001$). No difference between the W and the LE was observed within each session. Concerning the FR1-1hr sessions the W pressed less on the inactive lever than the SD and the LE (Suppl. Fig. 1B). The 2-way RM ANOVA conducted on these data revealed a significant effect of both factors (groups: $F_{(2,201)} = 18.16, p < 0.001$ and sessions: $F_{(3,201)} = 5.95, p < 0.001$) and an interaction between those factors ($F_{(6,201)} = 3.52, p < 0.01$). The *post hoc* test indicated a significant difference between the W and the LE for all the sessions, and between the W and the SD for sessions 3 and 4. A difference between the SD and the LE group occurred on the session 4 (all p 's < 0.05). For the 5 FR3-30 min sessions (Suppl. Fig. 1C), the analysis revealed a significant effect of the factor groups ($F_{(2,264)} = 46.48, p < 0.001$) but no effect of the factor sessions ($F_{(4,264)} = 0.014, ns$) and no interaction between both factors ($F_{(8,264)} = 0.363, ns$). The Tukey test showed a significant difference between the W and both other strains for all (p 's < 0.05) except for the 5th session. No difference was observed between the LE and the SD for the 5 sessions. Finally, during the 5 stable sessions under the FR3-15 min sessions (Suppl. Fig. 1D), the analysis revealed a significant effect of both factors (groups: $F_{(2,264)} = 26.89, p < 0.001$ and sessions: $F_{(4,264)} = 3.50, p < 0.01$) and an interaction between those factors ($F_{(8,264)} = 3.84, p < 0.001$). Within the W and within the LE

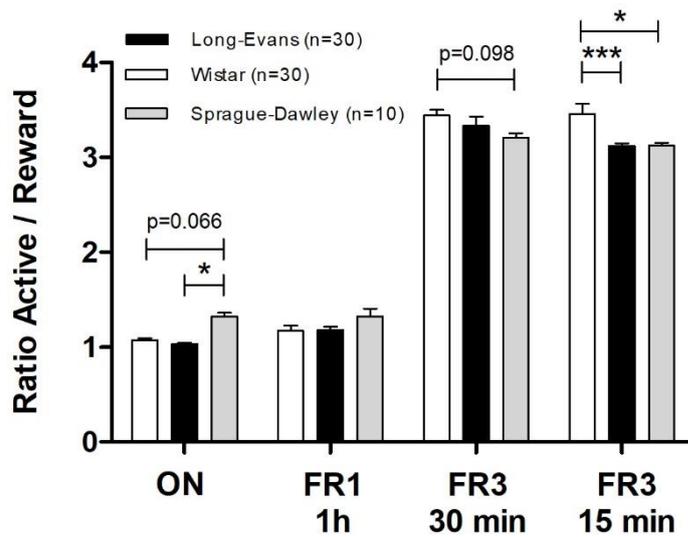
rats, no differences between session was observed whereas a difference was observed within the SD group with session 1 significantly higher than sessions 3 and 5 (p 's < 0.05). Between groups, the W remain very low in their inactive lever presses and significantly different from the other strains except for the last session (p 's < 0.05). Within the session #1, the LE were also significantly different from the SD (p < 0.001).

We wanted to evaluate the ability to learn the task with the best efficacy in regards of the factor strains. We found that the ratio between active lever presses and earned rewards, i.e. efficiency of the rats to get their reward, is slightly different depending on the strain (Supplementary Fig. 2). A 2-way RM-ANOVA revealed a significant effect of the group ($F_{(2,194)} = 3.98$, p < 0.05), the protocol ($F_{(3,194)} = 868.51$, p < 0.001) and a significant interaction between these two factors ($F_{(6,194)} = 4.11$, p < 0.001). The *post hoc* Tukey analysis revealed that SD rats were significantly less efficient during the overnight sessions than the LE rats (p < 0.05), with a similar marginal effect compared with the W rats ($p = 0.066$). We also found a marginal effect of a lesser efficiency during the FR3 30min sessions in the W rats compared with the SD rats ($p=0.098$), and that W rats were significantly less efficient during the FR3 15min sessions than the LE (p < 0.001) and the SD ($p = 0.014$) rats.

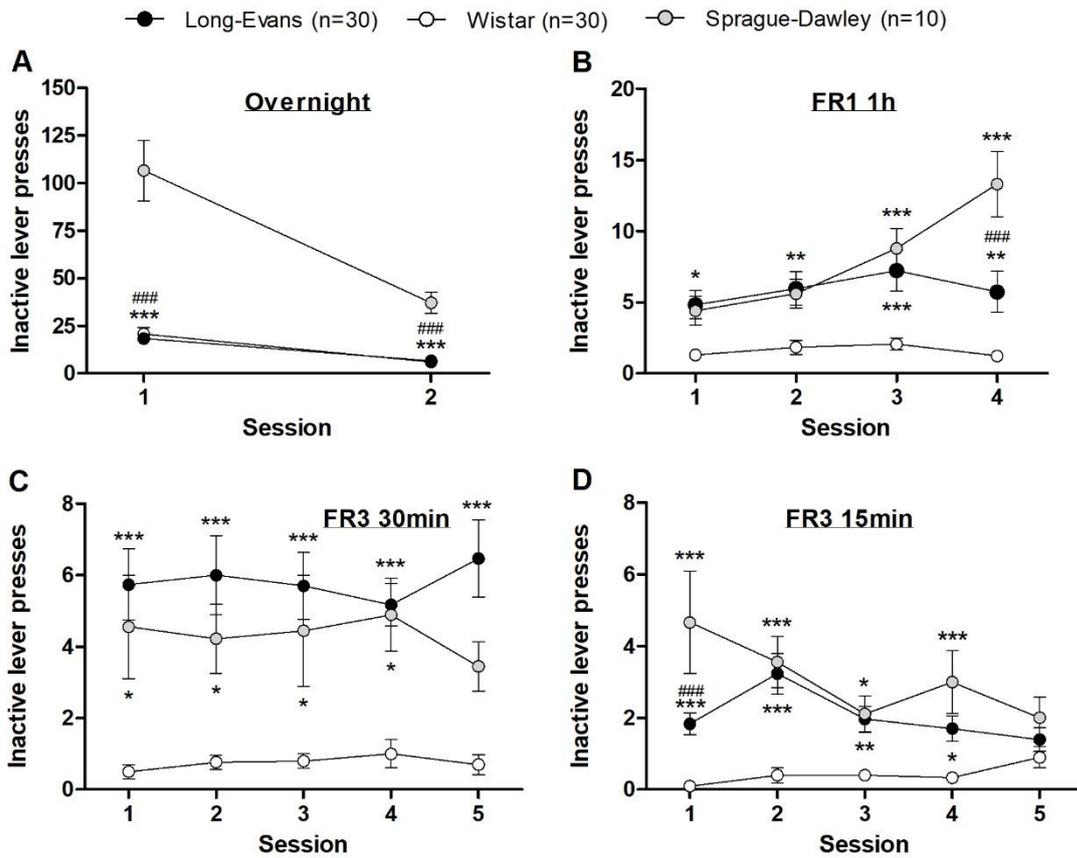
Strain differences in BECs

Thirty min after the injection of ethanol (3g/kg), the 3 strains of rats exhibited similar BECs but differences appear at the 240min time point (Suppl. Fig. 3A). The 2-way RM-ANOVA revealed a main effect of the strain ($F_{(2,12)} = 4.40$, p < 0.05), of the time points ($F_{(1,12)} = 157.73$, p < 0.001) and an interaction between both factors ($F_{(2,12)} = 5.62$, p < 0.05). The *post hoc* test indicated significant difference between time points within each strain of rats (p < 0.001) and no difference between the strains at the 30min time point. However, there is a significant difference between the BECs observed in the LE group vs the two other strains (p < 0.05) at the second timepoint (240 min). The LE rats metabolized faster ethanol as shown in Suppl. Fig. 3B. The analysis of the percentage of decrease in BECs between the 2 timepoints revealed a significant effect of the strain ($F_{(2,12)} = 12.30$, p < 0.01). the post hoc test showed a difference only between the W and the LE rats (p < 0.001).

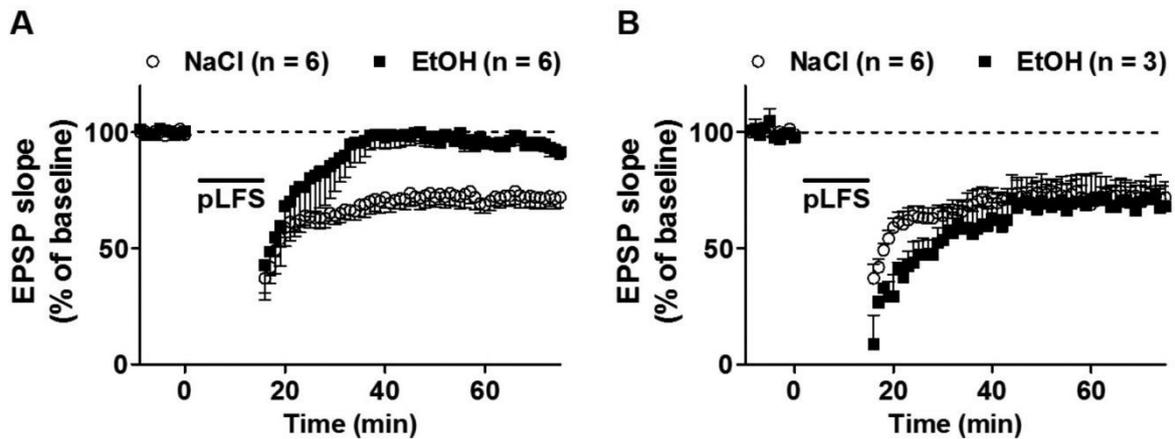
Supplementary Legends of Figures



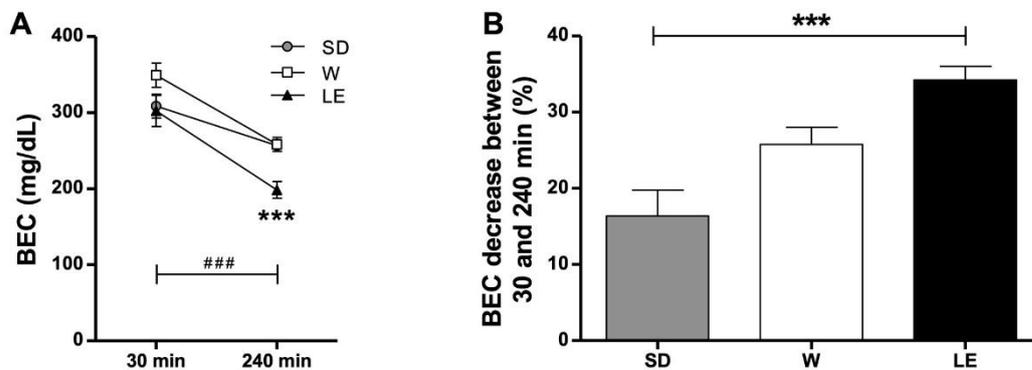
Supplemental figure 1: Strain differences in efficiency during the OSA procedure. The SD rats were the least efficient strain during the overnight sessions, while the W rats were the least efficient strain during the Fixed Ratio 30min (FR3 30min) and Fixed Ratio 15min (FR3 15min) sessions, pressing the active lever more times than necessary to earn a reward. Results are expressed as a mean \pm SEM of the ratio between active lever presses and reward delivery. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$.



Supplementary figure 2: Strain differences in inactive lever presses during the OSA procedure. (A) The SD rats were pressing the inactive lever significantly more than the LE and W rats during the ON sessions. Results are expressed as a mean \pm SEM of the number of presses on the inactive lever. *** $p < 0.001$ versus W. ### $p < 0.001$ versus SD. (B) (C) (D) All strain correctly learned the task through the OSA procedure, with fewer inactive lever presses across the different protocols. The W rats pressing the inactive lever significantly less is mainly due to less presses overall than the other strain. Results are expressed as a mean \pm SEM of the number of presses on the inactive lever. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ versus W. # $p < 0.05$, ### $p < 0.001$ versus SD.



Supplemental figure 3: Differences in response to ethanol in LE rats. (A) Long-term synaptic depression is abolished 48h after ethanol binges in 6 slices recorded from 4 animals. (B) Long-term depression is unaffected after ethanol binges in 3 slices recorded from 2 animals. n is the number of slices and N the number of animals. Overall, two-third of LE slices were sensitive to ethanol and showed an abolition of LTD.



Supplemental figure 4: Blood ethanol concentration. Naïve SD, W and LE rats received an i.p. injection of an ethanol solution (20% v/v, 3 g/kg) and blood samples were collected from the sublingual vein 30 and 240 min after injection. A) Blood ethanol concentrations are expressed as Mean \pm SEM expressed in mg/dL. n = 5 in each group. ***: p < 0.001 vs. SD and vs. W; ###: p < 0.001 between 30 and 240 min within each strain. B) Decrease in BEC within strains between the 30 min and the 240 min timepoint blood collection. N = 5 in each group. ***: p < 0.001.

DISCUSSION ET PERSPECTIVES

Nous avons décidé de séparer cette partie de discussion en plusieurs thématiques par soucis de lisibilité et de compréhension. Nous discuterons ainsi dans un premier temps des différents aspects et limites des modèles de *BD* et de PdD que nous avons utilisés. Dans un second temps, nous aborderons nos résultats concernant la relation entre *BD* et PdD, ainsi que leurs limites et les perspectives qu'ils ouvrent. Enfin, nous aborderons de la même manière les conséquences du *BD* sur la transmission DAergique mésolimbique, et leurs implications dans la PdD. Les différences liées au sexe mises en évidence seront abordées à chaque fois.

A. Modélisation animale du *Binge Drinking* et de la prise de décision

1. Modélisation animale du *Binge Drinking* et vulnérabilité génétique : différences liées à la souche de rat et au sexe

a. Différences liées à la souche de rat : le Long-Evans comme souche idéale

La recherche préclinique souffre d'un manque de modèles pertinents de *BD*. Ces modèles reposent principalement sur une administration forcée / passive de type *binge*, avec des protocoles peu standardisés utilisant des doses et des fréquences d'exposition pouvant beaucoup varier. Bien qu'ils permettent un bon contrôle expérimental, ils sont principalement limités par l'impossibilité d'étudier les facteurs individuels et environnementaux liés au *BD*, et surtout la vulnérabilité à développer le comportement. Les modèles volontaires font preuve d'une plus grande validité d'apparence, et permettent d'apprécier à la fois l'impact d'une consommation à grande vitesse et les aspects motivationnels de la consommation. Notre modèle opérant fait ainsi preuve d'une bonne validité d'apparence et de prédiction (González-Marín *et al.*, 2018; Lebourgeois *et al.*, 2018; Jeanblanc *et al.*, 2019), et notre laboratoire a proposé plusieurs critères pour une modélisation idéale (Jeanblanc *et al.*, 2018). Nous avons notamment mis en évidence que la vitesse de consommation est le facteur clé du comportement de *BD* chez le rongeur, ce qui est également mis en avant dans le score de *BD* de Townshend et Duka en clinique (Townshend and Duka, 2002). Tout comme chez l'Homme, la vulnérabilité génétique joue un rôle important chez le rongeur dans la propension à consommer de l'alcool. L'un des intérêts de ce travail était ainsi d'étudier la différence de

vulnérabilité génétique dans le développement du comportement de *BD* chez plusieurs souches de rats. Nous avons donc comparé trois souches largement utilisées dans la littérature scientifique, Long-Evans (LE), Sprague-Dawley (SD) et Wistar (W), en *IA2BC* puis en AA opérante.

Plusieurs travaux ont déjà rapporté d'importantes différences inter-souches de consommation volontaire d'EtOH. L'étude de Khanna et al. est notamment l'une des premières à avoir mis en évidence des différences entre quatre souches de rats dans des expositions intermittentes forcées et en libre choix : LE, SD, W et Fisher 3444 (F) (Khanna *et al.*, 1990). Sans observer de différence dans la sensibilité à l'hypothermie et aux atteintes motrices induites par l'EtOH, il y a été montré que les LE consomment le plus et les F le moins, tandis que W et SD sont intermédiaires. La plupart des études en *IA2BC* utilisent majoritairement des rats LE et W, et pour certaines des SD et des rats alcoolo-préférants Sardinian (ou P) (pour revue, (Carnicella, Ron and Barak, 2014). Il en ressort que le LE est l'une des souches consommant le plus d'EtOH et escaladant fortement sa consommation et sa préférence (Simms *et al.*, 2008; Bito-Onon *et al.*, 2011; Sabino *et al.*, 2013; Priddy *et al.*, 2018). Nos résultats dégagent la même tendance, puisque nous avons montré dans notre étude que le LE est la seule souche à avoir escaladé sa consommation et sa préférence en *IA2BC*, contrairement aux W et SD, avec une consommation d'EtOH significativement plus forte (5g/kg/24h, deux fois supérieure au SD, et 10 fois au W). Cette différence inter-souches est restée robuste au cours des sessions de *BD* en AA opérante, avec un même profil : les LE consomment le plus, les W le moins et les SD sont intermédiaires. Il semblerait donc que les différences observées en *IA2BC* aient été prédictives de celles en AA. La majorité des rats LE (77%) a également passé le seuil de consommation de 0,4 g/kg/15min suggéré par Carnicella et al. en AA (Carnicella, Ron and Barak, 2014), pour quasiment aucun rat W, renforçant l'idée que l'*IA2BC* facilite la future consommation opérante. Nous avons enfin également mis en évidence que les LE initient leur consommation plus rapidement, avec une latence pour récupérer leur première récompense plus faible (six fois inférieure au W et SD), et de manière plus rapide, avec un temps significativement plus court pour arriver à 50% de leur consommation maximale durant leurs sessions (deux fois inférieur au W et SD).

Les différences de consommation que nous avons observées pourraient s'expliquer en partie par une différence de métabolisme. Il a été montré que les rats LE présentent une

corrélation entre consommation d'EtOH et éthanolémie plus forte que les rats W et SD, et atteignent une forte éthanolémie avec une consommation moins importante (Simms *et al.*, 2008; Bito-Onon *et al.*, 2011). Dans ce sens, nous avons mis en évidence que les LE métabolisent l'EtOH plus rapidement que les deux autres souches, avec une éthanolémie retournant plus rapidement à zéro. Des cycles répétés d'élévation et réduction de l'éthanolémie constituent un critère important dans l'établissement du *BD*, et sont associés à des déficits émotionnels et cognitifs chez l'Homme (Stephens and Duka, 2008). Il a de plus été montré que les rats LE ayant consommé chroniquement de l'EtOH présentent une maladie du foie et une stéatose hépatique plus sévère que des rats alcoolo-préférants SD et F (Denucci *et al.*, 2010). Le LE semble donc présenter une vulnérabilité génétique toute particulière par rapport aux autres souches. De manière intéressante, nous avons retrouvé cette sensibilité spécifique en électrophysiologie. Nous avons en effet émis l'hypothèse que les différences inter-souches observées en comportement se retrouveraient également dans les propriétés électrophysiologiques des circuits neuronaux de l'hippocampe, sur lesquelles travaille notre laboratoire. Nous avons ainsi mis en évidence 48h après une exposition de type *binge* à court terme à l'EtOH (deux injections i.p d'EtOH 20% 3g/kg, séparées de 9 h), un modèle que nous avons utilisé auparavant (Ferron *et al.*, 2015), une abolition de la DLT spécifiquement chez le rat LE mais pas W et SD. Cette différence inter-souche dans la plasticité synaptique n'a pas été retrouvée chez des animaux naïfs à l'EtOH, renforçant l'intérêt d'étudier la souche LE dans un contexte d'exposition à l'alcool. De plus, l'abolition de la DLT que nous avons observée chez le rat LE adulte est similaire à celle que notre laboratoire a montrée chez le rat SD adolescent avec la même procédure, suggérant encore une fois une sensibilité toute particulière (Ferron *et al.*, 2015; Drissi *et al.*, 2019). Bien que nous n'ayons pas cherché à faire un lien entre les deux, il est intéressant de noter que nous avons retrouvé une proportion semblable d'animaux (2/3) ayant développé un comportement de *BD*, et de tranches sensibles à l'exposition à l'EtOH en électrophysiologie.

Globalement, nous contribuons donc à l'idée de Carcinella et al. selon laquelle le LE est la souche la plus adaptée en IA2BC, et mettons en évidence qu'elle est également idéale pour modéliser un comportement de BD, de par une vulnérabilité génétique toute particulière en termes de comportement et de déficits cognitifs. De futures études seront nécessaires pour identifier les gènes et les mécanismes impliqués dans cette susceptibilité. Nous soulignons également que les procédures expérimentales que nous avons utilisées

sont particulièrement souche-dépendantes, et qu'il est important de prendre en compte ce facteur en recherche préclinique. Il est important de noter que le fournisseur est également un probable facteur de variabilité dans la consommation d'EtOH, comme montré chez le rat W par Palm. et al (Palm, Roman and Nylander, 2011), de même que les conditions de stabulation (cage ouverte ou en portoir ventilé, enrichissement, contact social...). Une escalade de la consommation a par exemple déjà été mise en évidence chez le rat W, contrairement à nous (Simms *et al.*, 2008). Par conséquent, il est fondamental que tout soit décrit en détails dans les études utilisant le rongeur dans un souci de comparaison, comme suggéré par la ligne directrice ARRIVE (*Animal Research : Reporting of In Vivo Experiments*), pour maximiser le nombre d'informations publiées et améliorer les rapports scientifiques.

b. Différences liées au sexe

La différence de sensibilité entre hommes et femmes aux effets de l'alcool ainsi que dans la vulnérabilité à développer un TUA constituent des sujets majeurs de recherche à l'heure actuelle. Pourtant, très peu d'études précliniques ont utilisé des animaux femelles et la majorité d'entre elles est descriptive. Parmi celles-ci, la majorité a montré une consommation plus forte chez la femelle dans différents modèles de TUA, bien que les résultats semblent dépendre de la souche de rat, du protocole utilisé, des conditions d'hébergement ou encore de l'âge (pour revue (Hilderbrand and Lasek, 2019)). Nous avons inclus des rongeurs femelles dans l'une de nos études, et cette thèse était ainsi aussi l'occasion d'apprécier de possibles différences liées au sexe dans le développement du comportement de *BD* et de consommation d'alcool dans notre modèle. Dans un premier temps, même si nous n'avons pas retrouvé de différences dans la quantité pure d'EtOH ingéré (g/24h) ou dans la préférence à l'EtOH (bien que les mâles soient les seuls à avoir escaladé leur préférence), nous avons mis en évidence chez nos femelles LE une consommation rapportée au poids (g/kg/24h) plus importante que les mâles en *IA2BC*. Dans un deuxième temps, nous n'avons pas observé de différence significative entre les deux sexes en *AA* opérante. Une tendance s'est néanmoins dessinée dans le sens d'une réponse opérante plus forte chez les mâles en *FR3* 15 min, pour une consommation rapportée au poids similaire entre les deux sexes. Nos résultats sont directement en accord avec une étude récente de Priddy et al., ayant mis en évidence chez des rats LE une plus forte consommation chez la femelle en *IA2BC* (EtOH 16% v/v), bien qu'ils

aient aussi noté une plus forte préférence contrairement à nous, mais aucune différence en AA opérante (FR1 30 min, EtOH 10% v/v) (Priddy *et al.*, 2018). Une plus forte consommation chez la femelle a également été précédemment mise en évidence dans un protocole d'*IA2BC* similaire au nôtre chez le rat LE (Morales, McGinnis and Mc Cool, 2016). De même, Randall et al. n'ont pas observé de différences liées au sexe dans le niveau de consommation en AA (FR2 30 min), mais un niveau de réponse plus fort chez le mâle malgré une motivation similaire entre les deux sexes (Randall *et al.*, 2018).

Globalement, ces résultats suggèrent donc comme nous l'avons observé que les femelles boivent plus d'alcool dans des conditions d'effort minimal (accès libre dans la cage de stabulation), mais rejoignent les mâles lorsque le travail demandé est augmenté (AA opérante). Nos données ne mettent cependant pas en évidence de différences liées au sexe dans la vulnérabilité à développer un comportement de *BD* dans notre modèle.

Il est important de noter que les résultats retrouvés chez le rongeur sont différents de ceux retrouvés chez l'Homme. En effet, il est montré au contraire que les hommes consomment plus d'alcool et s'adonnent plus au *BD* que les femmes, bien que les disparités observées aient diminué avec le temps (pour revue, (Wilsnack *et al.*, 2017)). Ces différences translationnelles sont certainement liées à une contribution différente de facteurs biologiques et environnementaux, qu'il est difficile de comparer entre l'Homme et le rongeur et de modéliser. Le manque d'études précliniques incluant des femelles rend de plus la compréhension de ces facteurs difficile.

Plusieurs facteurs doivent être pris en compte dans la comparaison entre mâles et femelles chez le rongeur. Tout comme chez l'Homme, l'interaction sociale peut influencer la consommation d'alcool et les conditions d'hébergement ont ainsi un possible impact sur la quantité ingérée. Nos rats ont été hébergés seuls et sans enrichissement dans leur cage de stabulation, condition pouvant favoriser une plus forte consommation d'alcool et permettant une analyse individuelle (Deehan Jr *et al.*, 2007). Les rongeurs femelles sont des animaux plus sociables tandis que les mâles sont plus territoriaux, et il est possible que ces conditions aient un effet différentiel selon le sexe, notamment en termes de stress chez la femelle (Becker and Koob, 2016). Nous avons cependant observé que les femelles ont été globalement peu anxieuses, par une évaluation avec le test de la *LDB*, et notamment moins que les mâles, passant plus de temps dans la partie éclairée de la boîte. Plusieurs études ont montré que les

femelles consomment volontairement plus d'alcool que les mâles, qu'elles soient groupées (Walker, Roth and Ehlers, 2008; Vetter-O'Hagen, Varlinskaya and Spear, 2009), ou isolées (Morales, McGinnis and Mc Cool, 2016; Priddy *et al.*, 2018). Des différences de protocole (accès intermittent ou continu, concentration de l'EtOH, adultération avec du saccharose...) sont néanmoins à prendre en compte et rendent les comparaisons difficiles. L'étude de Priddy *et al.* a utilisé comme nous des rats LE hébergés seuls et un protocole d'IA2BC (EtOH 16% v/v), pour des résultats similaires. Il est donc peu probable que nos conditions d'hébergement aient affecté notre étude et constituent un biais, même si nous ne pouvons l'exclure totalement. Un des principaux facteurs biologiques à prendre en compte concerne le cycle hormonal de la femelle. Les niveaux d'œstrogène et progestérone fluctuent au cours du cycle, et ces hormones peuvent influencer plusieurs variables biologiques et le comportement, dont la consommation d'alcool (pour revue, (Simpson and Kelly, 2012). Les conditions d'hébergement de nos rats (isolés dans des portoirs ventilés ne communiquant pas les uns avec les autres) font que nos femelles sont restées dans un cycle hormonal libre, sans synchronisation avec les autres comme cela peut être le cas dans un hébergement groupé. Plusieurs études ont montré que le cycle hormonal n'impacte pas significativement la consommation volontaire d'alcool chez des femelles en cycle libre (Roberts *et al.*, 1998; Moore and Lynch, 2015). Nous n'avons nous-mêmes précédemment observé aucune différence dans la consommation en AA opérante selon la phase du cycle. Au vu de la faible variabilité des données obtenues chez nos femelles, il est donc peu probable que la phase du cycle ait pu influencer nos résultats.

2. Modélisation animale de la prise de décision : mise en place, avantages et limites des deux protocoles de *Rat Gambling Task*, et différences liées au sexe

a. Mise en place : deux protocoles adaptés à des études différentes

Nous avons utilisé deux protocoles distincts de PdD complexe en *RGT*, un premier tiré des travaux de Rivalan et collaborateurs (Rivalan, Ahmed and Dellu-Hagedorn, 2009), et un second tiré des travaux de Zeeb et collaborateurs (Zeeb, Robbins and Winstanley, 2009). Nous avons initialement utilisé le premier protocole pour notre étude transversale princeps (voir article 1). Durant la première année de thèse, nous nous sommes cependant rendu compte que le protocole de Rivalan et collaborateurs n'est pas adapté dans le cadre d'une étude

longitudinale, et n'est pas répétable chez le même animal pour évaluer une différence dans la cinétique des choix après un traitement pharmacologique. Il s'est en effet avéré dans des tests répétés que les rats choisissaient immédiatement les options préférées initialement, sans explorer les autres, et ce même après plusieurs mois entre deux sessions test. Cette observation nous a conduits à nous poser la question d'un biais de préférence pour la position spatiale des orifices dans la boîte opérante. Les rats interagissaient en effet majoritairement avec les orifices situés au fond de la cage, du côté le plus éloigné de la porte d'accès et potentiellement le moins lumineux. L'application d'un film opaque le long des parois intérieures des boîtes pour réduire les fuites de lumière et bloquer tout éventuel indice environnant n'a cependant eu aucun effet. La porte centrale dans la boîte assure de plus normalement une distance équivalente entre la mangeoire et chaque option. Nous avons également mis en évidence que les animaux faisaient preuve d'une forte inflexibilité, indépendamment de leur niveau de PdD, et persistaient à visiter les mêmes orifices même après que la position des différentes options de la tâche ait été modifiée. Un simple effet test-retest ne suffit probablement pas à expliquer un tel comportement, qui est possiblement dû à plusieurs facteurs : l'absence d'un temps d'arrêt entre deux choix au cours du test (l'animal peut sélectionner une option immédiatement à nouveau après avoir collecté sa récompense), la nécessité de visiter deux fois de suite un orifice pour valider un choix (nous avons pu observer régulièrement certains rats *nose-poker* « frénétiquement » un orifice pour faire leur choix), ou encore l'absence de sessions forcées durant l'entraînement (l'animal n'est ainsi jamais forcé à explorer chaque option pour progresser dans celui-ci). Les animaux ont ainsi possiblement été « figés » dans leur comportement au fur et à mesure de la tâche, créant de l'inflexibilité. Pour toutes ces raisons, nous avons alors opté pour le second protocole de RGT, qui est plus robuste dans le temps et plus adapté à une étude longitudinale et pharmacologique, pour la suite de nos travaux. Son système d'essais et de fenêtre de réponse prématurée permet notamment de « freiner » le rat dans son comportement de choix, et les tests journaliers jusqu'à obtenir une ligne de base assurent l'obtention d'un comportement stable dans le temps.

b. Avantages et limites des protocoles de *Rat Gambling Task*

Une bonne validité d'apparence et de construit a été démontrée pour les deux modèles de *RGT* (Rivalan, Ahmed and Dellu-Hagedorn, 2009; Zeeb, Robbins and Winstanley, 2009; Zeeb and Winstanley, 2011; Rivalan *et al.*, 2013; Fitoussi *et al.*, 2014). Tout comme chez l'Homme, la majorité des rats présente un bon niveau de PdD, et est capable de faire les « bons choix » en favorisant les options les plus avantageuses sur le long terme. Au contraire, une minorité présente un pauvre niveau de PdD et un comportement de persistance dans les « mauvais choix ». On retrouve également des rats « indécis », qui ne persistent pas dans leurs choix, un comportement qui laisse penser que ces animaux ne choisissent pas les options selon une évaluation des coûts et des bénéfices. Les deux protocoles de *RGT* présentent néanmoins différents avantages et limites. Celui de Rivalan possède probablement la plus grande validité d'apparence par rapport à l'*IGT*. En effet, les rats ne sont confrontés aux différentes modalités de récompense et punition qu'au moment de l'unique session test d'une heure. A la manière de la tâche chez l'Homme, le rat doit ainsi passer par une phase d'exploration où il établit ses préférences par rapport aux différentes options, puis une phase d'exploitation où il poursuit les choix qui lui paraissent les plus favorables. Le niveau de PdD de l'animal est ainsi déterminé durant cette seconde phase, lors des 20 dernières minutes du test, mais la cinétique des choix peut être appréciée sur la durée totale du test. Au contraire, dans celui de Zeeb, les animaux ont déjà été en contact avec les modalités de récompense et punition au cours de l'entraînement, et les sessions journalières de test n'apprécient possiblement seulement qu'une phase d'exploitation et très peu d'exploration. De même, les modalités de récompense et punition des options dans le protocole de Rivalan se rapprochent plus fidèlement de celles de l'*IGT*, en utilisant seulement deux magnitudes de récompense (une ou deux pastilles de saccharose) et deux fréquences de punition (1/2 et 1/4). La durée de punition des options désavantageuses peut néanmoins poser problème dans le test, montant jusqu'à plus de 7 minutes pour l'option la moins optimale, ce qui peut être très « punitif » pour l'animal, et est très conséquent si la punition intervient dans les 20 dernières minutes où le niveau de PdD est censé être analysé. Le protocole de Zeeb s'éloigne plus des conditions de choix de l'*IGT*, avec 4 options distinctes qui varient toutes en termes de magnitude de récompense et de fréquence de punition. Bien que la validité d'apparence soit ainsi un peu moins bonne par rapport à la tâche chez l'Homme, les animaux distinguent probablement plus finement les

différentes options et établissent plus facilement leurs préférences pour l'une d'entre-elles spécifiquement. Des options plus différentes fournissent de plus un avantage intéressant, l'option P1 constituant par exemple un choix très « sécurisé » et pouvant refléter une PdD faiblement risquée / aversive pour la punition, qui n'existe pas dans l'*IGT*.

Globalement, bien que les deux protocoles que nous avons utilisés permettent d'évaluer la même fonction cognitive, nous ne pouvons pas exclure la possibilité que leurs différences conceptuelles aient un impact sur le comportement de choix du rongeur. Ce facteur doit donc toujours être pris en compte dans la comparaison entre les études utilisant de tels outils.

L'une des principales limites commune aux deux protocoles de *RGT* vient de la conceptualisation de la punition dans la tâche. Celle-ci est modélisée par des périodes de *time-out*, qui se traduisent par l'impossibilité d'obtenir une nouvelle récompense. Bien que cette période puisse être « punitive » pour l'animal, elle ne représente pas une « perte » ou un déficit de ressources à proprement parler pour celui-ci, comme c'est le cas avec les pertes d'argent dans l'*IGT*. Ce mécanisme est central dans le processus de choix au cours de la tâche chez l'Homme et n'est pas représenté fidèlement chez le rongeur (Fernie and Tunney, 2006). Il s'agit d'une limite technique qui ne peut probablement pas être contournée, puisque l'animal consomme immédiatement les pastilles de saccharose obtenues (et il est ainsi impossible d'en soustraire à un « stock »), et l'utilisation de chocs électriques engendre une nature de punition différente. L'utilisation d'un « renforçant » alimentaire comme récompense pourrait en soit également constituer une limite, puisque sa consommation par le rongeur dépend intimement de son état motivationnel / de satiété. Bien que l'utilisation d'une restriction alimentaire assure plus ou moins une motivation importante, son impact sur la PdD chez le rongeur n'est pas bien mis en évidence. Rivalan et collaborateurs sont les seuls à avoir testé ce facteur dans leur tâche, et n'ont trouvé aucun effet de différents niveaux de restriction alimentaire sur la PdD, mais aucun test n'a été réalisé pour le protocole de Zeeb (Rivalan, Ahmed and Dells-Hagedorn, 2009).

c. Différences liées au sexe dans la prise de décision

Comme abordé dans l'introduction, il existe de possibles différences liées au sexe dans la PdD en *IGT*. Bien qu'elles ne soient pas évidentes, il semble que les informations utilisées dans le processus de choix puissent être traitées différemment chez l'homme et la femme. Les femmes mettent ainsi plus de temps à développer une stratégie préférentielle dans la tâche, et peuvent être plus sensibles aux pertes et aux risques associés aux différentes options, et moins sensibles aux récompenses (Weller, Levin and Bechara, 2010; van den Bos, Homberg and de Visser, 2013). Des différences ont également été retrouvées dans des modèles animaux de PdD, avec des variations liées à l'outil utilisé. Globalement, il est suggéré comme chez l'Homme qu'il n'existe pas de différence significative dans la PdD, mais une variation dans la sensibilité à la conséquence, favorisant sensiblement les mâles quand la punition est importante, et au contraire les femelles lorsqu'elle est minime (pour revue, (Orsini and Setlow, 2017)).

Dans notre étude longitudinale, les femelles ont atteint les critères de performance significativement plus rapidement que les mâles au cours de l'entraînement en *RGT*, en accord avec une étude ayant utilisé le même protocole chez des rats SD (Peak, Turner and Burne, 2015). De la même manière, cette différence n'a cependant pas eu d'impact dans la progression de l'établissement d'une préférence de choix au cours des phases de test. Mâles comme femelles ont en effet rapidement développé une préférence marquée, en environ cinq sessions comme décrit par Zeeb et al., et discriminé les options les unes des autres (Zeeb, Robbins and Winstanley, 2009). De manière intéressante, cette préférence s'est néanmoins révélée différente selon le sexe: les mâles ont montré une préférence robuste pour l'option optimale P2, alors que les femelles ont préféré aussi bien l'option optimale P2 que l'option « sûre » P1 (dont P1 significativement plus que les mâles). Cette dernière est propre au *RGT* et correspond au choix associé avec la plus faible amplitude de récompense (une pastille de saccharose), mais aussi les plus faibles fréquence (10%) et amplitude (0,5 s) de punition. Nous avons de plus observé une proportion inexistante de femelles avec un mauvais niveau de PdD (moins de 33% de choix avantageux P1 et P2) dans la tâche, contre environ 20% chez les mâles.

Ces résultats suggèrent donc, comme chez l'Homme, une stratégie différente selon le sexe, avec une aversion au risque ou une sensibilité à la punition plus importante chez la

femelle. Comme en *IGT*, cette différence se traduit par un gain net plus faible chez la femelle que chez le mâle, les animaux ayant déclenché le même nombre d'essais en moyenne.

Bien qu'ils n'aient récemment pas observé un profil de choix différent, Georgiou et al. sont venus à la même conclusion en mettant en évidence une progression différente selon le sexe durant les phases de tests en *RGT* (Georgiou *et al.*, 2018). Les mâles y ont augmenté leurs choix dans l'option optimale au fil des sessions contrairement aux femelles, résultant dans un gain net supérieur. Il faut noter que, contrairement à nous, les animaux y ont réalisé un grand nombre de sessions test (jusqu'à 20 sessions), aboutissant à un comportement de choix stable, mais aussi extrêmement robuste, avec très peu d'exploration en dehors de l'option préférée. Nous avons délibérément choisi de limiter ces sessions à l'établissement d'une préférence, pour éviter un effet de «surentraînement» et l'installation d'un comportement difficile à moduler pharmacologiquement par la suite. Nous n'avons ainsi pas apprécié une progression de la même façon dans la tâche, mais il est possible que nous aurions observé quelque chose de similaire en poursuivant. Le comportement de choix de nos rats est donc moins robuste mais probablement plus proche des conditions risquées retrouvées dans l'*IGT*. Même si les animaux ont été exposés aux modalités de récompense et de punition durant les sessions de choix forcé, ils sont ainsi moins familiers avec celles-ci et passent plus de temps à explorer et hésiter, ce qui a probablement contribué à faire ressortir une différence de comportement entre les deux sexes.

Outre une approche stratégique différente, plusieurs autres facteurs sont à prendre en compte pour expliquer les différences observées en *RGT*. Nous avons mis en évidence une proportion d'omissions plus importante chez la femelle que chez le mâle. Ce résultat peut suggérer une hésitation plus forte des femelles dans le choix des options et une flexibilité d'exploration plus importante, comme retrouvé en *IGT* chez l'Homme, rejoignant l'idée d'une aversion au risque et à la punition plus grande. Il a par exemple été montré dans une tâche de « *Risky Decision Making Task* » (*RDT*), où les rats ont le choix entre une faible récompense alimentaire « sécurisée » et une large récompense « risquée » associée à une probabilité croissante d'un faible choc électrique, que les femelles font plus d'omissions et explorent plus les options, alors que les mâles persistent dans les options avantageuses même avec une punition grandissante (Orsini *et al.*, 2016). De même, contrairement aux mâles, les femelles changent leur préférence pour une récompense immédiate plus faible avec l'augmentation

du délai en *Delay-Discounting Task* (Koot *et al.*, 2009). Des omissions plus importantes dans la tâche peuvent également suggérer une différence de motivation entre les deux sexes, que ce soit en termes d'effort pour la récompense, d'appétence pour la pastille de saccharose ou encore d'un effet différentiel de la restriction alimentaire. Orsini *et al.* n'ont cependant pas observé de différence de motivation pour du saccharose en *RDT*, chez des rats soumis à une restriction alimentaire plus importante que la nôtre (85% du poids théorique) (Orsini *et al.*, 2016). Nos animaux ayant de plus déclenché en moyenne le même nombre d'essais, il paraît peu probable que les différences observées dans notre étude puissent s'expliquer par la motivation des animaux et non par leur processus de choix. Des différences dans l'attention et l'impulsivité pourraient également impacter le comportement de PdD dans la *RGT*. Les études chez l'Homme et l'animal en « *5-Choice Serial Reaction Time Task* » (*5-CSRTT*) ne montrent néanmoins pas de différence de base entre les deux sexes, mais une sensibilité différente à l'augmentation de la difficulté de la tâche et aux conditions environnantes (pour revue, (Grissom and Reyes, 2019)). En accord avec ce constat, nous n'avons pas observé de différence de base dans la proportion de réponses prématurées en *RGT*, qui permet d'apprécier l'impulsivité motrice, de même que les deux seules autres études ayant utilisé le même protocole chez des rats femelles (Peak, Turner and Burne, 2015; Georgiou *et al.*, 2018). Nous n'avons cependant pas cherché à augmenter la difficulté de la tâche en faisant varier l'intervalle inter-essai, ce qu'il serait intéressant de faire ultérieurement. Il faut tout de même noter que la *RGT* demande moins de contrôle attentionnel que le *5-CSRTT* et est ainsi possiblement moins adapté pour détecter des déficits d'impulsivité motrice.

Enfin, bien que cela dépasse le cadre de ce travail, plusieurs pistes neurobiologiques pourraient expliquer un comportement divergent entre mâles et femelles, comme des différences dans la signalisation DAergique (ce que nous aborderons plus tard dans cette discussion), le cycle hormonal, une activation différentielle du cortex orbitofrontal, un recrutement différentiel du cortex préfrontal ou encore un dimorphisme sexuel de certaines régions cérébrales comme l'amygdale (voir introduction et (Orsini and Setlow, 2017)). Concernant le cycle hormonal, il a été montré que les phases du cycle n'impactent pas les performances en *IGT* (van den Bos, Homberg and de Visser, 2013), *RDT* (Orsini *et al.*, 2016) et *RGT* (Georgiou *et al.*, 2018). Quelques travaux ont cependant laissé entendre une possible influence hormonale sur la PdD chez le mâle et la femelle (Orsini and Setlow, 2017). Une

nouvelle fois, du fait que les femelles ont été en cycle libre durant les expériences, il y a peu de chances que ce facteur ait pu influencer nos résultats.

B. Relation entre *Binge Drinking* et prise de décision : conséquences du *Binge Drinking*, différences liées au sexe et limites

1. Conséquences du *Binge Drinking* sur la prise de décision : implications et considérations techniques

L'un des principaux objectifs de cette thèse était de mieux comprendre la relation entre une consommation d'alcool de type *BD* et les capacités de PdD. Comme abordé dans l'introduction, la littérature scientifique à ce sujet est maigre et reste peu concluante, particulièrement en préclinique. Nous avons réalisé trois études, deux transversales et une longitudinale, en utilisant des protocoles et des conditions expérimentales différents. Lors de notre première étude transversale, nous avons montré que des rats s'étant auto-administré chroniquement de l'alcool dans notre modèle volontaire de *BD* pendant plusieurs mois ont fait, à distance après plusieurs jours de sevrage (7 à 12 jours), significativement moins de choix avantageux que des animaux naïfs à l'alcool dans le protocole *RGT* de Rivalan et al. (Jeanblanc *et al.*, 2019). Le groupe d'animaux *bingers* présentait également une proportion plus importante de rats avec un mauvais niveau de PdD en *RGT*. De manière intéressante, il a semblé que les effets de l'alcool pourraient concerner principalement les animaux avec un niveau intermédiaire dans la tâche, nécessitant donc une certaine vulnérabilité au préalable. Ce travail a renforcé la validité d'apparence de notre paradigme préclinique de *BD*, et a posé les bases de cette thèse par la suite.

Lors de notre seconde étude transversale, nous avons comparé les capacités de PdD selon le niveau de consommation en AA opérante, en catégorisant des *bingers* et des *non bingers* (selon un seuil de consommation $\geq 0,8$ g/kg) et en utilisant cette fois le protocole *RGT* de Zeeb et al., plus adapté à des mesures répétées et un suivi longitudinal. Nous n'avons alors observé aucune différence selon l'historique de consommation, que ce soit dans le profil de choix ou les autres paramètres de la tâche. Nous avons cependant montré un effet différentiel d'une réexposition aiguë à l'alcool chez ces animaux. En effet, une injection i.p (1g/kg, EtOH 20%) n'a eu aucun effet chez les rats non *bingers*, mais a doublé la proportion de choix dans l'option

P4, la plus immédiatement récompensante mais aussi la plus punitive, chez les rats *bingers*. Ce comportement n'a pas été associé à une augmentation de l'impulsivité motrice.

Nos résultats suggèrent donc qu'être sous influence de l'alcool promeut un comportement de recherche de récompense chez les rats *bingers*, qui seraient plus sensibles à la gratification immédiate et ce en dépit des larges punitions.

Plusieurs études cliniques ont associé un *BD* important et stable avec moins de choix avantageux en *IGT* et un trait d'hypersensibilité à la récompense, sans relation avec l'impulsivité (Goudriaan, Grekin and Sher, 2007; Johnson *et al.*, 2008). La transposition de ce comportement chez l'Homme pourrait correspondre à un plus faible contrôle de l'escalade de la consommation d'alcool chez les individus avec une histoire de *BD*. Les *bingers* pourraient ainsi être plus enclins à poursuivre leur consommation après quelques verres par une plus forte recherche d'effet récompensant. Nous rejoignons ainsi l'idée d'une plus forte prise de risque ou impulsivité cognitive révélée sous les effets de l'alcool chez des individus *binge drinkers*. Il a en effet été montré chez l'Homme que des *bingers* ont des réponses à l'alcool plus stimulées et récompensantes, et agissent de manière plus impulsive et désinhibée, par rapport à des non *bingers* et des consommateurs sociaux (Marczinski, Combs and Fillmore, 2007; Field, Schoenmakers and Wiers, 2008; King *et al.*, 2011). Ces traits sous influence de l'alcool se sont même révélés prédictifs d'une future consommation problématique sur un suivi de deux ans (King *et al.*, 2011). De même, au niveau neurobiologique, des différences dans la transmission DAergique mésolimbique n'ont pas été observées en condition de base mais révélées sous les effets aigus de l'alcool, chez des rats exposés à un modèle de type *binge* à l'adolescence (Shnitko *et al.*, 2016). Nous suggérons donc que l'hypersensibilité à la récompense pourrait constituer un marqueur du *BD*, et expliquer en partie la répétition voir la perte de contrôle du comportement de consommation. Il ne nous a cependant pas été possible de distinguer clairement des aspects de sensibilité différente à la récompense ou à la punition, et il est possible que les deux contribuent simultanément au comportement observé. Nos résultats mettent en avant l'importance de prendre en compte le comportement sous influence de l'alcool, où peuvent se révéler des différences difficilement détectables à la base entre des individus *bingers* et *non bingers*. Contrairement à d'autres pays comme les Etats-Unis, il est difficile d'étudier ce phénomène en clinique d'un point de vue éthique en France.

La recherche préclinique apparaît donc comme une alternative indispensable et une nécessité dans ce contexte.

Dans notre troisième étude, nous avons cette fois utilisé un suivi longitudinal en mesurant les capacités de PdD dans le protocole *RGT* de Zeeb et al., avant et après exposition à l'alcool. Nous avons utilisé et opposé deux modèles, notre modèle volontaire opérant développé au laboratoire, et un modèle forcé de référence chez le rongeur utilisé dans la littérature (injections intermittentes répétées). Nous avons également testé les capacités de mémorisation en NOR et l'anxiété des animaux en *LDB*, avant et après consommation volontaire d'alcool, et n'avons observé aucun effet du *BD* opérant. Nous avons mis en évidence un effet similaire des deux modèles sur le processus de choix chez le mâle, avec une baisse des performances en *RGT* caractérisée par la réduction de moitié des choix dans l'option optimale P2. Plusieurs études de la littérature ont montré que des modèles de type *binge* forcés (Nasrallah et al., 2011; Boutros et al., 2015) et volontaires (McMurray, Amodeo and Roitman, 2014, 2016) ont entraîné une plus forte PdD risquée. De manière intéressante, le comportement de choix de nos rats après alcoolisation a ressemblé à du « hasard », avec une exploration similaire des différentes options. Seule la procédure forcée a cependant réduit significativement le pourcentage de choix avantageux.

Nous rapportons donc cette fois-ci une atteinte des capacités de PdD de nature différente, non pas caractérisée par une prise de risque plus élevée ou une altération de la sensibilité à la récompense et à la punition, mais par une incapacité à distinguer correctement les options et à faire le choix optimal. Ces résultats suggèrent une incapacité à utiliser le retour d'information (ou « *feedback* négatif ») des différentes options (aussi bien les valeurs de la récompense que de la punition) pour ajuster le comportement de choix, conduisant à une PdD inadaptée.

Nos résultats rejoignent dans ce sens les travaux de Spoelder et al., où une conclusion similaire a été tirée après des alcoolisations répétées durant l'acquisition du *RGT* (Spoelder et al., 2015). A notre connaissance, notre étude préclinique est la première du genre à apprécier les effets du *BD* sur la PdD lors de mesures longitudinales. Seule l'étude de Carbia et al. chez l'Homme s'est intéressée au *BD* avec des mesures multiples en *IGT*, mais sans observer d'effet chez l'adolescent (Carbia et al., 2017). Bien qu'ils aient eu des effets cognitifs similaires, les deux modèles de *binge* ont eu des effets moteurs différents, avec un effet supprimeur

comportemental (réduction des essais et augmentation des omissions) pour la procédure forcée, et une augmentation de l'impulsivité motrice pour le modèle volontaire. De tels effets moteurs sont attendus avec l'utilisation de procédures forcées, les injections répétées d'EtOH étant associées à un stress et une inflammation importante (Chen *et al.*, 2013). Les divergences observées sur l'impulsivité motrice sont possiblement liées à des neuroadaptions différentes selon le paradigme utilisé. Au cours de l'AA opérante, nos animaux ont en effet été engagés dans une prise de drogue active sur de nombreuses semaines et, contrairement à une exposition forcée, celle-ci induit une neuroplasticité particulière dans plusieurs processus cognitifs qui y sont associés (Jacobs *et al.*, 2003). Nous montrons ainsi que les procédures forcées semblent modéliser de manière plus importante des aspects négatifs d'intoxication des effets du *BD*, tandis que les procédures volontaires modélisent plutôt les effets positifs de celui-ci, notamment sur l'impulsivité. Dans ce sens, nous favorisons une fois de plus l'idée d'utiliser plutôt des modèles volontaires dans la modélisation du comportement de *BD*. L'utilisation d'une procédure forcée nous a cependant permis d'exposer nos animaux à une dose similaire fixée d'alcool.

Globalement, nous rapportons donc différents effets du *BD* sur les capacités de PdD, qui semblent dépendre des conditions expérimentales et révèlent plusieurs considérations techniques (Tableau 1). Il apparaît que le *BD* peut perturber ces capacités, aussi bien proche des dernières intoxications (troisième étude) qu'à distance (première étude), suggérant des atteintes aiguës mais qui peuvent aussi perdurer dans le temps. Nous n'avons néanmoins pas eu l'occasion de tester la réversibilité de celles-ci à long terme, les animaux ayant dû à chaque fois être sacrifiés rapidement pour être utilisés en *FSCV*. Nos deux premières études ont impliqué des conditions expérimentales très similaires mais avec des protocoles de *RGT* différents (Rivalan *et al.* pour la première, Zeeb *et al.* pour la seconde), avec une seule des deux résultant dans une baisse de performance. Ces protocoles présentent plusieurs divergences pouvant affecter le processus de choix, comme décrit plus tôt, et il est notamment possible que les rats fassent des réponses immédiates et impulsives plus importantes dans celui de Rivalan *et al.* (qui ne contient pas de fenêtre de réponse prématurée), sur lesquelles l'alcool peut donc avoir un impact différent. Le facteur le plus important concerne néanmoins peut-être la robustesse du comportement de choix, beaucoup plus élevée dans le protocole de Zeeb *et al.* du fait de l'approche différente de la phase de test.

	Design expérimental	Groupes	Protocole RGT	Timing mesures	Résultats : profil choix	Résultats : autres paramètres
<u>1^{ère}</u> <u>étude</u>	Transversal (mâles)	- Naïf - <i>Binge</i> volontaire	Rivalan et al.	RGT après période de <i>binge</i> (7-12 de sevrage)	↓ choix avantageux par <i>binge</i> volontaire	X
<u>2^{nde}</u> <u>étude</u>	Transversal + alcoolisation aiguë (mâles)	<i>Binge</i> volontaire : - Non <i>bingers</i> (<0,8g/kg) - <i>Bingers</i> (≥0,8g/kg)	Zeeb et al. (phase de test longue)	RGT après période de <i>binge</i> (7) de sevrage)	- Aucun effet de niveau de <i>binge</i> volontaire - ↑P4 après injection i.p chez <i>bingers</i>	- Aucun effet du niveau de <i>binge</i> volontaire - Effet suppresseur comportement injection i.p (↓essais et ↑omissions)
<u>3^{ème}</u> <u>étude</u>	Longitudinal (mâles + femelles)	- <i>Binge</i> forcé - <i>Binge</i> volontaire	Zeeb et al. (phase de test courte)	RGT avant et après période de <i>binge</i> (24h de sevrage)	- ↓ P2 après <i>binge</i> forcé et volontaire chez mâles - ↓ choix avantageux après <i>binge</i> forcé chez mâles	- Effet suppresseur comportement <i>binge</i> forcé (↓essais et ↑omissions). - ↑ impulsivité motrice <i>binge</i> volontaire

Tableau 2 : Tableau récapitulatif des résultats comportementaux obtenus au cours des études sur la relation entre BD et PdD.

Les animaux y sont beaucoup plus familiers avec les conditions de choix, dans une phase d'exploitation où le risque n'est quasiment plus présent. Un comportement de choix inflexible est probablement difficilement modulable par l'alcool, comme suggéré par Spoelder et al. en RGT (Spoelder *et al.*, 2015), même s'il a déjà été montré que des manipulations pharmacologiques peuvent affecter la tâche (Zeeb, Robbins and Winstanley, 2009; Baarendse *et al.*, 2014). Dans ce sens, le *BD* a affecté la PdD lorsque nous avons volontairement limité le nombre de sessions tests dans notre étude longitudinale. Il est possible que les conditions de choix lors de la phase de test y soient donc plus proches de celles de notre première étude, ce qui expliquerait pourquoi nous avons mis en évidence une réduction des performances en *RGT* dans les deux. Nous avons fait un constat similaire concernant le contrôle inhibiteur dans la tâche, puisque lorsque le comportement de choix a été très stable et robuste, le *BD* opérant n'a eu aucun effet sur l'impulsivité motrice, alors qu'au contraire des sessions tests limitées ont abouti à une augmentation de celle-ci.

Le timing de l'alcoolisation est également un facteur qu'il faut possiblement prendre en compte. Avec le protocole de Zeeb et al., le *BD* n'a eu en effet aucune conséquence sur le processus de choix en *RGT* lorsque l'AA opérante a eu lieu avant installation du comportement (deuxième étude), mais l'a affecté lorsque celui-ci était déjà installé (troisième étude). Ces observations peuvent suggérer que le *BD* a affecté les capacités mnésiques des animaux et la rétention des informations précédemment apprises. Nos résultats en *NOR* montrent cependant que le *BD* n'a pas perturbé la capacité des rats à mémoriser. Les animaux dans le groupe de consommation volontaire ont de plus consolidé un travail opérant important sur de nombreuses semaines, pour un effet cognitif observé similaire aux animaux du groupe forcé dont les mesures ont été plus rapprochées. Bien que nous ne puissions pas exclure la possibilité d'atteintes mnésiques, notamment du fait que la *RGT* implique plusieurs processus de mémoire (mémoire de travail, mémoire à long terme...), les différences que nous observons concernent donc probablement le processus de choix en lui-même.

2. Différences liées au sexe : une vulnérabilité différente aux effets du *Binge Drinking* ?

De manière surprenante, nos femelles se sont révélées insensibles aux effets cognitifs du *BD* sur la PdD. Le même profil de choix a été observé avant et après exposition à l'alcool, que ce soit avec une procédure forcée ou volontaire. Cette différence a été purement cognitive puisque les procédures d'alcoolisation ont eu un effet similaire au niveau moteur chez les deux sexes, avec une diminution du contrôle impulsif. Le niveau de consommation a été le même durant les sessions de *BD* opérant et ne peut donc pas expliquer nos résultats. Il faut noter que notre groupe de femelles a mieux supporté les injections d'EtOH que notre groupe de mâles, ce dernier ayant présenté plusieurs individus avec d'importants signes d'intoxications. Nous avons d'ailleurs eu une mortalité importante chez les mâles au moment de vouloir apprécier les effets d'un deuxième cycle d'injections répétées, alors qu'elle a été quasi inexistante chez les femelles. Ce deuxième cycle n'a toujours pas eu d'effet au niveau cognitif chez ces dernières en *RGT*, dont le profil de choix n'a pas changé.

Nos résultats suggèrent globalement une vulnérabilité différente aux effets de l'alcool sur la PdD chez la femelle. Plusieurs études montrant que les femmes sont plus sensibles que les hommes aux effets de l'alcool, mais les différences liées au sexe concernant le *BD* sont néanmoins mal comprises (pour revue, (Wilsnack *et al.*, 2017)).

Dans le cadre de la PdD, les résultats cliniques sont contrastés, certaines études mettant en évidence de plus faibles performances dans le fonctionnement exécutif global et en PdD chez des hommes *bingers* (Parada *et al.*, 2012), alors que d'autres n'observent aucune différence entre les deux sexes (Goudriaan, Grekin and Sher, 2007; Carbia *et al.*, 2017). Une explication possible à nos résultats peut venir des capacités de PdD basales en *RGT*. Nous avons observé que notre groupe de femelles était dépourvu d'individus avec un mauvais niveau de PdD, avec au contraire une grande majorité d'individus présentant un bon niveau. Il est possible que nos animaux n'aient donc pas présenté une vulnérabilité nécessaire pour observer un effet du *BD* sur cette fonction cognitive, contrairement aux mâles. Nos résultats peuvent aussi suggérer que le *BD* n'a qu'un effet très limité sur des individus performants dans la tâche. Nous rejoignons dans ce sens notre première étude montrant que le *binge* volontaire semblait plutôt affecter des rats avec un niveau intermédiaire de PdD. Dans ce sens, Il serait ainsi intéressant de comparer les deux sexes en utilisant des groupes présentant une répartition similaire dans les niveaux de prise de décision en *RGT*. Toujours dans une idée de

vulnérabilité, il est intéressant de noter que les femelles se sont révélées globalement peu anxieuses en *LDB*, et surtout significativement moins que les mâles. Il a été montré en *IGT* que l'anxiété impacte de manière différente la PdD selon le sexe, avec notamment seulement un haut niveau affectant les femmes (de Visser *et al.*, 2010). Il est donc une nouvelle fois possible que nos femelles n'aient pas présenté un « terrain » propice à observer des atteintes cognitives ensuite exacerbées par l'alcool.

3. Limites et perspectives

Les études que nous avons réalisées présentent plusieurs limites. Une première réside dans le fait que nous avons travaillé exclusivement chez des rats adultes ayant dépassé la période de maturation cérébrale. La majeure partie des travaux sur le *BD* concerne la population adolescente, du fait de sa vulnérabilité toute particulière aux effets de l'alcool. L'adolescence est associée avec une maturation tardive des structures préfrontales impliquées dans la PdD et un neurodéveloppement important, et est une période de prise de risque et de recherche de sensations accrues, propice aux comportements risqués et à la consommation d'alcool (Casey, Jones and Hare, 2008). Notre modèle opérant de *BD* ne peut malheureusement pas être utilisé chez le rat adolescent, l'entraînement nécessaire étant trop long pour ne pas dépasser la fenêtre d'adolescence. Cette contrainte est la même pour la tâche de *RGT*. En ne nous focalisant que sur l'âge adulte, nous perdons probablement une fenêtre de vulnérabilité critique. Chez l'Homme, une plus faible PdD impulsive et sensibilité à la récompense immédiate a par exemple été montrée chez des adultes plus âgés (Eppinger, Nystrom and Cohen, 2012). L'utilisation de modèles forcés semble être la seule alternative actuelle, en attendant le développement d'un modèle volontaire pertinent pouvant être adapté chez le rat adolescent.

Une autre limite vient des possibles effets test-retest et d'apprentissage inhérents à une étude longitudinale. Proposer à nouveau un test à un sujet dans un intervalle de temps court expose au risque que celui-ci ait appris de la première fois et soit plus performant la seconde. Nous avons utilisé des objets différents en *NOR* entre les deux sessions de test pour limiter cet effet, mais nous avons réalisé les mesures en *LDB* et *RGT* dans les mêmes conditions. Il aurait été possible d'utiliser un autre test de mesure de l'anxiété, comme le labyrinthe en croix

surélevé, mais les conditions de celui-ci sont certainement trop différentes et amèneraient à la mesure d'autres critères difficilement comparables. Pour les mêmes raisons, il n'a pas été envisageable d'utiliser deux protocoles ou tâches différents pour les mesures de PdD. Bien que nous ne puissions exclure des effets d'apprentissage, nos résultats indiquent cependant que ceux-ci ont été limités. Nos mesures en *RGT* montrent que les animaux ont au contraire été moins performants la seconde fois. Le profil de choix observé a de plus été similaire entre les animaux du groupe forcé et du groupe volontaire, malgré un écart de temps différent dans les mesures entre les deux. Ces observations suggèrent donc que le principal facteur de causalité a bien été la consommation d'alcool en elle-même.

Une dernière limite vient du manque de données en termes de vulnérabilité au développement du comportement de *BD*. Bien que nous ayons pu mettre plusieurs fois en évidence une perturbation des capacités de PdD par le *BD*, nous n'avons que très peu appris concernant l'impact de ces capacités sur l'installation du comportement de consommation excessive et son intensité. Dans ce sens, nous n'avons malheureusement pas pu remplir tous nos objectifs. Nous avons essayé de corréler différents paramètres de choix et de consommation, mais nous avons travaillé avec un nombre trop faible d'animaux pour pouvoir réellement tirer des conclusions sur cet aspect. Dans l'idéal, il serait particulièrement intéressant d'avoir un effectif suffisamment important pour pouvoir obtenir des groupes significatifs d'animaux pour chaque sous-groupe de PdD (mauvais, neutre et bon). Il serait ainsi possible d'évaluer spécifiquement la vulnérabilité et les effets de l'alcool pour chacun de ces sous-groupes. Il est particulièrement envisageable qu'un groupe significatif constitué exclusivement d'animaux avec un mauvais niveau de PdD en *RGT* possède une vulnérabilité différente d'un groupe constitué de « bons décideurs » à développer un comportement de *BD* dans notre modèle opérant. Rivalan et al. ont par exemple montré qu'une PdD non adaptée en *RGT* est caractérisée par la combinaison de scores extrêmes dans des traits de prise de risque, de recherche de récompense, d'inflexibilité et d'impulsivité motrice (Rivalan *et al.*, 2011), qui sont tous liés à la consommation d'alcool. Mettre en place une telle étude demanderait cependant un nombre conséquent de rats, puisqu'en moyenne seule une faible minorité d'animaux a présenté un pauvre niveau de PdD en *RGT*. Bien que le protocole de Zeeb & al. soit plus adapté à une étude longitudinale et pharmacologique, nous avons observé qu'il est aussi moins apte à faire ressortir des rats « mauvais décideurs » que celui de Rivalan et al, ce qui est sûrement la conséquence du comportement très stable qui en résulte. Réaliser

des études de vulnérabilité nécessiterait probablement d'affiner un peu plus les paramètres de la tâche (probabilités, durée de l'entraînement, nombre de sessions tests...) pour pouvoir isoler plus facilement ces individus. Une possibilité serait de faire varier isolément seulement les probabilités de récompense ou de punition, comme déjà réalisé par Zeeb et al. (Zeeb, Robbins and Winstanley, 2009), ce qui permettrait également d'apprécier plus spécifiquement la sensibilité à la récompense et aux punitions. Il serait aussi intéressant de faire varier la nature de la récompense dans la tâche, et notamment d'opposer une récompense alcoolisée et alimentaire, ce qui permettrait d'obtenir une situation de choix entre la drogue et une autre alternative.

Enfin, nos futurs travaux devraient s'intéresser à associer la caractérisation du comportement de nos rats avec leur approche en conditionnement pavlovien. Il existe des variations importantes chez l'Homme et l'animal dans les réponses comportementales à des indices contextuels prédisant la récompense. Certains individus vont ainsi approcher et manipuler l'indice contextuel, caractérisés comme « *sign-trackers* », alors que d'autres au contraire engagent la location où la récompense est délivrée, caractérisés comme « *goal-trackers* » (pour revue, (Meyer et al., 2012)). Un indice contextuel acquérant des propriétés motivationnelles aberrantes peut contrôler le comportement de manière puissante, et conduire à une prise de décision inadaptée. Des études précliniques montrent ainsi que les « *sign-trackers* » sont plus enclins à développer un comportement addictif et impulsif (Flagel et al., 2010; Lovic et al., 2011). Dans ce contexte, il serait donc particulièrement intéressant d'associer prise de décision en *RGT* et comportement d'approche en conditionnement pavlovien, dans l'étude de la vulnérabilité au développement du comportement de *BD*.

C. Effets du *Binge Drinking* sur la transmission dopaminergique mésolimbique

1. Conséquences du *Binge Drinking*, différences liées au sexe et applications

a. Conséquences du *Binge drinking* : résultats des études pharmacologiques

Le deuxième objectif principal de cette thèse était d'étudier les mécanismes neurobiologiques impliqués dans les effets du *BD* sur la transmission DAergique mésolimbique. Nous avons ainsi conduit deux études de *FSCV* dans la partie *core* du NAcc, particulièrement impliquée dans les effets renforçants de l'alcool et dans la PdD (voir introduction). La première a fait suite au comportement dans notre première étude transversale sur le *BD* et la PdD (première étude). La seconde a quant à elle fait suite à nos études longitudinales utilisant un protocole forcé ou volontaire de *binge* (troisième étude). Dans un premier temps, nous n'avons pas mis en évidence de différence dans la transmission DAergique phasique en condition de base, entre des rats mâles naïfs et des rats mâles s'étant auto-administrés de l'alcool selon un *pattern* de *BD* pendant de nombreuses semaines. Nos mesures avaient été réalisées à distance des sessions de *BD* opérant (au moins deux semaines), et nous cherchions alors à apprécier les conséquences à long terme. Nous avons confirmé ces résultats dans notre étude longitudinale, puisque le *binge* volontaire et le *binge* forcé n'ont également pas eu d'effet en condition de base chez le mâle et la femelle, que ce soit sur des aspects de libération ou de recapture, et ce proche des dernières intoxications (les mesures ont été réalisées entre 48 heures au minimum, et une semaine au maximum après la dernière intoxication). **Nos résultats suggèrent donc que le *BD* ne semble pas modifier les propriétés de transmission DAergique mésolimbique dans le NAcc *core* en condition de base.** Nous avons néanmoins observé une différence entre bons et mauvais décideurs en *RGT* lors de la première étude, ce qui pourrait laisser penser qu'augmenter la proportion de mauvais décideurs chez nos rats bingers pourrait révéler une différence de libération DAergique. Quelques études ont montré en *FSCV ex vivo* que l'alcool chronique réduit la transmission DAergique mésolimbique, par une diminution de la libération phasique de DA et une augmentation de la recapture chez la souris (Karkhanis *et al.*, 2015), ou seulement une augmentation de la recapture chez le rat (Budygin *et al.*, 2007) et le macaque (Siciliano, Calipari, Yorgason, Lovinger, *et al.*, 2016). Ces travaux concernent néanmoins des modèles induisant une alcoolodépendance, et s'écartent de ceux que nous avons utilisés au cours de

cette thèse. A notre connaissance, aucune étude n'a apprécié les effets d'une exposition de type *binge* sur tranche. Nos observations rejoignent cependant directement l'étude en *FSCV in vivo* de Shnitko et al., qui n'a pas mis en évidence de différence en condition de base à l'âge adulte (J75) entre des rats naïfs et des rats ayant été exposés à une *AIE* à l'adolescence (gavage i.g 4g/kg entre J25 et J45). Une absence d'effet après exposition à l'adolescence, où la vulnérabilité est également marquée au niveau DAergique, renforce l'idée que le *BD* n'affecte pas les propriétés de transmission basale comme nous l'avons observé chez le rat adulte mâle et femelle.

Bien que nous n'ayons pas mis en évidence de différence en condition de base, l'utilisation d'agents pharmacologiques a révélé des effets particulièrement intéressants. L'application d'EtOH (100mM) a entraîné une augmentation du pic de concentration DAergique ($[DA]_{max}$) chez des rats mâles naïfs, principalement au travers d'une plus forte libération ($[DA]_p$, concentration de DA libérée par trains de stimulation), alors que la vitesse de recapture (V_{max} , vélocité du *DAT*) n'a pas été affectée. Bien que nous rejoignons la littérature scientifique concernant l'absence d'effets de l'EtOH aigu sur la vélocité du *DAT* dans le NAcc, nous nous opposons directement à ce qui a été observé sur la libération phasique évoquée (E. A. Budygin *et al.*, 2001; Jones, Mathews and Budygin, 2006; Mathews *et al.*, 2006; Yorgason *et al.*, 2014). En effet, il a régulièrement été montré que l'EtOH aigu inhibe au contraire cette libération, et il est suggéré que cet effet puisse résulter au moins partiellement d'un mécanisme compensateur s'opposant à l'élévation de la concentration extracellulaire tonique, notamment par le biais des autorécepteurs pré-synaptiques D2/3 (Grace *et al.*, 2007). Cette divergence dans nos résultats s'explique possiblement par la souche de rat utilisée puisque, à notre connaissance, nous sommes les seuls à avoir travaillé chez le LE en *FSCV ex vivo*, alors que les études citées précédemment et la majorité de la littérature utilisent des souris ou des rats SD. Comme nous l'avons abordé plus tôt, le LE semble être caractérisé par une vulnérabilité génétique toute particulière aux effets de l'alcool, que nous avons notamment mise en évidence dans la plasticité synaptique de l'hippocampe. Cette vulnérabilité est peut-être également caractérisée au niveau DAergique. Il a par exemple été montré dans une méta-analyse récente sur les niveaux de DA dans le striatum, que le niveau basal de DA est plus élevé dans le NAcc chez le LE par rapport au SD et au W (Egenrieder *et al.*, 2020). Une hypothèse envisageable est que ce niveau basal plus haut est lié à une activité ou une densité plus faible des auto-récepteurs D2/3 chez le LE, qui sont le principal mécanisme

de régulation négative de la libération de DA et du niveau extracellulaire dans le striatum. Ceci impliquerait donc un effet compensateur moins important pour contrer l'augmentation de la libération tonique provoquée par l'alcool, et pourrait expliquer les résultats que nous avons observés. Une libération phasique élevée de DA en réponse à l'EtOH provoquerait donc un effet renforçant plus important de l'alcool. Dans ce sens, nous avons montré que les rats LE sont plus susceptibles de développer un comportement de type *BD*, et il est suggéré que la concentration tonique extracellulaire dans le NAcc dicte la motivation du comportement dirigé vers un but, et est augmentée dans la condition de préférence (Besson and Louilot, 1997; Salamone *et al.*, 2007). De plus, l'absence d'effet de l'EtOH sur l'activité du DAT suggère que le principal mécanisme impliqué est pré-synaptique, et pourrait concerner les auto-récepteurs D2/3, ou d'autres mécanismes de libération dont nous n'avons pas connaissance. Il est en tout cas frappant de noter que les différences que nous avons observées entre les souches de rat en électrophysiologie se manifestaient sous les effets de l'alcool et non pas en condition de base, et que ce pourrait aussi être le cas ici. De futurs travaux devraient s'intéresser aux différences liées à la souche de rat utilisée dans le cadre de la transmission DAergique mésolimbique.

De manière intéressante, alors que nous n'avons pas observé de différence en condition de base, la réponse à l'EtOH a été différente chez les animaux ayant subi les procédures de *binge*. Le *binge* volontaire a ainsi résulté en une perte de l'effet d'augmentation du pic de concentration extracellulaire, tandis que le *binge* forcé a même réduit ce pic de concentration. Une fois de plus, cet effet a concerné principalement des mécanismes de libération et n'a pas affecté la vitesse de recapture par le DAT. Les deux protocoles de *binge* semblent avoir provoqué des effets allant dans le même sens, même si plus prononcés pour le *binge* forcé. Ce constat peut s'expliquer par un niveau d'exposition plus fort avec les injections répétées d'EtOH, mais aussi possiblement un effet confondant du stress induit sur le système DAergique mésolimbique (Ungless, Argilli and Bonci, 2010), les paradigmes forcés pouvant modéliser des aspects plus négatifs de l'intoxication comme nous l'avons précédemment suggéré. Nous avons également testé l'inhibition de la libération de DA relayée par le quinpirole (100 nM). Comme attendu de l'agonisme D2/3, son application a résulté en une diminution de la libération phasique évoquée de DA chez les mâles du groupe naïf, de *binge* volontaire et de *binge* forcé. Nous avons également observé une diminution du taux de recapture par le DAT, ce qui pourrait paraître surprenant, mais il a déjà été montré que le

quinpirole peut diminuer la demi-vie du DAT dans le striatum (Kimmel *et al.*, 2001). Nous n'avons en revanche pas observé de différence dans la réponse au quinpirole entre les rats mâles des différents groupes. Nous n'avons pas mis en évidence de différence entre les groupes lorsque de l'EtOH a été appliqué de nouveau après le quinpirole, mais l'effet d'augmentation de la libération phasique de DA chez les rats du groupe naïf a néanmoins été perdu.

La différence de réponse à l'EtOH que nous observons traduit possiblement des mécanismes d'adaptation qui se sont mis en place pour contrer les expositions répétées à l'alcool pendant les épisodes de *binge*. Bien qu'aucune différence n'ait pu être mise en évidence en condition de base, des changements, seulement révélés sous les effets de l'alcool, ont manifestement bien eu lieu. Comme déjà abordé, la libération évoquée de DA est principalement régulée par les auto-récepteurs D2/3, dont le [DA]_p est un reflet (Kennedy, Jones and Wightman, 1992), et un mécanisme potentiel d'adaptation pourrait être lié à une augmentation de l'activité ou de l'expression de ces récepteurs. Il en résulterait alors, comme nous l'observons, une diminution de la libération phasique de DA en réponse à l'EtOH. Cette hypothèse semble d'autant plus vraisemblable que l'application d'EtOH concomitante avec le quinpirole a bloqué les effets d'augmentation observés chez le rat naïf, suggérant que les effets de l'EtOH passent bien en partie par ces récepteurs. L'absence de différence entre nos groupes dans la sensibilité au quinpirole suppose néanmoins que d'autres mécanismes interviennent. L'une des pistes les plus intéressantes concerne les récepteurs kappa aux opioïdes, qui participent à la régulation négative de la transmission DAergique mésolimbique. Il a en effet été montré plusieurs fois que l'EtOH chronique augmente la sensibilité de ces récepteurs, qui participent ainsi à l'état hypoDAergique dans le NAcc durant l'addiction (Siciliano *et al.*, 2015; Rose, Anushree N. Karkhanis, *et al.*, 2016). Les possibles « processus opposants » que nous mettons en évidence pourraient constituer la première étape de ceux observés dans le cadre de consommations plus sévères, aboutissant à des neuroadaptations robustes et l'état hypoDAergique bien mis en évidence dans l'addiction à l'alcool. La perte de l'effet d'augmentation induit par l'EtOH aigu avec l'historique de *BD* peut-être reliée à un syndrome de déficit de récompense, où l'alcool est moins récompensant et la consommation doit être augmentée pour activer le circuit de la récompense. Les patients alcoolodépendants en sevrage présentent une réponse DAergique diminuée dans le striatum, ainsi qu'un taux plus faible de récepteurs D2 (Volkow, Wang, *et al.*, 1996; Volkow *et al.*, 2007). De même, une

plus forte recapture et activité des autorécepteurs D2/3 a été mise en évidence après une consommation chronique d'EtOH (plus d'un an) chez le macaque (Siciliano, Calipari, Yorgason, Lovinger, *et al.*, 2016). Les neuroadaptations qui ont été provoquées par notre modèle n'étaient peut-être pas encore suffisamment robustes pour être démasquées en condition de base, mais ce pourrait être potentiellement le cas avec la poursuite des épisodes de *binge* ou des mesures plus lointaines. Dans ce sens, il a été montré chez le rat LE que de nombreuses semaines de consommation en *IA2BC* (7 à plus de 12 semaines) induisent une déficience DAergique dans le NAcc en microdialyse (Barak *et al.*, 2011), ou encore une réduction dans l'expression génique de certains isoformes des récepteurs D2 chez le rat W (Feltmann *et al.*, 2018). Notre laboratoire a également déjà montré que le protocole de *binge* forcé que nous avons utilisé provoque des neuroadaptations à long terme dans le NAcc après exposition à l'adolescence (avec une immunoréactivité c-fos diminuée et une altération de l'expression de gènes impliqués dans les effets comportementaux de l'EtOH, Penk et Slc6a4) et une augmentation de la motivation à consommer à l'âge adulte (Alaux-Cantin *et al.*, 2013). Des études de microdialyse devraient être réalisées en parallèle de celles en *FSCV* pour apprécier la fluctuation du niveau DAérique tonique extracellulaire dans le NAcc, afin de confirmer nos hypothèses. Il faut noter que dans l'étude de Shnitko précédemment citée, où comme nous, aucune différence n'a été observée en condition de base entre animaux naïfs et animaux exposés à l'adolescence, une différence de réponse à l'EtOH à l'âge adulte a également été mise en évidence mais pour des conclusions différentes (Shnitko *et al.*, 2016). Des injections cumulatives (1, 2 et 4 g/kg) à l'EtOH ont ensuite diminué la libération phasique évoquée de DA chez les animaux naïfs, mais n'ont eu aucun effet sur les autres. Il est suggéré au contraire dans ce travail qu'une exposition de type *binge* à l'adolescence perturbe des mécanismes neuroadaptatifs supposés se mettre en place pour répondre à l'alcool, et font persister un phénotype adolescent vulnérable à l'âge adulte. Ce travail a néanmoins apprécié une exposition à l'adolescence puis une mesure à l'âge adulte, et ce chez le rat SD en *FSCV in vivo*, ce qui rend les comparaisons avec notre étude limitées.

En résumé, nos résultats montrent que le *BD* perturbe bien la transmission DAergique mésolimbique dans le NAcc chez le rat mâle. Même si ces perturbations n'ont pas été observées en condition de base, elles ont été révélées sous les effets de l'alcool, sous la forme de mécanismes compensateurs aboutissant potentiellement à des neuroadaptations sur le long terme et les prémices d'un syndrome de déficit de

récompense. Ces mécanismes semblent concerner en partie les autorécepteurs D2/3. Nous nous inscrivons dans l'idée que le *BD* pourrait constituer une étape dans le développement futur d'*AUD*, déjà visible au niveau neurobiologique. Volkow et al. décrivent ainsi les épisodes de *binge* comme une étape à part entière dans les stades de l'addiction (Volkow, Koob and McLellan, 2016). La poursuite des épisodes de *BD* pourrait ainsi potentiellement conduire à l'état hypoDAergique bien mis en évidence dans l'addiction à l'alcool, et être en partie responsable des phénomènes de *craving* et de rechute.

b. Différences liées au sexe : une sensibilité différente à la pharmacologie ?

L'un des résultats les plus intéressants que nous avons obtenus concerne les différences de réponse DAergique en pharmacologie entre les mâles et femelles. Alors que nous n'avons pas observé de différence en condition de base, la réponse aux agents pharmacologiques a été différente selon le sexe. EtOH et quinpirole n'ont ainsi eu aucun effet chez la femelle naïve, que ce soit au niveau de la libération ou du taux de recapture. L'EtOH aigu n'a eu également aucun effet chez les femelles du groupe de *binge* volontaire et forcé. Tout comme en comportement, nous ne rejoignons donc pas l'idée d'une plus forte vulnérabilité de la femelle aux effets de l'alcool. De manière intéressante, une sensibilité au quinpirole a néanmoins été retrouvée chez ces animaux, avec un effet similaire aux mâles sur la libération phasique de DA, et une tendance similaire sur le taux de recapture.

Nos résultats semblent ainsi indiquer une sensibilité pharmacologique différente chez la femelle, et suggèrent que le *BD* chronique augmente la sensibilité à l'inhibition de la libération de DA médiée par le quinpirole chez la femelle, mais pas le mâle.

Peu d'études ont apprécié des différences liées au sexe dans le cadre de la transmission DAergique mésolimbique, mais nos observations rejoignent celles de Siliciano et al. chez le macaque (Siliciano, Calipari, Yorgason, Lovinger, *et al.*, 2016; Siliciano, Calipari, Yorgason, Mateo, *et al.*, 2016). Il a en effet été observé dans ces travaux une augmentation de l'inhibition relayée par le quinpirole (30nm à 100nM en doses cumulatives) chez le macaque femelle, mais pas chez le macaque mâle, après une période d'AA chronique d'EtOH. Les auteurs ont conclu à une augmentation de la sensibilité des autorécepteurs D2/3 par l'EtOH, et ont également observé plus spécifiquement que la contribution des D2 devenait prédominante par rapport

aux D3 avec la consommation d'alcool. Ces études n'ont cependant pas cherché à expliquer les différences observées liées au sexe. Une différence de sensibilité entre les deux sexes aux effets de la pharmacologie D2 a également été mise en évidence dans le cadre du RGT, l'eticlopride (antagoniste D2) diminuant les performances chez le mâle mais pas la femelle, tandis que le quinpirole (agoniste D2) a inversement diminué les performances chez la femelle mais pas le mâle (Georgiou *et al.*, 2018). Ces différences se retrouvent donc aussi bien au niveau comportemental que neurobiologique.

Globalement, après l'avoir déjà fait en comportement, nous montrons donc qu'il est fondamental d'apprécier des possibles différences liées au sexe au niveau neurobiologique.

Bien que cela dépasse le cadre de notre travail, il existe plusieurs pistes intéressantes pouvant fournir un début d'explication. Une sensibilité différente au quinpirole chez le mâle et la femelle peut suggérer une activité, une affinité ou une densité différente des récepteurs D2/3. Il a par exemple été observé une plus forte libération de DA chez l'homme sain par TEP en utilisant le raclopride (Munro *et al.*, 2006), ou encore une transmission DAergique nigrostriatale plus finement régulée chez le rat femelle par le contrôle des autorécepteurs sur le DAT (Walker, Ray and Kuhn, 2006). Une plus faible affinité des récepteurs D2 chez la femme a également déjà été observée, suggérant une concentration DAergique striatale endogène plus importante (Pohjalainen *et al.*, 1998). La récente méta-analyse d'Egenrieder *et al.* sur 39 études de microdialyse n'a cependant pas mis en évidence de différences liées au sexe dans le niveau DAergique basal au sein du NAcc ou en réponse à de nombreuses drogues, dont l'EtoH (Egenrieder *et al.*, 2020). Des différences à d'autres échelles spatio-temporelles, comme ce pourrait être le cas en FSCV, ne sont cependant pas exclues.

Les différences liées au sexe peuvent également concerner le cycle hormonal, qui influence la libération des neurones DAergiques dans l'ATV (pour revues, (Becker and Koob, 2016; Becker and Chartoff, 2019). Il a par exemple été montré qu'il n'y a pas forcément de différences liées au sexe dans la densité des récepteurs D2 striataux, mais que l'œstradiol affecte différemment la liaison à ces récepteurs chez l'homme et la femme. Il existe également des différences importantes liées au sexe dans l'expression des récepteurs aux œstrogènes (notamment alpha et beta à l'œstradiol) et aux androgènes.

Groupes	Traitement	[DA]max	[DA]p	Vmax	Groupes	Traitement	[DA]max	[DA]p	Vmax
Naïf	EtOH	↗	↗	Aucun effet	Naïf	EtOH	Aucun effet	Aucun effet	Aucun effet
	Quinpirole	↘	↘	↘		Quinpirole	Aucun effet	Aucun effet	Aucun effet
	EtOH + Quinpirole	↘	↘	↘+ bloqué EtOH		EtOH + Quinpirole	Aucun effet	Aucun effet	Aucun effet
Binge volontaire	EtOH	Aucun effet	Aucun effet	Aucun effet	Binge volontaire	EtOH	Aucun effet	Aucun effet	Aucun effet
	Quinpirole	↘	↘	↘		Quinpirole	↘	↘	↘
	EtOH + Quinpirole	↘	↘	↘		EtOH + Quinpirole	Aucun effet	Aucun effet	Aucun effet
Binge forcé	EtOH	↘	↘	Aucun effet	Binge forcé	EtOH	Aucun effet	Aucun effet	Aucun effet
	Quinpirole	↘	↘	↘		Quinpirole	↘	↘	↘
	EtOH + Quinpirole	↘	↘	↘		EtOH + Quinpirole	Aucun effet	Aucun effet	↘

Tableau 3 : Tableaux récapitulatifs des études de pharmacologie réalisées en FSCV chez les mâles (bleu) et les femelles (orange), dans le cadre des effets du BD sur la transmission DAérgique mésolimbique.

c. Applications à la prise de décision inadaptée dans le *Binge Drinking*

De manière intéressante, nous avons observé lors de notre première étude en *FSCV* une libération phasique de DA significativement plus faible chez les rats avec un mauvais niveau de PdD en *RGT*, par rapport à ceux avec un bon niveau. Il faut noter que les groupes de PdD que nous avons formés à ce moment incluaient à la fois des animaux naïfs et des animaux *bingers*. Même si nous n'avons pas mis en évidence de différence dans le profil de transmission DAergique mésolimbique entre ces groupes, nous ne pouvons pas exclure un possible effet de l'alcool. Il s'agit d'un résultat surprenant, puisqu'une libération phasique de DA plus faible chez les rats avec un mauvais niveau de PdD suggère une sensibilité plus faible à un effet récompensant, profil que l'on aurait plutôt attendu chez les animaux bons décideurs. Il a par exemple été montré que la prise de risque en *RDT* est corrélée positivement à la libération phasique de DA dans la partie *shell* du NAcc (Freels *et al.*, 2019). Une possibilité est que cette libération phasique plus faible traduise la compensation d'un niveau extracellulaire tonique basal plus élevé chez les rats mauvais décideurs, notamment par la régulation négative des autorécepteurs D2/3, qui impliquerait tout de même une motivation plus importante pour la récompense. Une fois de plus, vérifier cette hypothèse aurait nécessité de réaliser des mesures en microdialyse. Bien que des raccourcis entre un mécanisme neurobiologique spécifique et un comportement complexe doivent être évités, il est particulièrement intéressant de noter que des effets allant dans le même sens ont été retrouvés à la fois en comportement et en *FSCV* dans notre étude longitudinale. Les femelles ont ainsi été insensibles aux effets de l'alcool sur la prise de décision en *RGT*, tout comme nos femelles naïves ont été insensibles à la pharmacologie en *FSCV* et nos femelles des groupes de *binge* ont été insensibles à l'EtOH aigu. Les mâles ont au contraire été sensibles aux effets de l'alcool sur la prise de décision en *RGT*, et sensibles à la pharmacologie en *FSCV*.

Nos résultats suggèrent que les performances en *RGT* sont potentiellement liées à la signalisation DAergique mésolimbique dans le NAcc. Il est envisageable que la perturbation de la signalisation DAergique pourrait ainsi affecter une valeur aberrante à un effet récompensant (et donc l'alcool) et biaiser le processus de choix. Nous confirmons l'intérêt d'utiliser un tel outil pour étudier les mécanismes neurobiologiques impliqués dans la PdD inadaptée dans le cadre du *BD*.

Les données que nous avons obtenues en *FSCV* suggèrent notamment que les récepteurs D2/3 pourraient être une cible intéressante dans la modulation des effets de l'alcool. L'utilisation d'agonistes et antagonistes D2/3 n'a cependant montré que des effets limités voire absents sur le comportement de l'animal sain en *RGT* (Zeeb, Robbins and Winstanley, 2009; Di Ciano *et al.*, 2015), et leur utilisation dans le traitement de l'alcoolodépendance montre des résultats inconstants et des possibles effets indésirables, notamment en termes de potentiel addictif et d'action non sélective (pour revue, (Jayaram-Lindström *et al.*, 2016)). Il serait néanmoins particulièrement intéressant d'en utiliser dans le cadre de futures études pharmacologiques en *RGT* chez des rats *bingers*. Il est par exemple montré que les récepteurs D2 et la signalisation dans le striatum impactent directement l'impulsivité (Trifilieff and Martinez, 2014). Apprécier correctement la relation entre le niveau de *binge* et la transmission DAergique mésolimbique aurait nécessité des analyses de corrélation, mais nous ne disposons pas d'un effectif suffisamment grand pour en retirer quelque chose de pertinent au niveau statistique.

2. Limites et perspectives

Plusieurs limites ressortent de nos études en *FSCV*. La première concerne, tout comme c'était le cas en comportement, le fait que nous n'ayons travaillé que chez l'adulte. La plupart des études en *FSCV* utilisent un *design* d'exposition à l'adolescence puis d'observation des conséquences à l'âge adulte. Comme abordé plusieurs fois au cours de ce manuscrit, la vulnérabilité de l'adolescent est également caractérisée au niveau DAergique, et les effets de l'alcool sur le système DAergique mésolimbique sont donc possiblement différents de ceux chez l'adulte. Il est néanmoins important de poursuivre les études chez l'adulte confirmé, puisque le *BD* touche toutes les tranches d'âge. De plus, la restriction à la fenêtre d'adolescence ne permet d'étudier les effets du *binge* que dans le cadre de protocoles forcés.

Une seconde limite concerne l'absence de suivi longitudinal dans notre analyse, inhérente à l'utilisation d'une technique *ex vivo*. Bien que nous ayons utilisé des animaux naïfs, nous ne pouvons ainsi exclure que les différents effets que nous avons observés sur le système DAergique mésolimbique aient été influencés par une vulnérabilité neurobiologique pré-existante. La perspective directe pour pallier cette limite est l'utilisation de la technique de

FSCV in vivo sur animal anesthésié, que nous développons actuellement au laboratoire. Il nous sera ainsi possible comme en comportement d'effectuer plusieurs mesures, en condition de base puis après exposition à un modèle de *binge*. Bien que cette technique soit moins adaptée à des études spécifiques de pharmacologie que sur tranche, elle permet également de prendre en compte le cerveau entier et les mécanismes de régulation qui entrent en jeu. Pour aller plus loin, il serait ensuite particulièrement intéressant de mettre en place la *FSCV in vivo* sur animal éveillé, voire en comportement. Il serait ainsi possible d'apprécier les événements transitoires de faible amplitude (*transients* phasiques) uniquement observables *in vivo*, et des modifications dans la signalisation DAergique mésolimbique aussi bien en AA opérante qu'en *RGT*, ce qui permettrait d'étudier spécifiquement des fluctuations en réponse à un événement récompensant ou punitif, à un stimulus contextuel, et sous les effets de l'alcool.

Une troisième limite vient du fait que nous nous soyons focalisés uniquement sur la partie *core* du NAcc. Nous étions limités dans le temps à la fois par la durée nécessaire aux études pharmacologiques en *FSCV*, et le *timing* que nous devons respecter dans nos études longitudinales. Cette limite de temps nous a également contraints à n'utiliser qu'une seule dose pour nos agents pharmacologiques. Du fait que nous utilisions des tâches de conditionnement opérant en comportement (AA et *RGT*), il nous apparaissait plus intéressant de nous restreindre plutôt à la partie *core*, du fait de son implication démontrée dans le traitement des stimuli conditionnés et des aspects motivationnels dans leur approche (Cardinal and Cheung, 2005; Day *et al.*, 2010; Dreyer *et al.*, 2016). Il est néanmoins bien mis en évidence que la partie *shell* est impliquée dans l'aspect récompensant des substances (Goodman, 2008; Koob and Volkow, 2010), ainsi que dans la PdD risquée (Freels *et al.*, 2019), et nous y avons précédemment mis en évidence des neuroadaptations à long terme suite à une exposition de type *binge* à l'adolescence (Alaux-Cantin *et al.*, 2013). Des études similaires à celles que nous avons réalisées devraient donc être conduites dans cette structure dans le futur. Bien entendu, le NAcc et la voie mésolimbique ne représentent qu'une partie des composantes DAergiques impliquées dans la PdD, et il serait également intéressant de réaliser des études en *FSCV* dans d'autres structures comme le striatum dorsal, le cortex préfrontal ou encore l'amygdale. De même, il sera intéressant d'explorer d'autres systèmes de neurotransmission, tout particulièrement le système endocannabinoïde (sur lequel notre laboratoire débute actuellement un projet) et le système cholinergique. Enfin, une dernière limite vient de l'absence d'expériences de biologie moléculaire complémentaires à nos études

en *FSCV*. De telles manipulations nous auraient en effet permis de vérifier les niveaux d'expression de plusieurs protéines, notamment des autorécepteurs D2/3, et d'ainsi peut-être mettre en évidence des neuroadaptations concrètes aussi bien pré- que post-synaptiques.

D. Conclusion générale

Les travaux réalisés au cours de cette thèse avaient pour objectifs de mieux comprendre la relation entre *BD* et PdD, ainsi que d'identifier les mécanismes neurobiologiques impliqués dans les effets de ce mode de consommation sur la transmission DAergique mésolimbique. Cette thèse a également été l'occasion de mieux caractériser le modèle volontaire de *BD* opérant développé par notre laboratoire, dans lequel nous avons mis en évidence que le rat LE est probablement la souche idéale à utiliser, du fait d'une vulnérabilité génétique toute particulière. Nous montrons ainsi l'importance de considérer et rapporter un ensemble de conditions expérimentales dans les études précliniques. Nous favorisons également l'idée d'utiliser plutôt des paradigmes volontaires dans la modélisation du *BD*.

Au cours d'études transversales et longitudinales, nous avons pu mettre en évidence que le *BD* perturbe les capacités de PdD dans une situation de choix conflictuelle et risquée, modélisée par la *RGT*, et ce seulement chez le rat mâle. La nature de ces perturbations est néanmoins dépendante des conditions expérimentales et des paramètres utilisés dans cette tâche, et bien que nous confirmons l'intérêt d'utiliser un tel outil, nous montrons également l'importance de continuer à affiner ses paramètres dans le futur. Nos résultats ont également permis de mettre en avant l'importance de réaliser des études comportementales sous influence de l'alcool, puisque nous avons observé une hypersensibilité à la récompense chez le rat *binge*, uniquement révélée après exposition aiguë à l'EtOH. Des différences comportementales entre des individus avec ou sans consommation à risque peuvent ainsi être difficiles à distinguer en condition de base en clinique. De telles perturbations dans les capacités à faire le bon choix après *BD* peuvent être à l'origine d'une perte de contrôle de la consommation, et favoriser la poursuite de ce comportement nocif. Retrouver des atteintes ressemblant à celles observées chez l'alcoolodépendant sur cette fonction cognitive renforce l'idée que le *BD* puisse être une première étape au développement futur d'*AUD*. Nous confirmons également la nécessité fondamentale de poursuivre la recherche de différences liées au sexe dans la vulnérabilité aux effets du *BD*, puisque nos rats femelles ont présenté une sensibilité différente aux effets de l'alcool sur la PdD. Nous ne pouvons néanmoins pas conclure à un phénomène général, puisque nos groupes de PdD n'étaient pas stratifiés avec la même représentation entre mâles et femelles, et l'influence des capacités de PdD de base doit être prise en compte.

Au niveau neurobiologique, nous avons mis en évidence que le *BD* perturbe la transmission DAergique mésolimbique dans le NAcc, centre des effets renforçants de l'alcool. Bien que ces perturbations n'aient pas été visibles en condition de base, elles ont été révélées, tout comme ce fut aussi le cas en comportement, sous l'influence de l'alcool. Nos résultats suggèrent que les alcoolisations répétées du *BD* induisent la mise en place de mécanismes compensateurs, pour lutter face à l'élévation de la concentration extracellulaire tonique provoquée par l'alcool. L'utilisation du quinpirole a permis de supposer que les effets observés impliquent en partie les autorécepteurs D2/3, qui constituent une cible de grand intérêt en recherche. Ces mécanismes sont probablement à l'origine au long terme de neuroadaptations robustes d'abord masquées en condition de base, puis responsables de l'état hypoDAergique et du syndrome de déficit de récompense retrouvés chez l'alcoolodépendant. Une fois de plus, et cette fois au niveau neurobiologique, nous suggérons que le *BD* constitue une étape dans le développement de l'*AUD*. De même, nous mettons en évidence encore une fois des différences liées au sexe, avec une sensibilité neurobiologique différente aux effets de l'alcool et de la pharmacologie.

Bien que nous n'ayons pas mis en évidence de relation claire entre PdD en *RGT* et transmission DAergique phasique dans le NAcc, nos résultats suggèrent que les deux sont liés. Nous émettons l'hypothèse que, en perturbant cette transmission, le *BD* pourrait ainsi altérer les valeurs attribuées par le circuit de la récompense à l'alcool, et par conséquent biaiser le processus de choix vers la poursuite de la consommation. A l'inverse, une vulnérabilité neurobiologique dans la transmission DAergique pourrait elle-même affecter les capacités de PdD de base, et la sensibilité aux effets récompensants de l'alcool. Sur le long terme, ce phénomène pourrait contribuer à un cercle vicieux entre capacités de PdD, consommation d'alcool de type *BD* et fonction DAergique mésolimbique, jouant un rôle dans la perpétuation de la consommation nocive d'alcool, et facilitant le développement précoce d'*AUD* (Figure 31). Ce cycle serait affecté par plusieurs facteurs comportementaux (capacités de PdD, contrôle inhibiteur, impulsivité, recherche de sensations...), sociaux (environnement social, exposition à l'alcool...) ou encore de vulnérabilité génétique (sexe, transmission DAergique mésolimbique...).

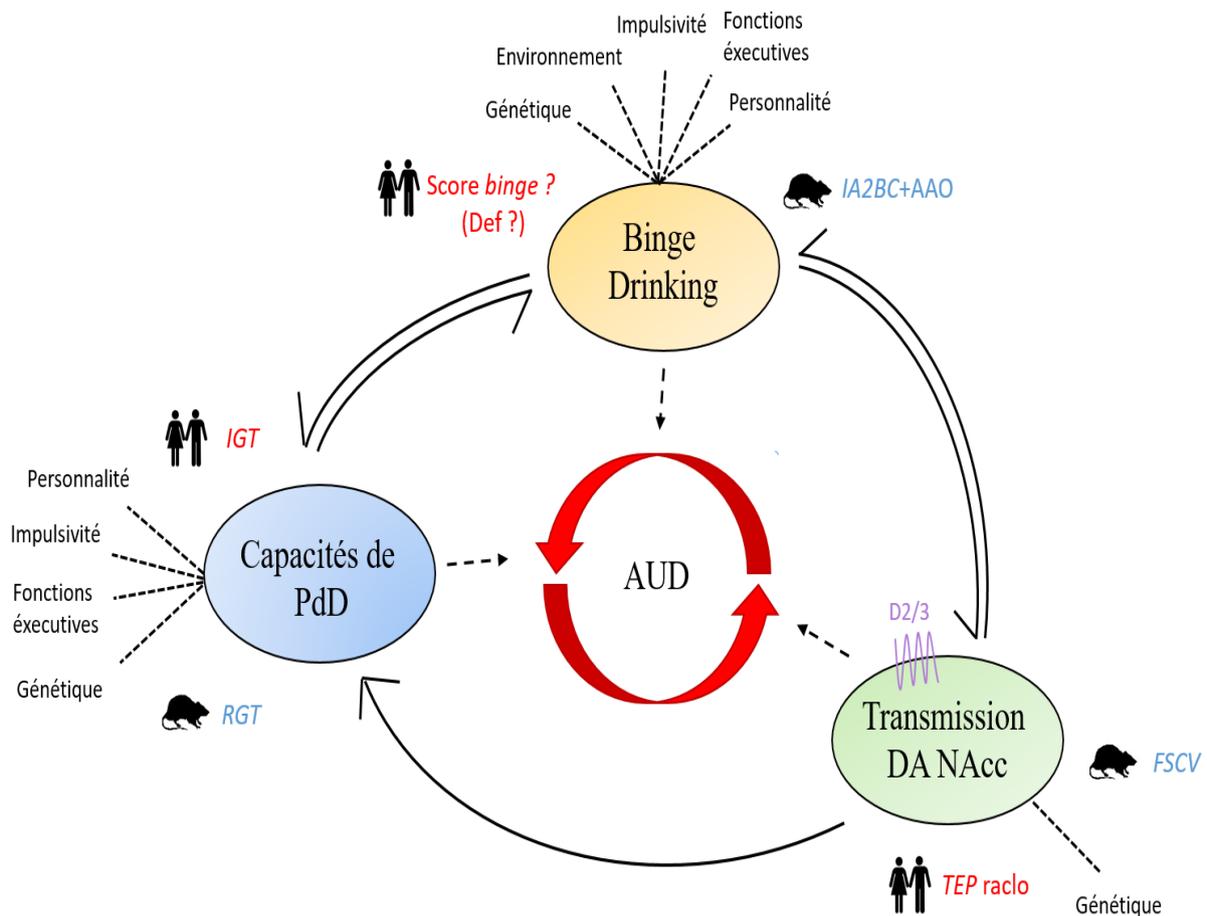


Figure 31 : Schéma bilan des principales hypothèses à l'issue de la thèse. BD, capacités de PdD et transmission DAergique dans le NAcc jouent un rôle dans un cercle vicieux alimentant la consommation problématique d'alcool, et favorisant le développement précoce d'AUD. Ce cercle est affecté par une vulnérabilité impliquant des facteurs comportementaux, socio-environnementaux et génétiques. Des outils cliniques (rouge) et précliniques (bleu) permettent d'apprécier chaque acteur de ce cycle. AAO : auto-administration opérante, AUD : alcohol use disorders, DA : dopamine, FSCV : fast-scan cyclic voltammetry, IA2BC : intermittent access two-bottle choice, IGT : iowa gambling task, NAcc : noyau accumbens, PdD : prise de décision, RGT : rat gambling task, TEP : tomographie par émission de positons, raclo : raclopride.

Nos résultats appellent désormais à de futures expériences se focalisant plus amplement sur des aspects de vulnérabilité au développement du comportement de BD, ce que nous n'avons pas réussi à faire au cours de cette thèse. Il est fondamental de mieux comprendre la vulnérabilité à développer une consommation problématique d'alcool, notamment dans l'identification de marqueurs de vulnérabilité chez des individus à risque, pour pouvoir proposer des méthodes efficaces de détection précoce et de prévention. Dans ce sens, il est nécessaire de travailler avec des effectifs suffisamment importants pour pouvoir stratifier des

groupes selon les capacités de PdD. En recherche préclinique, le comportement des animaux devrait être caractérisé au maximum, notamment en termes de capacités de PdD et d'impulsivité. Au niveau neurobiologique, l'utilisation de la *FSCV in vivo* et la réalisation de manipulations complémentaires de biologie moléculaire devraient permettre de mieux identifier les mécanismes que nous avons mis en évidence. Des effectifs suffisamment importants sont une nouvelle fois nécessaires pour mieux analyser la relation entre PdD et transmission DAergique mésolimbique. Le cadre de ce travail devrait également être élargi à d'autres structures et systèmes de neurotransmission impliqués dans la PdD, afin de pouvoir faire plus facilement le lien entre des mécanismes neurobiologiques et des comportements complexes.

Au niveau clinique, les études en *IGT* opposant *bingers* et non *bingers*, ou si possible utilisant un suivi longitudinal, doivent être poursuivies, et ce avec une caractérisation comportementale poussée également. Ces études devraient être aussi bien réalisées en condition de base que sous l'influence des effets de l'alcool. Mettre en place des études d'imagerie cérébrale chez ces individus pendant l'*IGT*, en utilisant la PET et le raclopride, permettrait également d'apprécier des éventuelles différences de fixation aux récepteurs D2/3 au cours de la PdD, ou autres potentiels marqueurs neurobiologiques, et de rejoindre les observations précliniques. Au vu des différences liées au sexe que nous mettons en évidence aussi bien au niveau comportemental que neurobiologique, dans un contexte où les études dans le champ du *BD* ne sont pas concluantes, il est fondamental que tout soit réalisé aussi bien chez l'homme que la femme.

BIBLIOGRAPHIE

- Aarts, E., van Holstein, M. and Cools, R. (2011) 'Striatal dopamine and the interface between motivation and cognition', *Frontiers in Psychology*, pp. 2: 1-11. doi: 10.3389/fpsyg.2011.00163.
- Abraham, K. P., Salinas, A. G. and Lovinger, D. M. (2017) 'Alcohol and the Brain: Neuronal Molecular Targets, Synapses, and Circuits', *Neuron*, pp. 96(6), 1223–1238. doi: 10.1016/j.neuron.2017.10.032.
- Adan, A., Forero, D. A. and Navarro, J. F. (2017) 'Personality Traits Related to Binge Drinking : A Systematic Review', *Frontiers in Psychiatry*, 8(July), pp. 1–11. doi: 10.3389/fpsyt.2017.00134.
- Adan, A., Francisco, J. and Forero, D. A. (2016) 'Personality profile of binge drinking in university students is modulated by sex . A study using the Alternative Five Factor Model', *Drug and Alcohol Dependence*. Elsevier Ireland Ltd, 165, pp. 120–125. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2016.05.015.
- Adinoff, B. *et al.* (2003) 'Resting regional cerebral blood flow and gambling task performance in cocaine-dependent subjects and healthy comparison subjects', *American Journal of Psychiatry*. doi: 10.1176/appi.ajp.160.10.1892.
- Adriani, W. *et al.* (2009) 'Home cage testing of delay discounting in rats', *Behavior Research Methods*, 41, pp. 1169–1176. doi: 10.3758/BRM.41.4.1169.
- Agabio, R., Pisanu, C. and Franconi, G. L. G. and F. (2017) 'Sex Differences in Alcohol Use Disorder', *Current Medicinal Chemistry*. doi: <http://dx.doi.org/10.2174/0929867323666161202092908>.
- Ahlenius, S. *et al.* (1973) 'Antagonism by alpha methyltyrosine of the ethanol-induced stimulation and euphoria in man', *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 14, pp. 586–891. doi: 10.1002/cpt1973144part1586.
- Ahmed, S. H. (2018) 'Individual decision-making in the causal pathway to addiction: contributions and limitations of rodent models', *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. Elsevier, 164(May), pp. 22–31. doi: 10.1016/j.pbb.2017.07.005.
- Alaux-Cantin, S. *et al.* (2013) 'Alcohol intoxications during adolescence increase motivation for alcohol in adult rats and induce neuroadaptations in the nucleus accumbens', *Neuropharmacology*, 67. doi: 10.1016/j.neuropharm.2012.12.007.
- Alderson, H. L. *et al.* (2001) 'The effects of excitotoxic lesions of the nucleus accumbens core or shell regions on intravenous heroin self-administration in rats', *Psychopharmacology*, pp. 153:455-463. doi: 10.1007/s002130000634.
- Alfonso-Loeches, S. and Guerri, C. (2011) 'Molecular and behavioral aspects of the actions of alcohol on the adult and developing brain', *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 48(1), pp. 19–47. doi: 10.3109/10408363.2011.580567.
- Andersen, P. H. *et al.* (1990) 'Dopamine receptor subtypes: beyond the D1/D2 classification', *Trends in Pharmacological Sciences*, (11), pp. 231–236. doi: 10.1016/0165-6147(90)90249-8.
- Arias-Carrión, O. *et al.* (2014) 'Orquestic regulation of neurotransmitters on reward-seeking behavior', *International Archives of Medicine*, 7(1). doi: 10.1186/1755-7682-7-29.

- Arias-Carrión, Ó. and Pöppel, E. (2007) 'Dopamine, learning, and reward-seeking behavior', *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, pp. 481–488.
- Armstrong, S. (1980) 'A chronometric approach to the study of feeding behavior', *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, (4), pp. 27–53. doi: 10.1016/0149-7634(80)90024-X.
- Ashenhurst, J. R., Harden, K. P. and Corbin, W. R. (2016) 'Trajectories of Binge Drinking and Personality Change Across Emerging Adulthood James', *Psychol Addict Behav*, 29(4), pp. 978–991. doi: 10.1037/adb0000116.Trajectories.
- Aufrère, G. *et al.* (1997) 'Ethanol intake after chronic intoxication by inhalation of ethanol vapour in rats: Behavioural dependence', *Alcohol*, 14(3), pp. 247–253. doi: 10.1016/S0741-8329(96)00175-9.
- Baarendse, P. J. . *et al.* (2014) 'Simultaneous blockade of dopamine and noradrenaline reuptake promotes disadvantageous decision making in a rat gambling task', *Psychopharmacology*, 225(3), pp. 719–731. doi: 10.1007/s00213-012-2857-z.Simultaneous.
- Badanich, K. A., Maldonado, A. M. and Kirstein, C. L. (2007) 'Chronic ethanol exposure during adolescence increases basal dopamine in the nucleus accumbens septi during adulthood', *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 31(5), pp. 895–900. doi: 10.1111/j.1530-0277.2007.00370.x.
- Badgaiyan, R. D. (2013) 'Detection of dopamine neurotransmission in “real time”', *Frontiers in Neuroscience*, 7(7 JUL), pp. 1–4. doi: 10.3389/fnins.2013.00125.
- Barak, S. *et al.* (2011) 'Glial cell line-derived neurotrophic factor reverses alcohol-induced allostasis of the mesolimbic dopaminergic system: Implications for alcohol reward and seeking', *Journal of Neuroscience*, 31(27), pp. 9885–9894. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1750-11.2011.
- Barrot, M. (2014) 'The ventral tegmentum and dopamine: A new wave of diversity', *Neuroscience*, pp. 282: 243–247. doi: 10.1016/j.neuroscience.2014.10.017.
- Bartzokis, G. *et al.* (2000) 'Abstinence from cocaine reduces high-risk responses on a gambling task', *Neuropsychopharmacology*. doi: 10.1016/S0893-133X(99)00077-9.
- Bayer, H. M. and Glimcher, P. W. (2005) 'Midbrain dopamine neurons encode a quantitative reward prediction error signal', *Neuron*, 47(1), pp. 129–141. doi: 10.1016/j.neuron.2005.05.020.
- Beaulieu, J.-M. and Gainetdinov, R. R. (2011) 'The Physiology, Signaling, and Pharmacology of Dopamine Receptors', *Pharmacological Reviews*, 63(1), pp. 182–217. doi: 10.1124/pr.110.002642.
- Bechara, A. *et al.* (1994) 'Insensitivity to Future Consequences following Damage to Human Prefrontal Cortex', *Cognition*, 50, pp. 7–15.
- Bechara, A. *et al.* (1997) 'Deciding advantageously before knowing the advantageous strategy', *Science*, pp. 1293–1295. doi: 10.1126/science.275.5304.1293.
- Bechara, A. *et al.* (1998) 'Dissociation of working memory from decision making within the human prefrontal cortex', *Journal of Neuroscience*, 18(1), pp. 428–437.

- Bechara, A. *et al.* (1999) 'Different contributions of the human amygdala and ventromedial prefrontal cortex to decision-making.', *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 19(13), pp. 5473–5481. doi: 0270-6474/99/19135473-09\$05.00/0.
- Bechara, A. *et al.* (2001) 'Decision-making deficits, linked to a dysfunctional ventromedial prefrontal cortex, revealed in alcohol and stimulant abusers', *Neuropsychologia*, 39(4), pp. 376–389. doi: 10.1016/S0028-3932(00)00136-6.
- Bechara, A. (2004) 'The role of emotion in decision-making: Evidence from neurological patients with orbitofrontal damage', *Brain and Cognition*, 55(1), pp. 30–40. doi: 10.1016/j.bandc.2003.04.001.
- Bechara, A. (2005) 'Decision making, impulse control and loss of willpower to resist drugs: A neurocognitive perspective', *Nature Neuroscience*, 8(11), pp. 1458–1463. doi: 10.1038/nn1584.
- Bechara, A. and Damasio, A. R. (2005) 'The somatic marker hypothesis: A neural theory of economic decision', *Games and Economic Behavior*. doi: 10.1016/j.geb.2004.06.010.
- Bechara, A. and Damasio, H. (2002) 'Decision-making and addiction (part II): Myopia for the future or hypersensitivity to reward?', *Neuropsychologia*, 40(10), pp. 1690–1705. doi: 10.1016/S0028-3932(02)00016-7.
- Bechara, A., Dolan, S. and Hinds, A. (2002) 'Decision-making and addiction (part I): Impaired activation of somatic states in substance dependent individuals when pondering decisions with negative future consequences', *Neuropsychologia*, 40(10), pp. 1675–1689. doi: 10.1016/S0028-3932(02)00015-5.
- Bechara, A. and Van Der Linden, M. (2005) 'Decision-making and impulse control after frontal lobe injuries', *Current Opinion in Neurology*. doi: 10.1097/01.wco.0000194141.56429.3c.
- Becker, J. B. and Chartoff, E. (2019) 'Sex differences in neural mechanisms mediating reward and addiction', *Neuropsychopharmacology*. Springer US, (March 2018). doi: 10.1038/s41386-018-0125-6.
- Becker, J. B. and Koob, G. F. (2016) 'Sex Differences in Animal Models : Focus on Addiction', (April), pp. 242–263.
- Bernheimer, H. and Hornykiewicz, O. (1965) 'Decreased homovanillic acid concentration in the brain in parkinsonian subjects as an expression of a disorder of central dopamine metabolism', *Klin Wochenschr*, (43(13)), pp. 711–715. doi: 10.1016/S1507-1367(10)60012-0.
- Le Berre, A. P. *et al.* (2014) 'Impaired decision-making and brain shrinkage in alcoholism', *European Psychiatry*, 29(3), pp. 125–133. doi: 10.1016/j.eurpsy.2012.10.002.
- Besson, C. and Louilot, A. (1997) 'Striatal dopaminergic changes depend on the attractive or aversive value of stimulus', *NeuroReport*. doi: 10.1097/00001756-199711100-00021.
- Bito-Onon, J. J. *et al.* (2011) 'Varenicline, a Partial Agonist at Neuronal Nicotinic Receptors, Reduces Nicotine-Induced Increases in 20% Ethanol Operant Self-Administration in Sprague-Dawley Rats Jade', *Addict Biol.*, (16(3)), pp. 440–449. doi: 10.1111/j.1369-1600.2010.00309.x. Varenicline,.

- Björklund, A. and Dunnett, S. B. (2007) 'Dopamine neuron systems in the brain: an update', *Trends in Neurosciences*, 30(5), pp. 194–202. doi: 10.1016/j.tins.2007.03.006.
- Blank, S. E., Duncan, D. A. and Meadows, G. G. (1991) 'Suppression of Natural Killer Cell Activity by Ethanol Consumption and Food Restriction', *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*. doi: 10.1111/j.1530-0277.1991.tb00514.x.
- Bø, R., Billieux, J. and Landrø, N. I. (2016) 'Binge drinking is characterized by decisions favoring positive and discounting negative consequences', *Addiction Research and Theory*, 24(6), pp. 499–506. doi: 10.3109/16066359.2016.1174215.
- Boileau, I. *et al.* (2003) 'Alcohol promotes dopamine release in the human nucleus accumbens', *Synapse*, 49, pp. 226–231. doi: 10.1002/syn.10226.
- Bolla, K. I. *et al.* (2004) 'Sex-related differences in a gambling task and its neurological correlates', *Cerebral Cortex*, 14(11), pp. 1226–1232. doi: 10.1093/cercor/bhh083.
- Bonaldi, C. and Hill, C. (2019) 'La mortalité attribuable à l'alcool en France en 2015 / alcohol-attributable mortality in France in 2015', *BEH*.
- Van Den Bos, R. *et al.* (2006) 'Toward a rodent model of the Iowa gambling task', in *Behavior Research Methods*, pp. 470–478. doi: 10.3758/BF03192801.
- van den Bos, R., Homberg, J. and de Visser, L. (2013) 'A critical review of sex differences in decision-making tasks: Focus on the Iowa Gambling Task', *Behavioural Brain Research*. Elsevier B.V., 238(1), pp. 95–108. doi: 10.1016/j.bbr.2012.10.002.
- Boutros, N. *et al.* (2015) 'Adolescent Intermittent Ethanol Exposure Is Associated with Increased Risky Choice and Decreased Dopaminergic and Cholinergic Neuron Markers in Adult Rats', pp. 1–9. doi: 10.1093/ijnp/pyu003.
- Brand, M., Fujiwara, E., *et al.* (2005) 'Decision-making deficits of Korsakoff patients in a new gambling task with explicit rules: Associations with executive functions', *Neuropsychology*. doi: 10.1037/0894-4105.19.3.267.
- Brand, M., Kalbe, E., *et al.* (2005) 'Decision-making impairments in patients with pathological gambling', *Psychiatry Research*, 133(1), pp. 91–99. doi: 10.1016/j.psychres.2004.10.003.
- Brand, M. *et al.* (2007) 'Decisions under ambiguity and decisions under risk: Correlations with executive functions and comparisons of two different gambling tasks with implicit and explicit rules', *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*. doi: 10.1080/13803390500507196.
- Brand, M., Labudda, K. and Kalbe, E. (2004) 'Decision-making impairments in patients with Parkinson's disease', *Behavioural Neurology*, 15, pp. 77–85.
- Broadwater, M. A. *et al.* (2014) 'Persistent loss of hippocampal neurogenesis and increased cell death following adolescent, but not adult, chronic ethanol exposure', *Developmental Neuroscience*, 36(3–4), pp. 297–305. doi: 10.1159/000362874.
- Brodie, M. S., Shefner, S. A. and Dunwiddie, T. V. (1990) 'Ethanol increases the firing rate of dopamine neurons of the rat ventral tegmental area in vitro', *Brain Research*, 508, pp. 65–59. doi: 10.1016/0006-8993(90)91118-Z.
- Bromek, E. *et al.* (2011) 'Cytochrome P450 mediates dopamine formation in the brain in

vivo', *Journal of Neurochemistry*, (118(5)), pp. 806–815. doi: 10.1111/j.1471-4159.2011.07339.x.

Brown, H. D. *et al.* (2011) 'Primary food reward and reward-predictive stimuli evoke different patterns of phasic dopamine signaling throughout the striatum', *European Journal of Neuroscience*, 34(12), pp. 1997–2006. doi: 10.1111/j.1460-9568.2011.07914.x.

Budygin, E. A. *et al.* (2001) 'Effect of acute ethanol on striatal dopamine neurotransmission in ambulatory rats', *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 297, pp. 27–34.

Budygin, Evgeny A *et al.* (2001) 'Terminal effects of ethanol on dopamine dynamics in rat nucleus accumbens: An in vitro voltammetric study', *Synapse*, 42(2), pp. 77–79. doi: 10.1002/syn.1101.

Budygin, E. A. *et al.* (2005) 'Local effects of acute ethanol on dopamine neurotransmission in the ventral striatum in C57BL/6 mice', *European Journal of Pharmacology*, 523, pp. 40–45. doi: 10.1016/j.ejphar.2005.09.006.

Budygin, E. A. *et al.* (2007) 'Effects of chronic alcohol exposure on dopamine uptake in rat nucleus accumbens and caudate putamen', *Psychopharmacology*, 193(4), pp. 495–501. doi: 10.1007/s00213-007-0812-1.

Buelow, M. T. and Suhr, J. A. (2009) 'Construct validity of the Iowa gambling task', *Neuropsychology Review*, 19(1), pp. 102–114. doi: 10.1007/s11065-009-9083-4.

Burnham, N. W. and Thiele, T. E. (2017) 'Voluntary Binge-like Ethanol Consumption Site-specifically Increases c-Fos Immunoexpression in Male C57BL6/J Mice', *Neuroscience*, 367, pp. 159–168. doi: 10.1016/j.neuroscience.2017.10.027.

Cachope, R. and Cheer, J. F. (2014) 'Local control of striatal dopamine release', *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 8(May), pp. 1–7. doi: 10.3389/fnbeh.2014.00188.

Campanella, S. *et al.* (2013) 'Increased Cortical Activity in Binge Drinkers during Working Memory Task : A Preliminary Assessment through a Functional Magnetic Resonance Imaging Study', *Plos One*, 8(4), pp. 1–10. doi: 10.1371/journal.pone.0062260.

Carbia, C. *et al.* (2017) 'Binge Drinking Trajectory and Decision-Making during Late Adolescence : Gender and Developmental Differences', 8(May), pp. 1–10. doi: 10.3389/fpsyg.2017.00783.

Cardinal, R. N. and Cheung, T. H. C. (2005) 'Nucleus accumbens core lesions retard instrumental learning and performance with delayed reinforcement in the rat', *BMC Neuroscience*, p. 6:9. doi: 10.1186/1471-2202-6-9.

Cardinal, R. N. and Howes, N. J. (2005) 'Effects of lesions of the nucleus accumbens core on choice between small certain rewards and large uncertain rewards in rats', *BMC Neuroscience*, p. 6:37. doi: 10.1186/1471-2202-6-37.

Carlson, S. M. (2005) 'Developmentally sensitive measures of executive function in preschool children', *Developmental Neuropsychology*. doi: 10.1207/s15326942dn2802_3.

Carlson, S. R., Johnson, S. C. and Jacobs, P. C. (2010) 'Addictive Behaviors Disinhibited characteristics and binge drinking among university student drinkers', *Addictive Behaviors*. Elsevier Ltd, 35(3), pp. 242–251. doi: 10.1016/j.addbeh.2009.10.020.

- Carlsson, A. (1959) 'The occurrence, distribution and physiological role of catecholamines in the nervous system.', *Pharmacological reviews*, (11(2, part 2)), pp. 490–493.
- Carlsson, A. *et al.* (2001) 'Interactions Between Monoamines, Glutamate, and GABA in Schizophrenia: New Evidence', *annual review pharmacology and toxicology*, (41), pp. 237–260.
- Carnicella, S., Amamoto, R. and Ron, D. (2009) 'Excessive alcohol consumption is blocked by glial cell line-derived neurotrophic factor', *Alcohol*, (43), pp. 35–43. doi: 10.1016/j.alcohol.2008.12.001.
- Carnicella, S., Ron, D. and Barak, S. (2014) 'Intermittent ethanol access schedule in rats as a preclinical model of alcohol abuse', *ALC*. Elsevier, 48(3), pp. 243–252. doi: 10.1016/j.alcohol.2014.01.006.
- Carnicella, S., Yowell, Q. V. and Ron, D. (2011) 'Regulation of Operant Oral Ethanol Self-Administration: A Dose-Response Curve Study in Rats', *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 35, pp. 116–125. doi: 10.1111/j.1530-0277.2010.01328.x.
- Carrillo, J. *et al.* (2008) 'A 3-day exposure to 10% ethanol with 10% sucrose successfully initiates ethanol self-administration', *Alcohol*, 42, pp. 171–178. doi: 10.1016/j.alcohol.2008.01.005.
- Casey, B. J., Jones, R. M. and Hare, T. A. (2008) 'The adolescent brain', *Ann N Y Acad Sci*, (1124(1)), pp. 111–126.
- Cavedini, P. *et al.* (2010) 'Executive Dysfunctions in Obsessive-Compulsive Patients and Unaffected Relatives: Searching for a New Intermediate Phenotype', *Biological Psychiatry*. Elsevier Inc., 67(12), pp. 1178–1184. doi: 10.1016/j.biopsych.2010.02.012.
- Ceylan-isik, A. F., McBride, S. M. and Ren, J. (2011) 'Sex Difference in Alcoholism : Who is at a Greater Risk for', *Life Sci*, 87, pp. 133–138. doi: 10.1016/j.lfs.2010.06.002.Sex.
- Cheer, J. F. *et al.* (2007) 'Phasic dopamine release evoked by abused substances requires cannabinoid receptor activation', *Journal of Neuroscience*, 27, pp. 791–795. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4152-06.2007.
- Chen, M. M. *et al.* (2013) 'Intoxication by Intraperitoneal Injection or Oral Gavage Equally Potentiates Postburn Organ Damage and Inflammation', 2013.
- Di Chiara, G. *et al.* (2004) 'Dopamine and drug addiction: The nucleus accumbens shell connection', *Neuropharmacology*, pp. 47(Suppl 1):227–241. doi: 10.1016/j.neuropharm.2004.06.032.
- Di Chiara, G. and Bassareo, V. (2007) 'Reward system and addiction: what dopamine does and doesn't do', *Current Opinion in Pharmacology*, 7(1), pp. 69–76. doi: 10.1016/j.coph.2006.11.003.
- Di Chiara, G. and 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(14), pp. 5274–5278. doi: 10.1073/pnas.85.14.5274.
- Chudasayama, Y. (2011) 'Animal models of Prefrontal-Executive Function', *Pharmacological*

reviews, 53(4), pp. 1–17. doi: 10.1111/j.1476-5381.2011.01386.x.

Di Ciano, P. *et al.* (2015) 'The impact of selective dopamine D2, D3 and D4 ligands on the rat gambling task', *PLoS ONE*, 10(9), pp. 1–16. doi: 10.1371/journal.pone.0136267.

Di Ciano, P. *et al.* (2018) 'Effects of disulfiram on choice behavior in a rodent gambling task : association with catecholamine levels'. *Psychopharmacology*, pp. 23–35.

Civelli, O., Bunzow, J. R. and Grandy, D. K. (1993) 'Molecular diversity of the dopamine receptors', *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, pp. 33: 281-303. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.33.1.281.

Clark, J. J. *et al.* (2012) 'Altered risk-based decision making following adolescent alcohol use results from an imbalance in reinforcement learning in rats', *PLoS ONE*, p. 7:e37357. doi: 10.1371/journal.pone.0037357.

Clark, L., Cools, R. and Robbins, T. W. (2004) 'The neuropsychology of ventral prefrontal cortex: Decision-making and reversal learning', *Brain and Cognition*, 55(1), pp. 41–53. doi: 10.1016/S0278-2626(03)00284-7.

Clark, L. and Robbins, T. W. (2002) 'Decision-making deficits in drug addiction', *Trends in Cognitive Sciences*, 6(9), pp. 361–363. doi: 10.1016/S1364-6613(02)01960-5.

Colombo, G. *et al.* (2014) 'Binge drinking in alcohol-preferring sP rats at the end of the nocturnal period', *Alcohol*, 48, pp. 301–311. doi: 10.1016/j.alcohol.2014.02.001.

Courtney, K. E. and Polich, J. (2009) 'Binge Drinking in Young Adults: Data, Definitions, and Determinantss', 135(1), pp. 142–156. doi: 10.1037/a0014414.Binge.

Covey, D. P., Roitman, M. F. and Garris, P. A. (2014) 'Illicit dopamine transients: Reconciling actions of abused drugs', *Trends in Neurosciences*, pp. 37:200-210. doi: 10.1016/j.tins.2014.02.002.

Cowen, M. S. and Lawrence, A. J. (1999) 'The role of opioid-dopamine interactions in the induction and maintenance of ethanol consumption', *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, pp. 23:1171-1212. doi: 10.1016/S0278-5846(99)00060-3.

Crabbe, J. C., Harris, A. R. and Koob, G. F. (2011) 'Preclinical studies of alcohol binge drinking', *Ann N Y Acad Sci.*, pp. 24–40. doi: 10.1111/j.1749-6632.2010.05895.x.Preclinical.

Crews, F. T. *et al.* (2000) 'Binge ethanol consumption causes differential brain damage in young adolescent rats compared with adult rats', *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 24(11), pp. 1712–1723. doi: 10.1111/j.1530-0277.2000.tb01973.x.

Crone, E. A. and Van Der Molen, M. W. (2007) 'Development of decision making in school-aged children and adolescents: Evidence from heart rate and skin conductance analysis', *Child Development*, 78(4), pp. 1288–1301. doi: 10.1111/j.1467-8624.2007.01066.x.

Crone, E. A., Vendel, I. and van der Molen, M. W. (2003) 'Decision-making in disinhibited adolescents and adults: Insensitivity to future consequences or driven by immediate reward?', *Personality and Individual Differences*. doi: 10.1016/S0191-8869(02)00386-0.

Cronise, K. *et al.* (2005) 'Scheduled access to ethanol results in motor impairment and tolerance in female C57BL / 6J mice', *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 81, pp. 943–

953. doi: 10.1016/j.pbb.2005.07.005.

Cservenka, A., Jones, S. A. and Nagel, B. J. (2015) 'Reduced cerebellar brain activity during reward processing in adolescent binge drinkers', *Developmental Cognitive Neuroscience*, 16, pp. 110–120. doi: 10.1016/j.dcn.2015.06.004.

Dahlstrom, A. and Fuxe, K. (1964) *Evidence for the existence of monoamine-containing neurons in the central nervous system. I., I. Demonstration of monoamines in the cell bodies of brain stem neurons. Acta Physiol. Scand. Suppl.*

Damien Brevers, Antoine Bechara, Axel Cleeremans, Charles Kornreich, P. *et al.* (2015) 'Impaired decision-making under risk in individuals with alcohol dependence', *Alcohol Clin Exp Res*, 38(7), pp. 1924–1931. doi: 10.1111/acer.12447.Impaired.

Darvesh, A. S. *et al.* (2011) 'In vivo brain microdialysis: advances in neuropsychopharmacology and drug discovery Altaf', *Expert Opin Drug Discov.*, 6(2), pp. 109–127. doi: 10.1517/17460441.2011.547189.

Daw, N. D. and Doya, K. (2006) 'The computational neurobiology of learning and reward', *Current Opinion in Neurobiology*, 16(2), pp. 199–204. doi: 10.1016/j.conb.2006.03.006.

Day, J. J. *et al.* (2007) 'Associative learning mediates dynamic shifts in dopamine signaling in the nucleus accumbens', *Nature Neuroscience*, 8, pp. 1020–1028. doi: 10.1038/nn1923.

Day, J. J. *et al.* (2010) 'Phasic nucleus accumbens dopamine release encodes effort- and delay-related costs', *Biological Psychiatry*. Elsevier Inc., 68(3), pp. 306–309. doi: 10.1016/j.biopsych.2010.03.026.

Deehan Jr, G. A. *et al.* (2007) 'Differential rearing conditions alter operant responding for ethanol in outbred rats', *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 31(10), pp. 1692–1698. doi: 10.1111/j.1530-0277.2007.00466.x.

Delazer, M. *et al.* (2007) 'Decision-making with explicit and stable rules in mild Alzheimer's disease', *Neuropsychologia*. Elsevier Ltd, 45(8), pp. 1632–1641. doi: 10.1016/j.neuropsychologia.2007.01.006.

Denburg, N. L., Tranel, D. and Bechara, A. (2005) 'The ability to decide advantageously declines prematurely in some normal older persons', *Neuropsychologia*. doi: 10.1016/j.neuropsychologia.2004.09.012.

Deng, C. *et al.* (2009) 'Ethanol enhances glutamate transmission by retrograde dopamine signaling in a postsynaptic neuron/synaptic bouton preparation from the ventral tegmental area', *Neuropsychopharmacology*, 34, pp. 1233–1244. doi: 10.1038/npp.2008.143.

Denucci, S. M. *et al.* (2010) 'Rat strain differences in susceptibility to alcohol-induced chronic liver injury and hepatic insulin resistance', *Gastroenterology Research and Practice*, 2010. doi: 10.1155/2010/312790.

Deutch, A. Y. and Cameron, D. S. (1992) 'Pharmacological characterization of dopamine systems in the nucleus accumbens core and shell', *Neuroscience*, 46, pp. 49–56. doi: 10.1016/0306-4522(92)90007-O.

Diana, M. *et al.* (1993) 'Profound decrement of mesolimbic dopaminergic neuronal activity during ethanol withdrawal syndrome in rats: Electrophysiological and biochemical evidence',

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 90, pp. 7966–7969. doi: 10.1073/pnas.90.17.7966.

Doallo, S. *et al.* (2014) 'Larger mid-dorsolateral prefrontal gray matter volume in young binge drinkers revealed by voxel-based morphometry', *PLoS ONE*, 9(5), p. e96830. doi: 10.1371/journal.pone.0096380.

Doumas, D. M., Miller, R. and Esp, S. (2017) 'Impulsive sensation seeking , binge drinking , and alcohol-related consequences : Do protective behavioral strategies help high risk adolescents ?', *Addictive Behaviors*. Elsevier Ltd, 64, pp. 6–12. doi: 10.1016/j.addbeh.2016.08.003.

Dreyer, J. K. *et al.* (2016) 'Functionally Distinct Dopamine Signals in Nucleus Accumbens Core and Shell in the Freely Moving Rat', *Journal of Neuroscience*, 36(1), pp. 98–112. doi: 10.1523/jneurosci.2326-15.2016.

Drissi, I. *et al.* (2019) 'Memory and plasticity impairment after binge drinking in adolescent rat hippocampus: GluN2A/GluN2B NMDA receptor subunits imbalance through HDAC2', *Addiction Biology*, (March), pp. 1–15. doi: 10.1111/adb.12760.

Dunlop, B. W. and Nemeroff, C. B. (2007) 'The role of dopamine in the pathophysiology of depression', *Archives of General Psychiatry*, pp. 4: 327-337. doi: 10.1001/archpsyc.64.3.327.

Dunn, B. D., Dalgleish, T. and Lawrence, A. D. (2006) 'The somatic marker hypothesis: A critical evaluation', *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 30(2), pp. 239–271. doi: 10.1016/j.neubiorev.2005.07.001.

Egenrieder, L. *et al.* (2020) 'No basal or drug-induced sex differences in striatal dopaminergic levels: a cluster and meta-analysis of rat microdialysis studies', *Journal of Neurochemistry*, 152(4), pp. 482–492. doi: 10.1111/jnc.14911.

Ehlers, C. L. *et al.* (2013) 'Periadolescent ethanol vapor exposure persistently reduces measures of hippocampal neurogenesis that are associated with behavioral outcomes in adulthood', *Neuroscience*, 244, pp. 1–15. doi: 10.1016/j.neuroscience.2013.03.058.

Engleman, E. A. *et al.* (2003) 'Ethanol drinking experience attenuates (-)sulpiride-induced increases in extracellular dopamine levels in the nucleus accumbens of alcohol-preferring (P) rats', *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 27, pp. 424–431. doi: 10.1097/01.ALC.0000056618.57931.A5.

Eppinger, B., Nystrom, L. E. and Cohen, J. D. (2012) 'Reduced sensitivity to immediate reward during decision-making in older than younger adults', *PLoS ONE*, p. 7: e36953. doi: 10.1371/journal.pone.0036953.

Ernst, M. *et al.* (2004) 'Choice selection and reward anticipation: An fMRI study', *Neuropsychologia*. doi: 10.1016/j.neuropsychologia.2004.05.011.

Ernst, M. and Paulus, M. P. (2005) 'Neurobiology of decision making: A selective review from a neurocognitive and clinical perspective', *Biological Psychiatry*, 58(8), pp. 597–604. doi: 10.1016/j.biopsych.2005.06.004.

Erol, A. and Karpyak, V. M. (2015) 'Sex and gender-related differences in alcohol use and its consequences : Contemporary knowledge and future research considerations', *Drug and Alcohol Dependence*. Elsevier Ireland Ltd, 156, pp. 1–13. doi:

10.1016/j.drugalcdep.2015.08.023.

Esser, M. B. *et al.* (2015) 'Binge Drinking Intensity', 42(6), pp. 625–629. doi: 10.1016/j.amepre.2012.03.001.Binge.

Everitt, B. J. and Robbins, T. W. (2005) 'Neural systems of reinforcement for drug addiction: From actions to habits to compulsion', *Nature Neuroscience*, pp. 94(4): 469-492. doi: 10.1038/nn1579.

Federici, M. *et al.* (2009) 'Ethanol enhances GABAB-mediated inhibitory postsynaptic transmission on rat midbrain dopaminergic neurons by facilitating GIRK currents', *European Journal of Neuroscience*, 29, pp. 1369–1377. doi: 10.1111/j.1460-9568.2009.06700.x.

Fein, G., Klein, L. and Finn, P. (2004) 'Impairment on a simulated gambling task in long-term abstinent alcoholics', *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 28(10), pp. 1487–91. doi: 10.1097/01.ALC.0000141642.39065.9B.

Fein, G., McGillivray, S. and Finn, P. (2007) 'Older adults make less advantageous decisions than younger adults: Cognitive and psychological correlates', *Journal of the International Neuropsychological Society*, 13(3), pp. 480–489. doi: 10.1017/S135561770707052X.

Fellows, L. K. (2004) 'The cognitive neuroscience of human decision making: a review and conceptual framework.', *Behavioral and cognitive neuroscience reviews*. doi: 10.1177/1534582304273251.

Feltmann, K. *et al.* (2018) 'Effects of Long-Term Alcohol Drinking on the Dopamine D2 Receptor: Gene Expression and Heteroreceptor Complexes in the Striatum in Rats', *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 42(2), pp. 338–351. doi: 10.1111/acer.13568.

Fernie, G. and Tunney, R. J. (2006) 'Some decks are better than others: The effect of reinforcer type and task instructions on learning in the Iowa Gambling Task', *Brain and Cognition*, 60, pp. 94–102. doi: 10.1016/j.bandc.2005.09.011.

Ferris, M. J. *et al.* (2013) 'Examining the complex regulation and drug-induced plasticity of dopamine release and uptake using voltammetry in brain slices', *ACS Chemical Neuroscience*, 4(5), pp. 693–703. doi: 10.1021/cn400026v.

Ferron, B. S. De *et al.* (2015) 'Two Binges of Ethanol a Day Keep the Memory Away in Adolescent Rats : Key Role for GLUN2B Subunit', pp. 1–11. doi: 10.1093/ijnp/pyv087.

Field, M., Schoenmakers, T. and Wiers, R. W. (2008) 'Cognitive processes in alcohol binges: a review and research agenda.', *Current drug abuse reviews*, 1(3), pp. 263–279. doi: 10.2174/1874473710801030263.

Fiorenza, A. M. *et al.* (2018) 'Ethanol Exposure History and Alcoholic Reward Differentially Alter Dopamine Release in the Nucleus Accumbens to a Reward-Predictive Cue', *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 42(6), pp. 1051–1061. doi: 10.1111/acer.13636.

Fiorillo, C. D., Tobler, P. N. and Schultz, W. (2003) 'Discrete coding of reward probability and uncertainty by dopamine neurons', *Science*, 299, pp. 1898–1902. doi: 10.1126/science.1077349.

Fitoussi, A. *et al.* (2014) 'Prefronto-subcortical imbalance characterizes poor decision-

- making: neurochemical and neural functional evidences in rats', *Brain Structure and Function*, 220(6), pp. 3485–3496. doi: 10.1007/s00429-014-0868-8.
- Flagel, S. B. *et al.* (2010) 'An Animal Model of Genetic Vulnerability to Behavioral Disinhibition and Responsiveness to Reward-Related Cues: Implications for Addiction', *Neuropsychopharmacology*, 35, pp. 388–400. doi: 10.1038/npp.2009.142.An.
- Flagel, S. B. *et al.* (2011) 'A selective role for dopamine in reward learning', *Nature*, 469(7328), pp. 53–57. doi: 10.1038/nature09588.A.
- Floresco, S. B. *et al.* (2003) 'Afferent modulation of dopamine neuron firing differentially regulates tonic and phasic dopamine transmission', *Nature Neuroscience*, 6(9), pp. 968–973. doi: 10.1038/nn1103.
- Floresco, S. B. *et al.* (2008) 'Cortico-limbic-striatal circuits subserving different forms of cost-benefit decision making', *Cognitive, Affective and Behavioral Neuroscience*. doi: 10.3758/CABN.8.4.375.
- Floresco, S. B. (2015) 'The Nucleus Accumbens: An Interface Between Cognition, Emotion, and Action', *Annual Review of Psychology*, 66(1), pp. 25–52. doi: 10.1146/annurev-psych-010213-115159.
- Ford, C. P. (2014) 'The role of D2-autoreceptors in regulating dopamine neuron activity and transmission', *Neuroscience*. IBRO, 282, pp. 13–22. doi: 10.1016/j.neuroscience.2014.01.025.
- Fouriez, G., Hansson, P. and Wise, R. (1978) 'Neuroleptic-induced attenuation of brain stimulation reward in rats', *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 92, pp. 661–671. doi: 10.1037/h0077500.
- Franken, I. H. A. *et al.* (2008) 'Impulsivity is associated with behavioral decision-making deficits', *Psychiatry Research*, 158(2), pp. 155–163. doi: 10.1016/j.psychres.2007.06.002.
- Freels, T. G. *et al.* (2019) 'Risky decision-making predicts dopamine release dynamics in nucleus accumbens shell', *Neuropsychopharmacology*. Springer US, (June). doi: 10.1038/s41386-019-0527-0.
- Galandra, C. *et al.* (2018) 'The alcoholic brain: neural bases of impaired reward-based decision-making in alcohol use disorders', *Neurological Sciences*. Neurological Sciences, 39(3), pp. 423–435. doi: 10.1007/s10072-017-3205-1.
- Gallegos, R. A. *et al.* (1999) 'Adaptive responses of γ -aminobutyric acid neurons in the ventral tegmental area to chronic ethanol', *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 291, pp. 1047–1053.
- Gantz, S. C. *et al.* (2018) 'The Evolving Understanding of Dopamine Neurons in the Substantia Nigra and Ventral Tegmental Area', *Annual Review of Physiology*, 80(1), pp. 219–241. doi: 10.1146/annurev-physiol-021317-121615.
- Gatto, G. J. *et al.* (1994) 'Ethanol self-infusion into the ventral tegmental area by alcohol-preferring rats', *Alcohol*, 11, pp. 557–564. doi: 10.1016/0741-8329(94)90083-3.
- Georgiou, P. *et al.* (2018) 'Dopamine and stress system modulation of sex differences in decision making', *Neuropsychopharmacology*. Nature Publishing Group, 43(2), pp. 313–324. doi: 10.1038/npp.2017.161.

- Gerber, G. J., Sing, J. and Wise, R. (1981) 'Pimozide attenuates lever pressing for water reinforcement in rats', *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 14, pp. 201–205. doi: 10.1016/0091-3057(81)90243-4.
- Gessa, G. L. *et al.* (1985) 'Low doses of ethanol activate dopaminergic neurons in the ventral tegmental area', *Brain Research*, 348, pp. 201–203. doi: 10.1016/0006-8993(85)90381-6.
- Giedd, J. N. *et al.* (1999) 'Brain development during childhood and adolescence : a longitudinal MRI study', *Nat Neurosci*, pp. 861–863.
- Gierski, F. *et al.* (2017) 'Cloninger ' s Temperament and Character Dimensions of Personality and Binge Drinking Among College Students', 41(11), pp. 1970–1979. doi: 10.1111/acer.13497.
- Gijsman, H. J. *et al.* (2002) 'A dose-finding study on the effects of branch chain amino acids on surrogate markers of brain dopamine function', *Psychopharmacology*, 160, pp. 192–197. doi: 10.1007/s00213-001-0970-5.
- Gilpin, N. W., Karanikas, C. A. and Richardson, H. N. (2012) 'Adolescent binge drinking leads to changes in alcohol drinking, anxiety, and amygdalar corticotropin releasing factor cells in adulthood in male rats', *PLoS ONE*, 7(2), p. e314366. doi: 10.1371/journal.pone.0031466.
- Gilpin, N. W. and Koob, G. F. (2014) 'Neurobiology of alcohol dependence', *Alcohol Res Health*, 31(3), pp. 185–195.
- Giros, B. *et al.* (1996) 'Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter', *Nature*, (379), pp. 606–612. doi: 10.1038/379606a0.
- Gizer, I. R., Ficks, C. and Waldman, I. D. (2009) 'Candidate gene studies of ADHD: A meta-analytic review', *Human Genetics*, pp. 51–90. doi: 10.1007/s00439-009-0694-x.
- González-Marín, M. C. *et al.* (2018) 'Evaluation of alcohol use disorders pharmacotherapies in a new preclinical model of binge drinking', *Neuropharmacology*. Elsevier Ltd, 140, pp. 14–24. doi: 10.1016/j.neuropharm.2018.07.015.
- Gonzalez, V. M. (2013) 'Association of Solitary Binge Drinking and Suicidal Behavior Among Emerging Adult College Students', 26(3), pp. 609–614. doi: 10.1037/a0026916.Association.
- Goodman, A. (2008) 'Neurobiology of addiction. An integrative review', *Biochemical Pharmacology*, 75(1), pp. 266–322. doi: 10.1016/j.bcp.2007.07.030.
- Goto, Y., Otani, S. and Grace, A. A. (2007) 'The Yin and Yang of Dopamine Release', *Neuropharmacology*, 605(1), pp. 70–79. doi: 10.1016/j.immuni.2010.12.017.Two-stage.
- Goudriaan, A. E. *et al.* (2005) 'Decision making in pathological gambling: A comparison between pathological gamblers, alcohol dependents, persons with Tourette syndrome, and normal controls', *Cognitive Brain Research*, 23(1), pp. 137–151. doi: 10.1016/j.cogbrainres.2005.01.017.
- Goudriaan, A. E., Grekin, E. R. and Sher, K. J. (2007) 'Decision Making and Binge Drinking: A Longitudinal Study', 31(6), pp. 928–938. doi: 10.1111/j.1530-0277.2007.00378.x.Decision.
- Goudriaan, A. E., Grekin, E. R. and Sher, K. J. (2011) 'Decision making and response inhibition as predictors of heavy alcohol use: a prospective study', *Alcohol Clin Exp Res*, 35(6), pp. 1050–1057. doi: 10.1111/j.1530-0277.2011.01437.x.Decision.

Grace, A. (2000) 'The tonic/phasic model of dopamine system regulation and its implications for understanding alcohol and psychostimulant craving', *Addiction*, 95(8), pp. 119–128. doi: 10.1080/09652140050111690.

Grace, A. *et al.* (2007) 'Regulation of firing of dopaminergic neurons and control of goal-directed behaviors', 30(5). doi: 10.1016/j.tins.2007.03.003.

Grace, A. and Bunney, S. (1984) 'The control of firing pattern in nigral dopamine neurons: single spike firing', 4(11), pp. 2866–2876.

Grissom, N. M. and Reyes, T. M. (2019) 'Let's call the whole thing off: evaluating gender and sex differences in executive function', *Neuropsychopharmacology*. Springer US, 44(1), pp. 86–96. doi: 10.1038/s41386-018-0179-5.

Guerri, C. and Pascual, M. (2010) 'Mechanisms involved in the neurotoxic, cognitive, and neurobehavioral effects of alcohol consumption during adolescence', *Alcohol*, 44, pp. 15–26. doi: 10.1016/j.alcohol.2009.10.003.

Han, B. H. *et al.* (2018) 'Prevalence and correlates of binge drinking among older adults with multimorbidity', *Drug and Alcohol Dependence*, 187, pp. 48–54. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2018.01.038.

Hartley, D. E., Elsabagh, S. and File, S. E. (2004) 'Binge drinking and sex: Effects on mood and cognitive function in healthy young volunteers', in *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, pp. 78(3):611-619. doi: 10.1016/j.pbb.2004.04.027.

Hasbi, A., O'Dowd, B. F. and George, S. R. (2010) 'Heteromerization of dopamine D2 receptors with dopamine D1 or D5 receptors generates intracellular calcium signaling by different mechanisms', *Current Opinion in Pharmacology*, p. (1): 93-99. doi: 10.1016/j.coph.2009.09.011.

Heimer, L. *et al.* (1991) 'Specificity in the projection patterns of accumbal core and shell in the rat', *Neuroscience*, 41, pp. 89–125. doi: 10.1016/0306-4522(91)90202-Y.

Henges, A. L. and Marczinski, C. A. (2013) 'Impulsivity and alcohol consumption in young social drinkers', *Addict Behav*, 37(2), pp. 217–220. doi: 10.1016/j.addbeh.2011.09.013.Impulsivity.

Hernandez, P. J., Sadeghian, K. and Kelley, A. E. (2002) 'Early consolidation of instrumental learning requires protein synthesis in the nucleus accumbens', *Nature Neuroscience*, 5, pp. 1327–1331. doi: 10.1038/nn973.

Hernandez, P. J., Schiltz, C. A. and Kelley, A. E. (2006) 'Dynamic shifts in corticostriatal expression patterns of the immediate early genes Homer 1a and Zif268 during early and late phases of instrumental training', *Learning and Memory*, 13, pp. 599–608. doi: 10.1101/lm.335006.

Hilderbrand, E. R. and Lasek, A. W. (2019) 'Studying Sex Differences in Animal Models of Addiction: An Emphasis on Alcohol-Related Behaviors', 9(8), pp. 1907–1916. doi: 10.1021/acscemneuro.7b00449.Studying.

Hiller-Sturmhöfel, S. and Spear, L. P. (2017) 'Binge drinking's effects on the developing brain— animal models', *Alcohol Research: Current Reviews*, 39(1), pp. e1–e10.

- Hingson, R. W., Zha, W. and White, A. M. (2017) 'Drinking Beyond the Binge Threshold_ Predictors, Consequences, and Changes in the U.S.', *American Journal of Preventive Medicine*. Elsevier Inc., 52(6), pp. 717–727. doi: 10.1016/j.amepre.2017.02.014.
- Hodge, C. W., Samson, H. H. and Chappelle, A. M. (1997) 'Alcohol Self-Administration: Further Examination of the Role of Dopamine Receptors in the Nucleus Accumbens', *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 21, pp. 1083–1091. doi: 10.1111/j.1530-0277.1997.tb04257.x.
- Hooper, C. J. *et al.* (2004) 'Adolescents' performance on the iowa gambling task: Implications for the development of decision making and ventromedial prefrontal cortex', *Developmental Psychology*. doi: 10.1037/0012-1649.40.6.1148.
- Howard, E. C. *et al.* (2008) 'The shell of the nucleus accumbens has a higher dopamine response compared with the core after non-contingent intravenous ethanol administration', *Neuroscience*, 154, pp. 1042–1043. doi: 10.1016/j.neuroscience.2008.04.014.
- Howell, N. A. *et al.* (2013) 'Increased Ventral Striatal Volume in College-Aged Binge Drinkers', *i(9)*, pp. 1–7. doi: 10.1371/journal.pone.0074164.
- Hwa, L. S. *et al.* (2011) 'Persistent escalation of alcohol drinking in C57BL/6J mice with intermittent access to 20% ethanol', *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, (35), pp. 1938–1947. doi: 10.1111/j.1530-0277.2011.01545.x.
- Hyland, B. I. *et al.* (2002) 'Firing modes of midbrain dopamine cells in the freely moving rat', *Neuroscience*, 114, pp. 475–492. doi: 10.1016/S0306-4522(02)00267-1.
- Ikemoto, S. *et al.* (1997) '6-OHDA-lesions of the nucleus accumbens disrupt the acquisition but not the maintenance of ethanol consumption in the alcohol-preferring P line of rats', *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 21, pp. 1042–1046. doi: 10.1111/j.1530-0277.1997.tb04251.x.
- Ikemoto, S. and Panksepp, J. (1999) 'The role of nucleus accumbens dopamine in motivated behavior: A unifying interpretation with special reference to reward-seeking', *Brain Research Reviews*, pp. 31:6-41. doi: 10.1016/S0165-0173(99)00023-5.
- Ilango, A. *et al.* (2014) 'Similar roles of substantia nigra and ventral tegmental dopamine neurons in reward and aversion', *Journal of Neuroscience*, 34, pp. 817–822. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1703-13.2014.
- Imperato, A. and Di Chiara, G. (1986) 'Preferential stimulation of dopamine release in the nucleus accumbens of freely moving rats by ethanol', *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, (239), pp. 219–228.
- Jacobs, E. H. *et al.* (2003) 'Neuroadaptive effects of active versus passive drug administration in addiction research', *Trends in Pharmacological Sciences*, 24(11), pp. 566–573. doi: 10.1016/j.tips.2003.09.006.
- Jarjour, S., Bai, L. and Gianoulakis, C. (2009) 'Effect of acute ethanol administration on the release of opioid peptides from the midbrain including the ventral tegmental area', *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 33, pp. 1033–1043. doi: 10.1111/j.1530-0277.2009.00924.x.
- Jayaram-Lindström, N. *et al.* (2016) 'Dopamine and Alcohol Dependence: From Bench to

Clinic', *Recent Advances in Drug Addiction Research and Clinical Applications*. doi: 10.5772/63144.

Jeanblanc, J. *et al.* (2009) 'Endogenous BDNF in the dorsolateral striatum gates alcohol drinking', *Journal of Neuroscience*, 29, pp. 13494–13502. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2243-09.2009.

Jeanblanc, J. *et al.* (2015) 'The class I-specific HDAC inhibitor MS-275 decreases motivation to consume alcohol and relapse in heavy drinking rats', *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 18. doi: 10.1093/ijnp/pyv029.

Jeanblanc, J. *et al.* (2018) 'Animal models of binge drinking , current challenges to improve face validity', *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. Elsevier, 68(February), pp. 41–12. doi: 10.1016/j.neubiorev.2018.05.002.

Jeanblanc, J. *et al.* (2019) 'Face validity of a pre-clinical model of operant binge drinking : just a question of speed', *Addiction Biology*, 24(4), p. 664. doi: 10.1111/adb.12631.

Jeanblanc, J., Hoeltzel, A. and Louilot, A. (2002) 'Dissociation in the involvement of dopaminergic neurons innervating the core and shell subregions of the nucleus accumbens in latent inhibition and affective perception', *Neuroscience*, 111(2), pp. 315–323. doi: 10.1016/S0306-4522(02)00019-2.

John, C. E. and Jones, S. R. (2007) *Fast Scan Cyclic Voltammetry of Dopamine and Serotonin in Mouse Brain Slices, Electrochemical Methods for Neuroscience*.

Johnson, C. A. *et al.* (2008) 'Affective decision-making deficits , linked to a dysfunctional ventromedial prefrontal cortex , revealed in 10th grade Chinese adolescent binge drinkers', 46, pp. 714–726. doi: 10.1016/j.neuropsychologia.2007.09.012.

Jones, S. A., Cservenka, A. and Nagel, B. J. (2016) 'Binge drinking impacts dorsal striatal response during decision making in adolescents', *NeuroImage*. Elsevier B.V., 129, pp. 378–388. doi: 10.1016/j.neuroimage.2016.01.044.

Jones, S. A., Lueras, J. M. and Nagel, B. J. (2018) 'Effects of Binge Drinking on the Developing Brain', *Alcohol research : current reviews*, 39(1), pp. 87–96.

Jones, S. R. *et al.* (1996) 'Functional and anatomical evidence for different dopamine dynamics in the core and shell of the nucleus accumbens in slices of rat brain', *Synapse*, 23, pp. 224–231. doi: 10.1002/(SICI)1098-2396(199607)23:3<224::AID-SYN12>3.0.CO;2-Z.

Jones, S. R., Mathews, T. A. and Budygin, E. A. (2006) 'Effect of moderate ethanol dose on dopamine uptake in rat nucleus accumbens in vivo', *Synapse*, 60(3), pp. 251–255. doi: 10.1002/syn.20294.

Kamdar, N. K. *et al.* (2007) 'Acute effects of Naltrexone and GBR 12909 on ethanol drinking-in-the-dark in C57BL/6J mice', *Psychopharmacology*, 192, pp. 207–217. doi: 10.1007/s00213-007-0711-5.

Karkhanis, A. N. *et al.* (2015) 'Chronic intermittent ethanol exposure reduces presynaptic dopamine neurotransmission in the mouse nucleus accumbens', *Drug and Alcohol Dependence*. Elsevier Ireland Ltd, 150, pp. 24–30. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2015.01.019.

Kebabian, J. W. and Calne, D. B. (1979) 'Multiple receptors for dopamine', *Nature*, pp. 277:

93–96. doi: 10.1038/277093a0.

Keefe, K. A., Zigmond, M. J. and Abercrombie, E. D. (1993) 'In vivo regulation of extracellular dopamine in the neostriatum: influence of impulse activity and local excitatory amino acids', *Journal of Neural Transmission*, 91(23), pp. 223–240. doi: 10.1007/BF01245233.

Kemp, J. M. and Powell, T. P. (1971) 'The termination of fibres from the cerebral cortex and thalamus upon dendritic spines in the caudate nucleus: a study with the Golgi method.', *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 262, pp. 429–439. doi: 10.1098/rstb.1971.0105.

Kennedy, R. T., Jones, S. R. and Wightman, R. M. (1992) 'Dynamic Observation of Dopamine Autoreceptor Effects in Rat Striatal Slices', *Journal of Neurochemistry*, 59(2), pp. 449–455. doi: 10.1111/j.1471-4159.1992.tb09391.x.

Khanna, J. M. *et al.* (1990) 'Comparison of sensitivity and alcohol consumption in four outbred strains of rats', *Alcohol*, 7(5), pp. 429–434. doi: 10.1016/0741-8329(90)90027-A.

Kimmel, H. L. *et al.* (2001) 'Dopamine D1 and D2 receptors influence dopamine transporter synthesis and degradation in the rat', *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 298(1), pp. 129–140.

King, A. C. *et al.* (2011) 'Rewarding, Stimulant, and Sedative Alcohol Responses and Relationship to Future Binge Drinking', *Arch Gen Psychiatry*, 68(4), pp. 389–399. doi: doi:10.1001/archgenpsychiatry.2011.26.

Koenigs, M. and Tranel, D. (2008) 'Prefrontal Damage : Evidence from the Ultimatum Game', *Journal of Neuroscience*, 27(4), pp. 951–956.

Koob, G. F. (2006) 'The neurobiology of addiction: A neuroadaptational view relevant for diagnosis', *Addiction*, 101(SUPPL. 1), pp. 23–30. doi: 10.1111/j.1360-0443.2006.01586.x.

Koob, G. F. and Le Moal, M. (2001) 'Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis', *Neuropsychopharmacology*, 24(2), pp. 97–129. doi: 10.1016/S0893-133X(00)00195-0.

Koob, G. F. and Volkow, N. D. (2010) 'Neurocircuitry of addiction', *Neuropsychopharmacology*, pp. 217–238. doi: 10.1038/npp.2009.110.

Koot, S. *et al.* (2009) 'Gender differences in delay-discounting under mild food restriction', *Behavioural Brain Research*, 200(1), pp. 134–143. doi: 10.1016/j.bbr.2009.01.006.

Kornreich, C. *et al.* (2013) 'Polysubstance dependent patients display a more utilitarian profile in moral decision-making than alcohol-dependent patients, depressive patients and controls', *Drug and Alcohol Dependence*, 132(3), pp. 434–40. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2013.03.005.

Kouneiher, F., Charron, S. and Koechlin, E. (2009) 'Motivation and cognitive control in the human prefrontal cortex', *Nature Neuroscience*. doi: 10.1038/nn.2321.

Kovács, I. *et al.* (2017) 'Decision making measured by the Iowa Gambling Task in alcohol use disorder and gambling disorder : a systematic review and meta-analysis', *Drug and Alcohol Dependence*. Elsevier, 181(October), pp. 152–161. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2017.09.023.

Kuntsche, E. *et al.* (2017) 'UC Office of the President Binge drinking : Health impact , prevalence , correlates and interventions', *Psychology & Health*. Routledge, p. 0. doi:

10.1080/08870446.2017.1325889.

Kvamme, T. L. *et al.* (2016) 'Sexually dimorphic brain volume interaction in college-aged binge drinkers', *NeuroImage: Clinical*, 10, pp. 310–317. doi: 10.1016/j.nicl.2015.12.004.

Lac, A. and Donaldson, C. D. (2016) 'Addictive Behaviors Alcohol attitudes , motives , norms , and personality traits longitudinally classify nondrinkers , moderate drinkers , and binge drinkers using discriminant function analysis', *Addictive Behaviors*. Elsevier Ltd, 61, pp. 91–98. doi: 10.1016/j.addbeh.2016.05.006.

Lannoy, S. *et al.* (2017) 'Binging at the campus : Motivations and impulsivity in fl uence binge drinking pro fi les in university students', 250(December 2016), pp. 146–154. doi: 10.1016/j.psychres.2017.01.068.

Lebourgeois, S. *et al.* (2018) 'Effect of N-acetylcysteine on motivation, seeking and relapse to ethanol self-administration', *Addiction Biology*, 23, pp. 643–652. doi: 10.1111/adb.12521.

Leeman, R. F. *et al.* (2015) 'Impulsivity, Sensation-Seeking and Part-Time Job Status in Relation to Substance Use and Gambling in Adolescents', *J Adolesc Health*, 54(4), pp. 460–466. doi: 10.1016/j.jadohealth.2013.09.014.Impulsivity.

Leeman, R. F., Fenton, M. and Volpicelli, J. R. (2007) 'Impaired Control and Undergraduate Problem Drinking Robert', *Alcohol Alcohol*, 42(1), pp. 42–48. doi: 10.1093/alcalc/ag1095.

Lejuez, C. W. *et al.* (2002) 'Evaluation of a behavioral measure of risk taking: The balloon analogue risk task (BART)', *Journal of Experimental Psychology: Applied*. doi: 10.1037/1076-898X.8.2.75.

Lejuez, C. W. *et al.* (2003) 'The Balloon Analogue Risk Task (BART) differentiates smokers and nonsmokers', *Experimental and Clinical Psychopharmacology*. doi: 10.1037/1064-1297.11.1.26.

Li, X. *et al.* (2010) 'The Iowa Gambling Task in fMRI images', *Human Brain Mapping*, 31(3), pp. 410–423. doi: 10.1002/hbm.20875.

Lieber, C. S. and DeCarli, L. M. (1975) 'Alcoholic liver injury: experimental models in rats and baboons.', *Advances in Experimental Medicine and Biology*.

Lindholm, S. *et al.* (2001) 'The selective κ -opioid receptor agonist U50,488H attenuates voluntary ethanol intake in the rat', *Behavioural Brain Research*, 120, pp. 137–146. doi: 10.1016/S0166-4328(00)00368-5.

Lisdahl, K. M. *et al.* (2013) 'Recent binge drinking predicts smaller cerebellar volumes in adolescents', *Psychiatry Res*, 211(1), pp. 17–23. doi: 10.1016/j.psychresns.2012.07.009.Recent.

Livy, D. J., Parnell, S. E. and West, J. R. (2003) 'Blood ethanol concentration profiles : a comparison between rats and mice', *Alcohol*, 29, pp. 165–171. doi: 10.1016/S0741-8329(03)00025-9.

Logrip, M. L., Janak, P. H. and Ron, D. (2009) 'Blockade of ethanol reward by the kappa opioid receptor agonist U50,488H', *Alcohol*, 43, pp. 359–365. doi: 10.1016/j.alcohol.2009.05.001.

Lovic, V. *et al.* (2011) 'Rats prone to attribute incentive salience to reward cues are also

- prone to impulsive action', *Behavioural Brain Research*, pp. 223:255-261. doi: 10.1016/j.bbr.2011.04.006.
- Luciana, M. *et al.* (2013) 'Effects of alcohol use initiation on brain structure in typically developing adolescents', *American Journal of Drug and Alcohol Abuse*, 39(6), pp. 345–355. doi: 10.3109/00952990.2013.837057.
- Ludlow, K. H. *et al.* (2009) 'Acute and chronic ethanol modulate dopamine d2-subtype receptor responses in ventral tegmental area GABA neurons', *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 33, pp. 804–811. doi: 10.1111/j.1530-0277.2009.00899.x.
- Mackie, C. J., Castellanos-ryan, N. and Conrod, P. J. (2011) 'Personality Moderates the Longitudinal Relationship Between Psychological Symptoms and Alcohol Use in Adolescents', 35(4), pp. 703–716. doi: 10.1111/j.1530-0277.2010.01388.x.
- Le Magnen, J. (1960) 'Study of some factors associated with modifications of spontaneous ingestion of ethyl alcohol by the rat', *Journal de physiologie*, pp. 873–884.
- Mahmood, O. M. *et al.* (2013) 'Adolescents' fMRI activation to a response inhibition task predicts future substance use', *Addictive Behaviors*, 38, pp. 1435–1441. doi: 10.1016/j.addbeh.2012.07.012.
- Maia, T. V. and McClelland, J. L. (2004) 'A reexamination of the evidence for the somatic marker hypothesis: What participants really know in the Iowa gambling task', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. doi: 10.1073/pnas.0406666101.
- Malloy-Diniz, L. F. *et al.* (2007) 'Impulsive behavior in adults with attention deficit/hyperactivity disorder: Characterization of attentional, motor and cognitive impulsiveness', *Journal of the International Neuropsychological Society*, 13(4), pp. 693–698. doi: 10.1017/S1355617707070889.
- Marczinski, C. A., Combs, S. W. and Fillmore, M. T. (2007) 'Increased Sensitivity to the Disinhibiting Effects of Alcohol in Binge Drinkers', *Psychology of Addictive Behaviors*, 21(3), pp. 346–54. doi: 10.1037/0893-164X.21.3.346.
- Margolis, E. B. *et al.* (2008) 'Midbrain dopamine neurons: Projection target determines action potential duration and dopamine D2 receptor inhibition', *Journal of Neuroscience*, 28, pp. 8908–8913. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1526-08.2008.
- Martin, L. E. and Potts, G. F. (2009) 'Impulsivity in decision-making: An event-related potential investigation', *Personality and Individual Differences*. doi: 10.1016/j.paid.2008.10.019.
- Mashhoon, Y. *et al.* (2015) 'Binge alcohol consumption in emerging adults: anterior cingulate cortical "thinness" is associated with alcohol use patterns', *Alcohol Clin Exp Res*, 38(7), pp. 1955–1964. doi: 10.1111/acer.12475.Binge.
- Mathews, T. A. *et al.* (2006) 'No role of the dopamine transporter in acute ethanol effects on striatal dopamine dynamics', *Synapse*, 60, pp. 288–294. doi: 10.1002/syn.20301.
- Maurage, P. *et al.* (2009) 'Latent deleterious effects of binge drinking over a short period of time revealed only by electrophysiological measures', 34(2), pp. 111–118.

- Maurage, P. *et al.* (2012) 'Cerebral effects of binge drinking: Respective influences of global alcohol intake and consumption pattern', *Clinical Neurophysiology*. International Federation of Clinical Neurophysiology, 123(5), pp. 892–901. doi: 10.1016/j.clinph.2011.09.018.
- Maynard, M. E. *et al.* (2018) 'Sex Differences in Hippocampal Damage, Cognitive Impairment, and Trophic Factor Expression in an Animal Model of an Alcohol Use Disorder', *Brain Struct Funct*, 223(1), pp. 195–210. doi: 10.1007/s00429-017-1482-3.Sex.
- McMurray, M. S., Amodeo, L. R. and Roitman, J. D. (2014) 'Effects of voluntary alcohol intake on risk preference and behavioral flexibility during rat adolescence', *PLoS ONE*, 41(5), pp. 1366–1375. doi: 10.1371/journal.pone.0100697.
- McMurray, M. S., Amodeo, L. R. and Roitman, J. D. (2016) 'Consequences of Adolescent Ethanol Consumption on Risk Preference and Orbitofrontal Cortex Encoding of Reward', *Neuropsychopharmacology*, 41, pp. 1366–1375. doi: 10.1038/npp.2015.288.
- Mcqueeny, T. *et al.* (2009) 'Altered White Matter Integrity in Adolescent Binge Drinkers', *Alcohol Clin Exp Res*, 33(7), pp. 1278–1285. doi: 10.1111/j.1530-0277.2009.00953.x.Altered.
- Meiser, J., Weindl, D. and Hiller, K. (2013) 'Complexity of dopamine metabolism', *Cell Communication and Signaling*, 11(1), pp. 1–18. doi: 10.1186/1478-811X-11-34.
- Mejia-Toiber, J. *et al.* (2014) 'Impulsive choice and anxiety-like behavior in adult rats exposed to chronic intermittent ethanol during adolescence and adulthood', *Behavioural Brain Research*, 266, pp. 19–28. doi: 10.1016/j.bbr.2014.02.019.
- Melchior, J. R., Jones, S. R. and Salem, W. (2018) 'Chronic Ethanol Exposure Increases Inhibition of Optically Targeted Phasic Dopamine Release in the Nucleus Accumbens Core and Medial Shell *ex vivo*', *Mol Cell Neurosci.*, 85, pp. 93–104. doi: 10.1016/j.mcn.2017.09.007.Chronic.
- Melis, M., Spiga, S. and Diana, M. (2005) 'The Dopamine Hypothesis of Drug Addiction: Hypodopaminergic State', *International Review of Neurobiology*, 63, pp. 101–104. doi: 10.1016/S0074-7742(05)63005-X.
- Meyer, P. J. *et al.* (2012) 'Quantifying individual variation in the propensity to attribute incentive salience to reward cues', *PLoS ONE*, 7(6). doi: 10.1371/journal.pone.0038987.
- Mink, J. W. (2006) 'Neurobiology of basal ganglia and Tourette syndrome: basal ganglia circuits and thalamocortical outputs.', *Advances in neurology*, pp. 89–98.
- Miu, A. C., Heilman, R. M. and Houser, D. (2008) 'Anxiety impairs decision-making: Psychophysiological evidence from an Iowa Gambling Task', *Biological Psychology*. doi: 10.1016/j.biopsycho.2007.11.010.
- Momenan, R. *et al.* (2012) 'Effects of alcohol dependence on cortical thickness as determined by magnetic resonance imaging', *Psychiatry Research - Neuroimaging*. Elsevier, 204(2–3), pp. 101–111. doi: 10.1016/j.pscychresns.2012.05.003.
- Montesinos, J. *et al.* (2015) 'TLR4 elimination prevents synaptic and myelin alterations and long-term cognitive dysfunctions in adolescent mice with intermittent ethanol treatment', *Brain, Behavior, and Immunity*, 45, pp. 233–244. doi: 10.1016/j.bbi.2014.11.015.
- Monti, P. M. *et al.* (2005) 'Adolescence : Booze , Brains , and Behavior', 29(2), pp. 207–220.

doi: 10.1097/01.ALC.0000153551.11000.F3.

Moore, C. F. and Lynch, W. J. (2015) 'Alcohol Preferring (P) Rats as a model for examining sex differences in Alcohol Use Disorder and its treatment', *Pharmacol Biochem Behav*, 132(May), pp. 1–9. doi: 10.1016/j.pbb.2015.02.014.Alcohol.

Morales, A. M. *et al.* (2018) 'Author Version : Published ahead of online first Ventral striatal response during decision making involving risk and reward is associated with future binge drinking in adolescents', *Neuropsychopharmacology*. Springer US, (April), pp. 0–1. doi: 10.1038/s41386-018-0087-8.

Morales, A. M. *et al.* (2019) 'Associations between nucleus accumbens structural connectivity, brain function, and initiation of binge drinking', *Addiction Biology*, (November 2018), pp. 1–9. doi: 10.1111/adb.12767.

Morales, M. and Margolis, E. B. (2017) 'Ventral tegmental area : cellular', *Nature*, 18, pp. 73–85. doi: 10.1038/nrn.2016.165.

Morales, M., McGinnis, M. M. and Mc Cool, B. A. (2016) 'Chronic ethanol exposure increases voluntary home cage intake in adult male, but not female, Long-Evans rats Melissa', 139(0), pp. 67–76. doi: 10.1016/j.pbb.2015.10.016.Chronic.

Morikawa, H. and Morrisett, R. (2010) 'Ethanol Action on Dopaminergic Neurons in the Ventral Tegmental Area : Interaction With Intrinsic', *Addiction*, 7742(10), pp. 235–88. doi: 10.1016/S0074-7742(10)91008-8.ETHANOL.

Morikawa, H. and Paladini, C. A. (2011) 'Dynamic regulation of midbrain dopamine neuron activity: Intrinsic, synaptic, and plasticity mechanisms', *Neuroscience*, 198, pp. 95–111. doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.08.023.

Munro, C. A. *et al.* (2006) 'Sex Differences in Striatal Dopamine Release in Healthy Adults', *Biological Psychiatry*, 59(10), pp. 966–974. doi: 10.1016/j.biopsych.2006.01.008.

Naassila, M. (2018) 'Bases neurobiologiques de l'addiction à l'alcool', *La Presse Médicale*, 47, pp. 554–564. doi: 10.1016/j.lpm.2017.12.001.

Nagel, B. J. *et al.* (2005) 'Reduced hippocampal volume among adolescents with alcohol use disorders without psychiatric comorbidity', *Psychiatry Res*, 139(3), pp. 181–190.

Nasrallah, N. A. *et al.* (2011) 'Risk preference following adolescent alcohol use is associated with corrupted encoding of costs but not rewards by mesolimbic dopamine', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(13), pp. 5466–5471. doi: 10.1073/pnas.1017732108.

Neto, L. L. *et al.* (2008) 'The human nucleus accumbens: Where is it? A stereotactic, anatomical and magnetic resonance imaging study', *Neuromodulation*, 11, pp. 13–22. doi: 10.1111/j.1525-1403.2007.00138.x.

Noël, X. *et al.* (2007) 'Response Inhibition Deficit Is Involved in Poor Decision Making Under Risk in Nonamnesic Individuals With Alcoholism', *Neuropsychology*, 21(6), pp. 778–86. doi: 10.1037/0894-4105.21.6.778.

O'Brien, E. S. *et al.* (2011) 'Fluoxetine, desipramine, and the dual antidepressant milnacipran reduce alcohol self-administration and/or relapse in dependent rats', *Neuropsychopharmacology*, 36, pp. 1518–1530. doi: 10.1038/npp.2011.37.

- Okamoto, T., Harnett, M. T. and Morikawa, H. (2006) 'Hyperpolarization-activated cation current (I_h) is an ethanol target in midbrain dopamine neurons of mice', *Journal of Neurophysiology*, 95, pp. 619–626. doi: 10.1152/jn.00682.2005.
- Olds, J. and 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), pp. 419–427. doi: 10.1037/h0058775.
- Onge, J. R. S. and Floresco, S. B. (2009) 'Dopaminergic Modulation of Risk-Based Decision Making', pp. 681–697. doi: 10.1038/npp.2008.121.
- St. Onge, J. R. *et al.* (2012) 'Dynamic fluctuations in dopamine efflux in the prefrontal cortex and nucleus accumbens during risk-based decision making', *Journal of Neuroscience*, 32(47), pp. 16880–91. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3807-12.2012.
- Oreland, L. *et al.* (2018) 'Personality as an intermediate phenotype for genetic dissection of alcohol use disorder', *Journal of Neural Transmission*. Springer Vienna, 125(1), pp. 107–130. doi: 10.1007/s00702-016-1672-9.
- Orsini, C. A. *et al.* (2016) 'Sex differences in a rat model of risky decision making', *Behavioral Neuroscience*, 130(1), pp. 50–61. doi: 10.1037/bne0000111.
- Orsini, C. A. and Setlow, B. (2017) 'Sex Differences in Animal Models of Decision-Making', *J Neurosci Res*, 95(1–2), pp. 260–269. doi: 10.1002/jnr.23810.
- Østby, Y. *et al.* (2009) 'Heterogeneity in Subcortical Brain Development : A Structural Magnetic Resonance Imaging Study of Brain Maturation from 8 to 30 Years', 29(38), pp. 11772–11782. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1242-09.2009.
- Overman, W. H. *et al.* (2004) 'Performance on the IOWA card task by adolescents and adults', *Neuropsychologia*. doi: 10.1016/j.neuropsychologia.2004.03.014.
- Owesson-White, C. A. *et al.* (2008) 'Dynamic changes in accumbens dopamine correlate with learning during intracranial self-stimulation', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, pp. 105(33):11957-11962. doi: 10.1073/pnas.0803896105.
- Pais-Vieira, M., Lima, D. and Galhardo, V. (2007) 'Orbitofrontal cortex lesions disrupt risk assessment in a novel serial decision-making task for rats', *Neuroscience*, 145, pp. 225–231. doi: 10.1016/j.neuroscience.2006.11.058.
- Paljärvi, T. *et al.* (2009) 'Binge drinking and depressive symptoms : a 5-year population-based cohort study', *Addiction*, pp. 1168–1178. doi: 10.1111/j.1360-0443.2009.02577.x.
- Palm, S., Roman, E. and Nylander, I. (2011) 'Differences in voluntary ethanol consumption in Wistar rats from five different suppliers', *Alcohol*. Elsevier Inc, 45(6), pp. 607–614. doi: 10.1016/j.alcohol.2010.11.005.
- Pan, W. X. and Hyland, B. I. (2005) 'Pedunculopontine tegmental nucleus controls conditioned responses of midbrain dopamine neurons in behaving rats', *Journal of Neuroscience*, 25, pp. 4725–4732. doi: 10.1523/JNEUROSCI.0277-05.2005.
- Pan, Z. (1998) 'μ-opposing actions of the κ-opioid receptor', *Trends in Pharmacological Sciences*, 19, pp. 94–98. doi: 10.1016/S0165-6147(98)01169-9.

Pandey, S. C. *et al.* (2014) 'Potential role of adolescent alcohol exposure-induced amygdaloid histone modifications in anxiety and alcohol intake during adulthood', *Neurobiology of Disease*, 82, pp. 607–619. doi: 10.1016/j.nbd.2015.03.019.

Parada, M. *et al.* (2012) 'Executive functioning and alcohol binge drinking in university students', *Addictive Behaviors*. Elsevier Ltd, 37(2), pp. 167–172. doi: 10.1016/j.addbeh.2011.09.015.

Parkinson, J. A. *et al.* (1999) 'Dissociation in effects of lesions of the nucleus accumbens core and shell on appetitive Pavlovian approach behavior and the potentiation of conditioned reinforcement and locomotor activity by D-amphetamine', *Journal of Neuroscience*, 19, pp. 2401–2411. doi: 10.1523/jneurosci.19-06-02401.1999.

Pascual, M. *et al.* (2007) 'Intermittent ethanol exposure induces inflammatory brain damage and causes long-term behavioural alterations in adolescent rats', *European Journal of Neuroscience*, 25(October 2006), pp. 541–550. doi: 10.1111/j.1460-9568.2006.05298.x.

Pascual, M. *et al.* (2009) 'Repeated alcohol administration during adolescence causes changes in the mesolimbic dopaminergic and glutamatergic systems and promotes alcohol intake in the adult rat', *JOURNAL OF NEUROCHEMISTRY*, 108(108), pp. 920–931. doi: 10.1111/j.1471-4159.2008.05835.x.

Pascual, M. *et al.* (2012) 'Changes in histone acetylation in the prefrontal cortex of ethanol-exposed adolescent rats are associated with ethanol-induced place conditioning', *Neuropharmacology*, 62(7), pp. 2309–2319. doi: 10.1016/j.neuropharm.2012.01.011.

Peak, J. N., Turner, K. M. and Burne, T. H. J. (2015) 'The effect of developmental vitamin D deficiency in male and female Sprague-Dawley rats on decision-making using a rodent gambling task', *Physiology and Behavior*. Elsevier B.V., 138, pp. 319–324. doi: 10.1016/j.physbeh.2014.09.007.

Pelkonen, A. *et al.* (2010) 'Stimulated dopamine overflow and alpha-synuclein expression in the nucleus accumbens core distinguish rats bred for differential ethanol preference', *Journal of Neurochemistry*, 114, pp. 1168–1176. doi: 10.1111/j.1471-4159.2010.06844.x.

Peña-Oliver, Y. *et al.* (2014) 'Alpha-synuclein deletion decreases motor impulsivity but does not affect risky decision making in a mouse Gambling Task', *Psychopharmacology*, 231(12), pp. 2493–2506. doi: 10.1007/s00213-013-3416-y.

Penicaud, L. *et al.* (2013) 'Animal Models and Methods to Study the Relationships Between Brain and Tissues in Metabolic Regulation', *Animal Models for the Study of Human Disease*, pp. 569–593. doi: 10.1016/B978-0-12-415894-8.00024-5.

Petit, G. *et al.* (2014) 'Binge Drinking in Adolescents : A Review of Neurophysiological and Neuroimaging Research', 49(2), pp. 198–206. doi: 10.1093/alcalc/agt172.

Pfefferbaum, A. *et al.* (2016) 'Adolescent Development of Cortical and White Matter Structure in the NCANDA Sample : Role of Sex , Ethnicity , Puberty , and Alcohol Drinking', i(September 2015), pp. 4101–4121. doi: 10.1093/cercor/bhv205.

Phillips, P. E. M. *et al.* (2003) 'Subsecond dopamine release promotes cocaine seeking', *Nature*, 422, pp. 614–618. doi: 10.1038/nature01476.

Philpot, R. M., Wecker, L. and Kirstein, C. L. (2009) 'Repeated ethanol exposure during

adolescence alters the developmental trajectory of dopaminergic output from the nucleus accumbens septi', *International Journal of Developmental Neuroscience*, 27(8), pp. 805–815. doi: 10.1016/j.ijdevneu.2009.08.009.

Pirastu, R. *et al.* (2006) 'Impaired decision-making in opiate-dependent subjects: Effect of pharmacological therapies', *Drug and Alcohol Dependence*, 83(2), pp. 163–168. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2005.11.008.

Pohjalainen, T. *et al.* (1998) 'Sex differences in the striatal dopamine D2 receptor binding characteristics in vivo', *American Journal of Psychiatry*, 155(6), pp. 768–773. doi: 10.1176/ajp.155.6.768.

Priddy, B. M. *et al.* (2018) 'Sex, strain, and estrous cycle influences on alcohol drinking in rats', *Pharmacol Biochem Behav*, (152), pp. 61–67. doi: 10.1016/j.pbb.2016.08.001.Sex.

Randall, P. A. *et al.* (2018) 'Sex differences in alcohol self-administration and relapse-like behavior in Long-Evans rats', *Pharmacol Biochem Behav*, 156(May), pp. 1–9. doi: 10.1016/j.pbb.2017.03.005.Sex.

Rangel, A., Camerer, C. F. and Montague, P. R. (2008) 'Neuroeconomics: The neurobiology of value-based decision-making', *Nature reviews. Neuroscience*, 9(7), pp. 545–556. doi: 10.1038/nrn2357.Neuroeconomics.

Rankin, M. L. *et al.* (2010) 'Molecular Pharmacology of the Dopamine Receptors', in *Dopamine Handbook*, pp. 63–87. doi: 10.1093/acprof:oso/9780195373035.003.0006.

Redish, A. D. (2004) 'Addiction as a computational process gone awry', *Science*, 306, pp. 1944–1947. doi: 10.1126/science.1102384.

Redish, A. D., Jensen, S. and Johnson, A. (2008) 'A unified framework for addiction: Vulnerability in the decision process', *Behav Brain Sci*, 31(4), pp. 415–487. doi: 10.1017/S0140525X0800472X.A.

Reynolds, A. R. *et al.* (2015) 'Ethanol withdrawal is required to produce persisting N-methyl-d-aspartate receptor-dependent hippocampal cytotoxicity during chronic intermittent ethanol exposure', *Alcohol*, 49, pp. 219–227. doi: 10.1016/j.alcohol.2015.01.008.

Rhodes, J. S. *et al.* (2005) 'Evaluation of a simple model of ethanol drinking to intoxication in C57BL/6J mice', *Physiology and Behavior*. doi: 10.1016/j.physbeh.2004.10.007.

Rhodes, J. S. *et al.* (2007) 'Mouse inbred strain differences in ethanol drinking to intoxication', *Genes, Brain and Behavior*, 6, pp. 1–18. doi: 10.1111/j.1601-183X.2006.00210.x.

Rice, M. E., Patel, J. C. and Cragg, S. J. (2011) 'Dopamine release in the basal ganglia', *Neuroscience*, pp. 198:112–137. doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.08.066.

Risher, M. L. *et al.* (2015) 'Adolescent Intermittent Alcohol Exposure: Persistence of Structural and Functional Hippocampal Abnormalities into Adulthood', *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 39(6), pp. 989–997. doi: 10.1111/acer.12725.

Rivalan, M. *et al.* (2011) 'Inter-Individual Decision-Making Differences in the Effects of Cingulate, Orbitofrontal, and Prelimbic Cortex Lesions in a Rat Gambling Task', *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 5(April), pp. 1–10. doi: 10.3389/fnbeh.2011.00022.

- Rivalan, M. *et al.* (2013) 'Elucidating poor decision-making in a rat gambling task', *PLoS ONE*, 8(12). doi: 10.1371/journal.pone.0082052.
- Rivalan, M., Ahmed, S. H. and Dellu-Hagedorn, F. (2009) 'Risk-prone individuals prefer the wrong options on a rat version of the Iowa Gambling Task', *Biological Psychiatry*. Elsevier Inc., 66(8), pp. 743–749. doi: 10.1016/j.biopsych.2009.04.008.
- Roberts, A J *et al.* (1998) 'Estrous Cycle Effects on Operant Responding for Ethanol in Female Rats', 22(7), pp. 1564–1569. Available at: https://journals-scholarsportal-info.subzero.lib.uoguelph.ca/pdf/01456008/v22i0007/1564_eceoorfeifr.xml.
- Robinson, D. L. *et al.* (2005) 'Acute Ethanol Decreases Dopamine Transporter Velocity in Rat Striatum : In Vivo and In Vitro Electrochemical Measurements', 29(5), pp. 746–755. doi: 10.1097/01.ALC.0000164362.21484.14.
- Robinson, D. L. *et al.* (2009) 'Disparity between tonic and phasic ethanol-induced dopamine in the nucleus accumbens of rats', *Alcohol*, 33(7), pp. 1187–1196. doi: 10.1111/j.1530-0277.2009.00942.x.Disparity.
- Robinson, D. L., Heien, M. L. A. V. and Wightman, R. M. (2002) 'Frequency of dopamine concentration transients increases in dorsal and ventral striatum of male rats during introduction of conspecifics', *Journal of Neuroscience*, 23, pp. 10477–10486. doi: 10.1523/jneurosci.22-23-10477.2002.
- Robinson, T. E. and Berridge, K. C. (2001) 'Incentive-sensitization and addiction', *Addiction*, pp. 96: 103-114. doi: 10.1046/j.1360-0443.2001.9611038.x.
- Robinson, T. E. and Berridge, K. C. (2003) 'Addiction', *Most*, 54, pp. 25–53. doi: 10.1146/annurev.psych.54.101601.145237.
- Rodd, Z. A. *et al.* (2004) 'Intracranial Self-Administration of Ethanol within the Ventral Tegmental Area of Male Wistar Rats: Evidence for Involvement of Dopamine Neurons', *Journal of Neuroscience*, 24, pp. 1050–1057. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1319-03.2004.
- Rodd, Z. A. *et al.* (2005) 'Regional heterogeneity for the intracranial self-administration of ethanol and acetaldehyde within the ventral tegmental area of alcohol-preferring (P) rats: Involvement of dopamine and serotonin', *Neuropsychopharmacology*, 30, pp. 330–338. doi: 10.1038/sj.npp.1300561.
- Rogers, R. D. *et al.* (1999) 'Dissociable deficits in the decision-making cognition of chronic amphetamine abusers, opiate abusers, patients with focal damage to prefrontal cortex, and tryptophan-depleted normal volunteers Evidence for monoaminergic mechanisms', *Neuropsychopharmacology*. doi: 10.1016/S0893-133X(98)00091-8.
- Roine, R. P. *et al.* (1991) 'Effect of Concentration of Ingested Ethanol on Blood Alcohol Levels', 15(4), pp. 734–738.
- Roitman, M. F. *et al.* (2004) 'Dopamine Operates as a Subsecond Modulator of Food Seeking', *Journal of Neuroscience*, pp. 24(6):1265-1271. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3823-03.2004.
- Roitman, M. F. *et al.* (2008) 'Real-time chemical responses in the nucleus accumbens differentiate rewarding and aversive stimuli', *Nature Neuroscience*, 11(12), pp. 1376–1377. doi: 10.1038/nn.2219.

Rolland, B. *et al.* (2017) 'Comparison between the WHO and NIAAA criteria for binge drinking on drinking features and alcohol-related aftermaths : Results from a cross- sectional study among eight emergency wards in France', *Drug and Alcohol Dependence*. Elsevier, 175(March), pp. 92–98. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2017.01.034.

Romanelli, R. J., Williams, J. T. and Neve, K. A. (2010) *Dopamine Receptor Signaling: Intracellular Pathways to Behavior, The Dopamine Receptors*. doi: 10.1007/978-1-60327-333-6_6.

Rose, J. H., Karkhanis, A.N., *et al.* (2016) 'Distinct effects of nalmefene on dopamine uptake rates and kappa opioid receptor activity in the nucleus accumbens following chronic intermittent ethanol exposure', *International Journal of Molecular Sciences*, 17(8). doi: 10.3390/ijms17081216.

Rose, J. H., Karkhanis, Anushree N., *et al.* (2016) 'Supersensitive kappa opioid receptors promotes ethanol withdrawal-related behaviors and reduce dopamine signaling in the nucleus accumbens', *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 19(5), pp. 1–10. doi: 10.1093/ijnp/pyv127.

Rossetti, Z. L. *et al.* (1992) 'Dramatic Depletion of Mesolimbic Extracellular Dopamine after Withdrawal from Morphine, Alcohol or Cocaine: A Common Neurochemical Substrate for Drug Dependence', *Annals of the New York Academy of Sciences*, 654, pp. 513–516. doi: 10.1111/j.1749-6632.1992.tb26016.x.

Rotheram-Fuller, E. *et al.* (2004) 'Impaired performance in a test of decision-making by opiate-dependent tobacco smokers', *Drug and Alcohol Dependence*. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2003.10.003.

Russo, S. J. and Nestler, E. J. (2013) 'The brain reward circuitry in mood disorders', *Nature Reviews Neuroscience*, pp. 14, 609–625. doi: 10.1038/nrn3381.

Sabino, V. *et al.* (2013) 'Pharmacological Characterization of the 20% Alcohol Intermittent Access Model in Sardinian Alcohol-Preferring Rats: A Model of Binge-Like Drinking', *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, (37), pp. 635–643. doi: 10.1111/acer.12008.

Salamone, J. D. *et al.* (2007) 'Effort-related functions of nucleus accumbens dopamine and associated forebrain circuits', *Psychopharmacology*, pp. 191: 461-482. doi: 10.1007/s00213-006-0668-9.

Salgado, S. and Kaplitt, M. G. (2015) 'The nucleus accumbens: A comprehensive review', *Stereotactic and Functional Neurosurgery*, 93(2), pp. 75–93. doi: 10.1159/000368279.

Samson, H. H. *et al.* (1993) 'Effect of dopamine agonists and antagonists on ethanol-reinforced behavior: The involvement of the nucleus accumbens', *Brain Research Bulletin*, 30, pp. 133–141. doi: 10.1016/0361-9230(93)90049-H.

Samson, H. H. *et al.* (1997) 'The effects of local application of ethanol in the n. accumbens on dopamine overflow and clearance', *Alcohol*, 14, pp. 485–492. doi: 10.1016/S0741-8329(96)00216-9.

Sanchez-Catalan, M. J. *et al.* (2014) 'The antero-posterior heterogeneity of the ventral tegmental area', *Neuroscience*. IBRO, 282, pp. 198–216. doi: 10.1016/j.neuroscience.2014.09.025.

- Sanchez-Roige, S. *et al.* (2014) 'Repeated Ethanol Exposure During Early and Late Adolescence: Double Dissociation of Effects on Waiting and Choice Impulsivity', *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 38(10), pp. 2579–2589. doi: 10.1111/acer.12535.
- Sanfey, A. G. (2007) 'Social decision-making: Insights from game theory and neuroscience', *Science*. doi: 10.1126/science.1142996.
- Sanhueza, C. *et al.* (2011) 'Weekend alcoholism in youth and neurocognitive aging', 23, pp. 209–214.
- Scaife, J. C. and Duka, T. (2009) 'Pharmacology, Biochemistry and Behavior Behavioural measures of frontal lobe function in a population of young social drinkers with binge drinking pattern', *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. Elsevier B.V., 93(3), pp. 354–362. doi: 10.1016/j.pbb.2009.05.015.
- Scarnà, A. *et al.* (2005) 'The effects of a branched chain amino acid mixture supplemented with tryptophan on biochemical indices of neurotransmitter function and decision-making', *Psychopharmacology*, 179, pp. 761–768. doi: 10.1007/s00213-004-2105-2.
- Schindler, A. G. *et al.* (2016) 'Reversal of Alcohol-Induced Dysregulation in Dopamine Network Dynamics May Rescue Maladaptive Decision-making', *The Journal of Neuroscience*, 36(13), pp. 3698–3708. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4394-15.2016.
- Schindler, A. G., Tsutsui, K. T. and Clark, J. J. (2014) 'Chronic alcohol intake during adolescence, but not adulthood, promotes persistent deficits in risk-based decision making', *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 38(6), pp. 1622–1629. doi: 10.1111/acer.12404.
- Schultheis, G. *et al.* (1995) 'Decreased brain reward produced by ethanol withdrawal', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92(13), pp. 5880–5884. doi: 10.1073/pnas.92.13.5880.
- Schultz, W. (1998) 'Predictive reward signal of dopamine neurons', *Journal of Neurophysiology*, pp. 80: 1–27. doi: 10.1152/jn.1998.80.1.1.
- Schultz, W. (2002) 'Getting Formal with Dopamine and Reward', *Neuron*, 36, pp. 241–263.
- Schultz, W. (2010) 'Dopamine signals for reward value and risk: Basic and recent data', *Behavioral and Brain Functions*, p. 6:24. doi: 10.1186/1744-9081-6-24.
- Schultz, W. (2011) 'Potential Vulnerabilities of Neuronal Reward, Risk, and Decision Mechanisms to Addictive Drugs', *Neuron*, pp. 69(4):603-617. doi: 10.1016/j.neuron.2011.02.014.
- Schultz, W., Dayan, P. and Montague, P. R. (1997) 'A neural substrate of prediction and reward', *Science*, 275, pp. 1593–1599. doi: 10.1126/science.275.5306.1593.
- Schweinsburg, A. D. *et al.* (2012) 'Neural Correlates of Verbal Learning in Adolescent Alcohol and Marijuana Users', *Addiction*, 106(3), pp. 564–573. doi: 10.1111/j.1360-0443.2010.03197.x.Neural.
- Sevy, S. *et al.* (2006) 'Emotion-based decision-making in healthy subjects: Short-term effects of reducing dopamine levels', *Psychopharmacology*, 188, pp. 228–235. doi: 10.1007/s00213-006-0450-z.

- Sevy, S. *et al.* (2007) 'Iowa Gambling Task in schizophrenia: A review and new data in patients with schizophrenia and co-occurring cannabis use disorders', *Schizophrenia Research*, 92(1–3), pp. 74–84. doi: 10.1016/j.schres.2007.01.005.
- Shen, R. Y., Choong, K. C. and Thompson, A. C. (2007) 'Long-Term Reduction in Ventral Tegmental Area Dopamine Neuron Population Activity Following Repeated Stimulant or Ethanol Treatment', *Biological Psychiatry*, 61, pp. 93–100. doi: 10.1016/j.biopsych.2006.03.018.
- Shnitko, T. A. *et al.* (2016) 'Adolescent binge-like alcohol alters sensitivity to acute alcohol effects on dopamine release in the nucleus accumbens of adult rats', *Psychopharmacology*, 233(3), pp. 361–371. doi: 10.1007/s00213-015-4106-8.Adolescent.
- Siciliano, C. A. *et al.* (2015) 'Voluntary ethanol intake predicts κ -opioid receptor supersensitivity and regionally distinct dopaminergic adaptations in macaques', *Journal of Neuroscience*, 35(15), pp. 5959–5968. doi: 10.1523/JNEUROSCI.4820-14.2015.
- Siciliano, C. A., Calipari, E. S., Yorgason, J. T., Mateo, Y., *et al.* (2016) 'Chronic ethanol self-administration in macaques shifts dopamine feedback inhibition to predominantly D2 receptors in nucleus accumbens core', *Drug and Alcohol Dependence*. Elsevier Ireland Ltd, 158, pp. 159–163. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2015.10.031.
- Siciliano, C. A., Calipari, E. S., Yorgason, J. T., Lovinger, D. M., *et al.* (2016) 'Increased presynaptic regulation of dopamine neurotransmission in the nucleus accumbens core following chronic ethanol self-administration in female macaques', *Psychopharmacology*, 233(8), pp. 1435–1443. doi: 10.1007/s00213-016-4239-4.
- Simms, J. A. *et al.* (2008) 'Intermittent access to 20% ethanol induces high ethanol consumption in Long-Evans and Wistar rats', *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, (32), pp. 1816–1823. doi: 10.1111/j.1530-0277.2008.00753.x.
- Simms, J. A. *et al.* (2010) 'Long-evans rats acquire operant self-administration of 20% ethanol without sucrose fading', *Neuropsychopharmacology*. Nature Publishing Group, 35(7), pp. 1453–1463. doi: 10.1038/npp.2010.15.
- Simon-O'Brien, E. *et al.* (2015) 'The histone deacetylase inhibitor sodium butyrate decreases excessive ethanol intake in dependent animals', *Addiction Biology*, 20(4), pp. 676–689. doi: 10.1111/adb.12161.
- Simpson, J. and Kelly, J. P. (2012) 'An investigation of whether there are sex differences in certain behavioural and neurochemical parameters in the rat', *Behavioural Brain Research*. Elsevier B.V., 229(1), pp. 289–300. doi: 10.1016/j.bbr.2011.12.036.
- Smith, K. W. *et al.* (2017) 'Altered white matter integrity in whole brain and segments of corpus callosum, in young social drinkers with binge drinking pattern', pp. 490–501. doi: 10.1111/adb.12332.
- Solomon, R. L. and Corbit, J. D. (1974) 'An opponent-process theory of motivation: I. Temporal dynamics of affect', *Psychological Review*, 81(2), pp. 119–145. doi: 10.1037/h0036128.
- Soshi, T. *et al.* (2019) 'Pre-specified Anxiety Predicts Future Decision-Making Performances Under Different Temporally Constrained Conditions', *Frontiers in Psychology*, 10(July), pp. 1–

17. doi: 10.3389/fpsyg.2019.01544.

Spanagel, R. (2009) 'Alcoholism: A systems approach from molecular physiology to addictive behavior', *Physiological Reviews*, 89(2), pp. 649–705. doi: 10.1152/physrev.00013.2008.

Spear, L. P. (2000) *The adolescent brain and age-related behavioral manifestations*, *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. Available at: [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0149763400000142%0Apapers3://publication/doi/10.1016/S0149-7634\(00\)00014-2](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0149763400000142%0Apapers3://publication/doi/10.1016/S0149-7634(00)00014-2).

Spear, L. P. (2020) 'Timing eclipses amount: The critical importance of intermittency in alcohol exposure effects', *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, pp. 0–2. doi: 10.1111/acer.14307.

Spoelder, M. *et al.* (2015) 'Altered performance in a rat gambling task after acute and repeated alcohol exposure', *Psychopharmacology*, 232(19), pp. 3649–3662. doi: 10.1007/s00213-015-4020-0.

Spoelder, M., Hesselting, P., *et al.* (2017) 'Dopaminergic neurotransmission in ventral and dorsal striatum differentially modulates alcohol reinforcement', *European Journal of Neuroscience*, 45(1), pp. 147–158. doi: 10.1111/ejn.13358.

Spoelder, M., Dourojeanni, J. P. F., *et al.* (2017) 'Individual differences in voluntary alcohol intake in rats : relationship with impulsivity , decision making and Pavlovian conditioned approach', *Psychopharmacology*. *Psychopharmacology*, (234), pp. 2177–2196. doi: 10.1007/s00213-017-4617-6.

Squeglia, L. M. *et al.* (2012) 'Brain response to working memory over three years of adolescence: Influence of initiating heavy drinking', *Journal of Studies on Alcohol and Drugs*, 73(5), pp. 749–760. doi: 10.15288/jsad.2012.73.749.

Squeglia, L. M. *et al.* (2014) 'Brain volume reductions in adolescent heavy drinkers', *Developmental Cognitive Neuroscience*, 9, pp. 117–125. doi: 10.1016/j.dcn.2014.02.005.

Squeglia, L. M. *et al.* (2015) 'Brain development in heavy-drinking adolescents', *American Journal of Psychiatry*, 172(6), pp. 531–542. doi: 10.1176/appi.ajp.2015.14101249.

Steffensen, S. C. *et al.* (2009) 'Contingent and non-contingent effects of low-dose ethanol on GABA neuron activity in the ventral tegmental area', *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 92, pp. 68–75. doi: 10.1016/j.pbb.2008.10.012.

Stephens, D. N. and Duka, T. (2008) 'Cognitive and emotional consequences of binge drinking: Role of amygdala and prefrontal cortex', *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363(1507), pp. 3169–3179. doi: 10.1098/rstb.2008.0097.

Stobbs, S. H. *et al.* (2004) 'Ethanol suppression of ventral tegmental area GABA neuron electrical transmission involves N-methyl-D-aspartate receptors', *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 311, pp. 282–289. doi: 10.1124/jpet.104.071860.

Stopper, C. M. *et al.* (2014) 'Overriding phasic dopamine signals redirects action selection during risk/reward decision making', *Neuron*. Elsevier Inc., 84(1), pp. 177–189. doi: 10.1016/j.neuron.2014.08.033.

Stopper, C. M. and Floresco, S. B. (2011) 'Contributions of the nucleus accumbens and its

- subregions to different aspects of risk-based decision making', *Cognitive, Affective and Behavioral Neuroscience*, 11(1), pp. 97–112. doi: 10.3758/s13415-010-0015-9.
- Sugam, J. A. *et al.* (2012) 'Phasic nucleus accumbens dopamine encodes risk-based decision-making behavior', *Nano*, 6(9), pp. 2166–2171. doi: 10.1021/nl061786n.Core-Shell.
- Suhr, J. A. and Tsanadis, J. (2007) 'Affect and personality correlates of the Iowa Gambling Task', *Personality and Individual Differences*. doi: 10.1016/j.paid.2006.11.004.
- Talwar, S. K. *et al.* (2002) 'Rat navigation guided by remote control', *Nature*, 417(6884), pp. 37–38. doi: 10.1038/417037a.
- Tarazi, F. I., Tomasini, E. C. and Baldessarini, R. J. (1998) 'Postnatal development of dopamine and serotonin transporters in rat caudate-putamen and nucleus accumbens septi', *Neuroscience Letters*, 254, pp. 21–24. doi: 10.1016/S0304-3940(98)00644-2.
- Teicher, M. H., Andersen, S. L. and Hostetter, J. C. (1995) 'Evidence for dopamine receptor pruning between adolescence and adulthood in striatum but not nucleus accumbens', *Developmental Brain Research*, 89, pp. 167–172. doi: 10.1016/0165-3806(95)00109-Q.
- Thiele, T. E., Crabbe, J. C. and Boehm, S. L. (2014) "'Drinking in the dark" (DID): A simple mouse model of binge-like alcohol intake', *Current Protocols in Neuroscience*, 6, pp. 1–18. doi: 10.1002/0471142301.ns0949s68.
- Thielen, R. J. *et al.* (2004) 'Ethanol Drinking and Deprivation Alter Dopaminergic and Serotonergic Function in the Nucleus Accumbens of Alcohol-Preferring Rats', *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 309, pp. 216–225. doi: 10.1124/jpet.103.059790.
- Thombs, D. L. *et al.* (2008) 'Drink specials and the intoxication levels of patrons exiting college bars', *American Journal of Health Behavior*, (32), pp. 411–9. doi: 10.5993/AJHB.32.4.8.
- Toalston, J. E. *et al.* (2014) 'Reinforcing properties and neurochemical response of ethanol within the posterior ventral tegmental area are enhanced in adulthood by periadolescent ethanol consumption', *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 351(2), pp. 317–326. doi: 10.1124/jpet.114.218172.
- Tobler, P. N., Fiorillo, C. D. and Schultz, W. (2005) 'Adaptive coding of reward value by dopamine neurons', *Science*, 307, pp. 1642–1645. doi: 10.1126/science.1105370.
- Toplak, M. E. *et al.* (2010) 'Decision-making and cognitive abilities: A review of associations between Iowa Gambling Task performance, executive functions, and intelligence', *Clinical Psychology Review*. doi: 10.1016/j.cpr.2010.04.002.
- Townshend, J. . M. and Duka, T. (2002) 'PATTERNS OF ALCOHOL DRINKING IN A POPULATION OF YOUNG SOCIAL DRINKERS : A COMPARISON OF QUESTIONNAIRE AND DIARY MEASURES', *Alcohol & Alcoholism*, 37(2), pp. 187–192. doi: 10.1093/alcalc/37.2.187.
- Townshend, J. M. and Duka, T. (2005) 'Binge Drinking , Cognitive Performance and Mood in a Population of Young Social Drinkers', 29(3), pp. 317–325. doi: 10.1097/01.ALC.0000156453.05028.F5.
- Tranel, D. *et al.* (2005) 'Does gender play a role in functional asymmetry of ventromedial

prefrontal cortex?', *Brain*, 128(12), pp. 2872–2881. doi: 10.1093/brain/awh643.

Trifilieff, P. and Martinez, D. (2014) 'Imaging addiction: D2 receptors and dopamine signaling in the striatum as biomarkers for impulsivity', *Neuropharmacology*, 76(PART B), pp. 498–509. doi: 10.1016/j.neuropharm.2013.06.031.

Tsai, H. C. *et al.* (2009) 'Phasic firing in dopaminergic neurons is sufficient for behavioral conditioning', *Science*, 324, pp. 1080–1084. doi: 10.1126/science.1168878.

Ungless, M. A., Argilli, E. and Bonci, A. (2010) 'Effects of stress and aversion on dopamine neurons: Implications for addiction', *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, pp. 35:151-156. doi: 10.1016/j.neubiorev.2010.04.006.

Varlinskaya, E. I. and Spear, L. P. (2004) 'Acute Ethanol Withdrawal (Hangover) and Social Behavior in Adolescent and Adult Male and Female Sprague-Dawley Rats', *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 28, pp. 40–50. doi: 10.1097/01.ALC.0000108655.51087.DF.

Varlinskaya, E. I., Truxell, E. and Spear, L. P. (2014) 'Chronic intermittent ethanol exposure during adolescence: Effects on social behavior and ethanol sensitivity in adulthood', *Alcohol*, 48(5), pp. 433–444. doi: 10.1016/j.alcohol.2014.01.012.

Verdejo-Garcia, A. *et al.* (2018) 'Stages of dysfunctional decision-making in addiction', *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. Failure:Problem in retrieving ISSN for S0091305716302817, 164, pp. 99–105. doi: 10.1016/j.pbb.2017.02.003.

Verdejo-García, A. *et al.* (2007) 'Strategic self-regulation, decision-making and emotion processing in poly-substance abusers in their first year of abstinence', *Drug and Alcohol Dependence*. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2006.05.024.

Verdejo-García, A., Lawrence, A. J. and Clark, L. (2008) 'Impulsivity as a vulnerability marker for substance-use disorders: Review of findings from high-risk research, problem gamblers and genetic association studies', *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. doi: 10.1016/j.neubiorev.2007.11.003.

Verharen, J. P. H. *et al.* (2018) 'A neuronal mechanism underlying decision-making deficits during hyperdopaminergic states', *Nature Communications*. Springer US, 9(1), pp. 1–15. doi: 10.1038/s41467-018-03087-1.

Vetreno, R. P. and Crews, F. T. (2015) 'Binge ethanol exposure during adolescence leads to a persistent loss of neurogenesis in the dorsal and ventral hippocampus that is associated with impaired adult cognitive functioning', *Frontiers in Neuroscience*, p. 9:35. doi: 10.3389/fnins.2015.00035.

Vetter-O'Hagen, C., Varlinskaya, E. and Spear, L. (2009) 'Sex differences in ethanol intake and sensitivity to aversive effects during adolescence and adulthood', *Alcohol and Alcoholism*, 44(6), pp. 547–554. doi: 10.1093/alcalc/agg048.

de Visser, L. *et al.* (2010) 'Trait anxiety affects decision-making differently in healthy men and women: Towards gender-specific endophenotypes of anxiety', *Neuropsychologia*. doi: 10.1016/j.neuropsychologia.2010.01.027.

de Visser, L. *et al.* (2011) 'Rodent versions of the Iowa gambling task: Opportunities and challenges for the understanding of decision-making', *Frontiers in Neuroscience*, 5(OCT), pp.

1–21. doi: 10.3389/fnins.2011.00109.

Volkow, N. D., Wang, G. J., *et al.* (1996) 'Decreases in dopamine receptors but not in dopamine transporters in alcoholics', *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 20(9), pp. 1594–1598. doi: 10.1111/j.1530-0277.1996.tb05936.x.

Volkow, N. D., Fowler, J. S., *et al.* (1996) 'Pet evaluation of the dopamine system of the human brain', *Journal of Nuclear Medicine*, 37(7), pp. 1242–1256.

Volkow, N. D. *et al.* (2007) 'Profound decreases in dopamine release in striatum in detoxified alcoholics: Possible orbitofrontal involvement', *Journal of Neuroscience*, 27, pp. 12700–12706. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3371-07.2007.

Volkow, N. D., Koob, G. F. and McLellan, T. A. (2016) 'Neurobiologic Advances from the Brain Disease Model of Addiction', *N Engl J Med*, 374(4), pp. 363–371. doi: 10.1056/NEJMra1511480.

di Volo, M. *et al.* (2019) 'Dynamical ventral tegmental area circuit mechanisms of alcohol-dependent dopamine release', *European Journal of Neuroscience*, 50(3), pp. 2282–2296. doi: 10.1111/ejn.14147.

Wai, J. M. *et al.* (2019) 'Binge alcohol use is not associated with alterations in striatal dopamine receptor binding or dopamine release', *Drug and Alcohol Dependence*. Elsevier, 205(October), p. 107627. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2019.107627.

Walker, B. M., Roth, J. L. and Ehlers, C. L. (2008) 'Dissociable Effects of Ethanol Consumption during the Light and Dark Phase in Adolescent and Adult Wistar Rats', *Alcohol*, 42(2), pp. 83–89. doi: 10.1016/j.alcohol.2007.12.001.

Walker, Q. D., Ray, R. and Kuhn, C. M. (2006) 'Sex differences in neurochemical effects of dopaminergic drugs in rat striatum', *Neuropsychopharmacology*, 31(6), pp. 1193–202. doi: 10.1038/sj.npp.1300915.

Wanat, M. J. *et al.* (2009) 'Phasic dopamine release in appetitive behaviors and drug addiction', *Current Drug Abuse Reviews*, 2(2), pp. 195–213. doi: 10.2174/1874473710902020195.

Ward, R. J., Lallemand, F. and de Witte, P. (2009) 'Biochemical and neurotransmitter changes implicated in alcohol-induced brain damage in chronic or "binge drinking" alcohol abuse', *Alcohol and Alcoholism*, 44(2), pp. 128–135. doi: 10.1093/alcalc/agn100.

Weiss, F. *et al.* (1993) 'Oral alcohol self-administration stimulates dopamine release in the rat nucleus accumbens: Genetic and motivational determinants', *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 267, pp. 250–.

Weiss, F. *et al.* (1996) 'Ethanol self-administration restores withdrawal-associated deficiencies in accumbal dopamine and 5-hydroxytryptamine release in dependent rats', *Journal of Neuroscience*, 16, pp. 3474–3485. doi: 10.1523/jneurosci.16-10-03474.1996.

Weller, J. A., Levin, I. P. and Bechara, A. (2010) 'Do individual differences in Iowa Gambling Task performance predict adaptive decision making for risky gains and losses?', *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*. doi: 10.1080/13803390902881926.

Wenzel, J. M. *et al.* (2015) 'A role for phasic dopamine release within the nucleus accumbens

in encoding aversion: A review of the neurochemical literature', *ACS Chemical Neuroscience*, 6(1), pp. 16–26. doi: 10.1021/cn500255p.

Werner, N. S., Duschek, S. and Schandry, R. (2009) 'Relationships between affective states and decision-making', *International Journal of Psychophysiology*. Elsevier B.V., 74(3), pp. 259–265. doi: 10.1016/j.ijpsycho.2009.09.010.

Wetherill, R. R. *et al.* (2013) 'A longitudinal examination of adolescent response inhibition: Neural differences before and after the initiation of heavy drinking', *Psychopharmacology*, 230(4), pp. 1–15. doi: 10.1007/s00213-013-3198-2.A.

White, H. R. *et al.* (2011) 'Associations Between Heavy Drinking and Changes in Impulsive Behavior Among Adolescent Boys', *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 35, pp. 295–303. doi: 10.1111/j.1530-0277.2010.01345.x.

Williams, S. B. *et al.* (2019) 'Glutamate transmission to ventral tegmental area GABA neurons is altered by acute and chronic ethanol', 42(11), pp. 2186–2195. doi: 10.1111/acer.13883.Glutamate.

Willuhn, I. *et al.* (2010) 'Dopamine Signaling in the Nucleus Accumbens of Animals Self-Administering Drugs of Abuse', *Curr Top Behav Neurosci.*, 3(November 2011), pp. 29–71. doi: 10.1007/7854_2009_27.

Wilsnack, R. W. *et al.* (2017) 'Gender differences in binge drinking prevalence, predictors, and consequences', *Alcohol Research: Current Reviews*, 39(1), pp. e1–e20.

Winograd, R. P., Steinley, D. and Sher, K. J. (2015) 'Drunk Personality: Reports from Drinkers and Knowledgeable Informants', *Exp Clin Psychopharmacol*, 22(3), pp. 187–197. doi: 10.1037/a0036607.Drunk.

Wise, R. (1973) 'Voluntary ethanol intake in rats following exposure to ethanol on various schedules', *Psychopharmacologia*, (26), pp. 1667–1672. doi: 10.1007/BF00414034.

Wise, R. *et al.* (1978) 'Neuroleptic-induced "anhedonia" in rats: Pimozide blocks reward quality of food', *Science*, 201, pp. 262–264. doi: 10.1126/science.566469.

Wise, R. A. (2004) 'Dopamine, learning and motivation', *Nature Reviews Neuroscience*. doi: 10.1038/nrn1406.

De Wit, H. and Wise, R. A. (1977) 'Blockade of cocaine reinforcement in rats with the dopamine receptor blocker pimozide, but not with the noradrenergic blockers phentolamine or phenoxybenzamine.', *Canadian journal of psychology*. doi: 10.1037/h0081662.

Worbe, Y. *et al.* (2014) 'Neuronal correlates of risk-seeking attitudes to anticipated losses in binge drinkers', *Biological Psychiatry*, 79(9), pp. 714–724. doi: 10.1016/j.biopsych.2013.11.028.

Wu, Q. *et al.* (2001) 'Determination of release and uptake parameters from electrically evoked dopamine dynamics measured by real-time voltammetry', *Journal of Neuroscience Methods*, 112(2), pp. 119–133. doi: 10.1016/S0165-0270(01)00459-9.

Xiao, C. *et al.* (2007) 'Effects of ethanol on midbrain neurons: Role of opioid receptors', *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 31, pp. 1106–1113. doi: 10.1111/j.1530-0277.2007.00405.x.

- Xiao, C. *et al.* (2009) 'Ethanol facilitates glutamatergic transmission to dopamine neurons in the ventral tegmental area', *Neuropsychopharmacology*, 34, pp. 307–318. doi: 10.1038/npp.2008.99.
- Xiao, L. *et al.* (2009) 'Affective decision-making predictive of Chinese adolescent drinking behaviors', *Journal of the International Neuropsychological Society*. doi: 10.1017/S1355617709090808.
- Xiao, L. *et al.* (2013) 'Abnormal affective decision making revealed in adolescent binge drinkers using a functional magnetic resonance imaging study', *Psychology of Addictive Behaviors*, 27(2), pp. 443–54. doi: 10.1037/a0027892.
- Yager, L. M. *et al.* (2015) 'The ins and outs of the striatum: Role in drug addiction', *Neuroscience*. IBRO, 301(June), pp. 529–541. doi: 10.1016/j.neuroscience.2015.06.033.
- Yavich, L. and Tiihonen, J. (2000) 'Ethanol modulates evoked dopamine release in mouse nucleus accumbens: dependence on social stress and dose', *European Journal of Pharmacology*, 401, pp. 365–373. doi: 10.1016/S0014-2999(00)00456-8.
- Yim, H. J. *et al.* (1998) 'Comparison of local and systemic ethanol effects on extracellular dopamine concentration in rat nucleus accumbens by microdialysis', in *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, pp. 22:367-374. doi: 10.1111/j.1530-0277.1998.tb03662.x.
- Yokel, R. and Wise, R. (1975) 'Increased lever pressing for amphetamine after pimozide in rats: implications for a dopamine theory of reward', *Science*, 187, pp. 547–549. doi: 10.1126/science.1114313.
- Yoneyama, N. *et al.* (2008) 'Voluntary ethanol consumption in 22 inbred mouse strains', *Alcohol*, (42), pp. 149–160. doi: 10.1016/j.alcohol.2007.12.006.
- Yoo, J. Y. and Kim, M. S. (2016) 'Deficits in Decision-Making and reversal learning in college students who participate in Binge drinking', *Neuropsychiatry*, 6(6). doi: 10.4172/Neuropsychiatry.1000156.
- Yorgason, J. T. *et al.* (2014) 'Frequency-Dependent Effects of Ethanol on Dopamine Release in the Nucleus Accumbens', *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 38(2), pp. 438–447. doi: 10.1111/acer.12287.
- Zahm, D. S. and Brog, J. S. (1992) 'On the significance of subterritories in the "accumbens" part of the rat ventral striatum', *Neuroscience*, 50, pp. 751–767. doi: 10.1016/0306-4522(92)90202-D.
- Zandy, S. L. *et al.* (2016) 'Reduced dopamine release in the nucleus accumbens core of adults rats following adolescent binge alcohol exposure: age and dose-dependant analysis', 232(4), pp. 777–784. doi: 10.1007/s00213-014-3712-1.Reduced.
- Zeeb, F. D., Robbins, T. W. and Winstanley, C. A. (2009) 'Serotonergic and Dopaminergic Modulation of Gambling Behavior as Assessed Using a Novel Rat Gambling Task'. Nature Publishing Group, 34(10), pp. 2329–2343. doi: 10.1038/npp.2009.62.
- Zeeb, F. D. and Winstanley, C. A. (2011) 'Lesions of the basolateral amygdala and orbitofrontal cortex differentially affect acquisition and performance of a rodent gambling task', *Journal of Neuroscience*, 31(6), pp. 2197–2204. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5597-10.2011.

Zeisser, C. *et al.* (2014) 'A systematic review and meta-analysis of alcohol consumption and 1 injury risk as a function of study design and recall period', *Alcohol Clin Exp Res*, 37(Suppl 1), pp. 1–16. doi: 10.1111/j.1530-0277.2012.01919.x.A.

Zermatten, A. *et al.* (2005) 'Impulsivity and decision making', *Journal of Nervous and Mental Disease*. doi: 10.1097/01.nmd.0000180777.41295.65.

Zhang, L. *et al.* (2015) 'Trait anxiety has effect on decision making under ambiguity but not decision making under risk', *PLoS ONE*, 10(5), pp. 1–21. doi: 10.1371/journal.pone.0127189.

Résumé

Le *Binge Drinking* (BD) est un mode de consommation d'alcool caractérisé par l'alternance récurrente entre des épisodes d'intoxication intense et d'abstinence, pouvant entraîner des conséquences cérébrales et cognitives. Il est nécessaire d'identifier les facteurs impliqués dans la vulnérabilité au développement de ce comportement, qui est un facteur de risque de l'addiction à l'alcool. La prise de décision (PdD), capacité d'adaptation fondamentale perturbée dans de nombreux troubles psychiatriques, et le sexe, jouent un rôle dans la vulnérabilité au BD. La transmission dopaminergique (DA) dans le noyau accumbens (NAcc) est impliquée à la fois dans le processus de PdD et dans les effets renforçants de l'alcool. Dans ce contexte, nos objectifs ont été de mieux comprendre les conséquences du BD sur la PdD, et les adaptations de la transmission DAergique dans le NAcc qui sont potentiellement impliquées. Nous avons évalué les capacités de PdD dans la Rat Gambling Task chez des rats mâles et femelles exposés à deux paradigmes mimant le *binge* : une procédure d'administration passive (injections intermittentes répétées) et une procédure d'administration volontaire (auto-administration opérante). Les modifications de la transmission DAergique dans le NAcc ont été étudiées avec la technique de voltamétrie cyclique rapide ex vivo, en condition de base et sous influence de l'alcool et/ou d'un agoniste sélectif des récepteurs D2/D3 (quinpirole). Nous montrons que le BD affecte à la fois le processus de PdD et la signalisation DAergique dans le NAcc. Ces effets pourraient jouer un rôle dans le cercle vicieux perpétuant la consommation nocive d'alcool et conduisant au développement précoce de l'addiction. Il sera maintenant intéressant de poursuivre ces études en analysant de manière plus approfondie les mécanismes impliqués dans les différences liées au sexe, ainsi que les effets sous influence de l'alcool.

Mots-clés : *binge drinking*, prise de décision, rat gambling task, dopamine, noyau accumbens, sexe.

Abstract

Binge Drinking (BD) is a pattern of alcohol consumption defined by the recurrent alternation of intense intoxication episodes and abstinence, which can lead to cerebral and cognitive consequences. It is necessary to identify factors that contribute to the vulnerability to develop this behavior, which is a risk factor for alcohol addiction. Decision-making (DM), a fundamental adaptative ability disrupted in many psychiatric disorders, and sex, play a role in the vulnerability to BD. Dopaminergic (DA) transmission in the nucleus accumbens (NAcc) is involved in both the DM process and the reinforcing effects of alcohol. In this context, our objectives were to better understand the consequences of BD on DM, and adaptations in the DAergic transmission potentially involved. We evaluated DM abilities in the Rat Gambling Task in male and female rats exposed to two paradigm mimicking the binge: a passive procedure of administration (repeated intermittent injections) and a voluntary procedure of administration (operant self-administration). Modifications of the DAergic transmission in the NAcc were studied with the ex vivo fast-scan cyclic voltammetry technique, at baseline and under the influence of alcohol and/or a selective D2/D3 receptor agonist (quinpirole). We show that BD affect both the DM process and DAergic signaling in the NAcc. These effects could play a role in a vicious cycle perpetuating harmful alcohol consumption and leading to the early onset of addiction. It will now be interesting to pursue these studies by thoroughly investigating mechanisms involved in sex-related differences, as well as the effects under the influence of alcohol.

Key-words: *binge drinking*, decision-making, rat gambling task, dopamine, nucleus accumbens, sex.