



Étude de l'influence de l'état de stress posttraumatique sur la vulnérabilité aux drogues chez la souris DBA/2J

**Thèse présentée par MATONDA MA NZUZI, Médecin Spécialiste en
Neuropsychiatrie, en vue de l'obtention du titre de Docteur en Sciences
Biomédicales et Pharmaceutiques**

Promoteur	: Vincent SEUTIN (ULiège, Belgique)
Co-promoteur	: Étienne QUERTEMONT (ULiège, Belgique)
Président du jury	: Ezio TIRELLI (ULiège, Belgique)
Sécrétaire du jury	: Gabrielle SCANTAMBURLO (ULiège, Belgique)
Membre du jury	: Mickaël NAASSILA (INSERM, France)
Membre du jury	: Philippe de TIMARY (UCL, Belgique)

Année académique 2020-2021



Étude de l'influence de l'état de stress posttraumatique sur la vulnérabilité aux drogues chez la souris DBA/2J

**Thèse présentée par MATONDA MA NZUZI, Médecin Spécialiste en
Neuropsychiatrie, en vue de l'obtention du titre de Docteur en Sciences
Biomédicales et Pharmaceutiques**

Promoteur	: Vincent SEUTIN (ULiège, Belgique)
Co-promoteur	: Étienne QUERTEMONT (ULiège, Belgique)
Président du jury	: Ezio TIRELLI (ULiège, Belgique)
Sécrétaire du jury	: Gabrielle SCANTAMBURLO (ULiège, Belgique)
Membre du jury	: Mickaël NAASSILA (INSERM, France)
Membre du jury	: Philippe de TIMARY (UCL, Belgique)

Année académique 2020-2021

Ya Alphonsine, Ya Anne-Laure, afin que toujours ta mémoire demeure ...

Résumé

Le trouble du stress posttraumatique (TSPT) et l'addiction aux drogues sont deux conditions comorbides liées dans une relation bidirectionnelle complexe. D'une part, les mécanismes par lesquels le TSPT favorise la survenue de l'addiction ne sont pas parfaitement élucidés. D'autre part, les limites méthodologiques et éthiques inhérentes aux études humaines ne permettent pas une pleine compréhension de l'influence des drogues sur l'expression des symptômes du TSPT. Afin de contribuer à la résolution de ces deux problématiques, le présent travail basé sur des études animales avec des souris DBA/2J, a combiné séquentiellement, dans les deux sens, une procédure de sensibilisation locomotrice induite par des drogues et un modèle animal de TSPT basé sur un choc électrique. La sensibilisation locomotrice était obtenue par l'administration répétée d'éthanol ou de cocaïne, à la même dose, durant plusieurs jours. L'expression du modèle animal de TSPT était évaluée, plusieurs semaines après le choc électrique, par la peur conditionnée, la peur généralisée et des tests d'anxiété. Globalement les différentes expériences ont montré, d'une part, qu'une expérience de TSPT chez les souris n'amplifie pas l'intensité de la sensibilité locomotrice aux drogues. Néanmoins, ce modèle la renforce indirectement en modulant certains facteurs qui interfèrent avec la sensibilisation aux drogues. D'autre part, une sensibilisation locomotrice aux drogues n'influence pas directement l'expression d'un modèle animal de TSPT, mais peut être considéré comme une forme de sensibilisation au stress qui induit en soi des comportements de stress qui s'additionnent aux effets induits par le TSPT. D'autres études sur le sujet permettraient une meilleure compréhension de la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues.

Abstract

Posttraumatic stress disorder (PTSD) and drug addiction are two comorbid conditions bound in a complex bidirectional relationship. On one hand, the mechanisms by which PTSD promotes the occurrence of drug addiction are not fully understood. On the other hand, methodological and ethical limitations inherent to human studies do not allow a full understanding of the influence of drug addiction on the expression of PTSD symptoms. In an effort to contribute to the resolution of these two issues, the present thesis based on an animal model with DBA/2J mice, combined sequentially, in both directions, a drug-induced locomotor sensitization procedure and an animal model of PTSD based on an electric shock. Locomotor sensitization was achieved by repeated administrations of ethanol or cocaine at the same dose over several days. The PTSD-like symptoms were assessed several weeks after the electric shock with conditioned fear, sensitized fear and anxiety tests. Overall, the various experiments have shown, on one hand, that a PTSD-like experience in mice does not significantly increase the intensity of drug-induced locomotor sensitization. However, this PTSD-like experience indirectly strengthen drug sensitization through an interaction with some of its modulating factors. On the other hand, drug-induced locomotor sensitization does not directly affect the expression of PTSD in this animal model. However, drug sensitization can be considered as a form of stress sensitization. It induces on its own stress behaviors that add to the effects of the PTSD experience. Further studies on the subject would provide a better understanding of the co-morbidity between PTSD and drug addiction.

Dédicaces

À mes enfants Sacha, Noah-Maël et Gabriel Bryan,
À mon père, Alphonse Nzuzi Tsakala, et à ma mère Pauline Phemba Kiadi,
À mes sœurs Brigitte et Christelle, à mon frère Eric, à mes nièces et neveux,
Leur affection m’a donné la force nécessaire pour ne pas abandonner.

À la mémoire de ma grande mère Joséphine Matonda
À la mémoire de mon ami Rouge Muleba,
À la mémoire de mon grand-père Dr Gilbert Mbaku,
À la mémoire de maman Véronique Tshibola,
À la mémoire du Professeur Sébastien Kinsala,
J’aurai aimé qu’ils partagent avec moi ce moment mémorable.

À eux tous, je dédie le présent travail.

Remerciements

Qu'il me soit permis d'adresser mes remerciements aux Professeurs Étienne Quertemont et Vincent Seutin qui m'ont accordé l'immense privilège de réaliser ma formation doctorale dans leurs laboratoires. Sans leur disponibilité et leur encadrement, le présent travail n'aurait pas abouti. Novice dans ce domaine de sciences précliniques, leurs orientations m'ont permis d'avancer dans ma recherche. Merci aussi pour toute leur aide matérielle et l'écoute bienveillante dans les moments difficiles que j'ai eu à traverser tout au long de ma formation doctorale. Je leur en suis infiniment reconnaissant.

Mes remerciements s'adressent aussi au Professeur Ezio Tirelli qui a montré une grande amabilité en mon égard en mettant gracieusement à ma disposition son matériel de conditionnement à la peur. Je le remercie aussi pour sa disponibilité et ses pertinents conseils tout au long de ma formation doctorale.

Mes remerciements s'adressent également aux Professeurs Gabrielle Scantamburlo, Mickaël Naassila et Philippe Timary qui m'ont fait l'insigne honneur de participer à mon jury de thèse.

Je remercie tout aussi les Professeurs André Ferrara et Serge Brédart pour les enrichissantes discussions sur divers sujets de recherche et de l'enseignement universitaire.

Je voudrais remercier spécialement Vincent Didone pour la constante présence rassurante et l'encadrement assuré toutes ces années. Je lui suis très reconnaissant pour son aide dans la formulation des hypothèses de recherche et dans la conception et l'exécution des expériences. Merci pour son amitié et toute l'aide qu'il m'a apportée bien au-delà des aspects scientifiques.

J'exprime ma profonde gratitude aux Professeurs Paul Verbanck et Philippe Corten ainsi qu'à leurs collaborateurs qui m'ont intégré dans le projet « PFS - Certificat complémentaire interuniversitaire sur le trauma psychique à vocation régionale (RDC et pays voisins) et soutien à la relève académique à Kinshasa (Unikin et UPN) ». Sans leur accord, mon projet de thèse n'aurait pas vu le jour.

J'exprime mes vifs remerciements à l'ARES/CCD qui a assuré le financement de ma formation doctorale.

Mes remerciements s'adressent encore à tous mes collègues de la Faculté de Psychologie, Logopédie et Sciences de l'Éducation. Je pense particulièrement à Richard Louon, Jessica Simon, Louis-Ferdinand Lespine, Marcellin Mazziotta, Maryline Thannen et Benjamin Huyts avec qui nous avons passé beaucoup de moments agréables. Je remercie Fabian Roosen qui m'a permis d'avoir des animaux de qualité pour mener à bien toutes mes expériences. Mes remerciements s'adressent de même aux secrétaires de la Faculté de Psychologie, particulièrement à France Dartois et à Nathalie Deprez. Je ne manquerai pas de remercier Michel Jacques qui m'a permis de travailler dans un environnement impeccable.

J'adresse aussi mes remerciements à l'équipe du laboratoire de neurophysiologie du GIGA. Je citerai le Professeur Lucien Bettendorff, Madame Jacqueline Scuvée-Moreau, Charlotte Delaïresse, Christelle Gillissen, Cyrine Hmaïed, Dominique Engel, Florent Porquet, Geoffrey Destreel, Kevin Jehasse, Laurent Massotte, Margaux Sambon et Stanislav Koulchitsky. Merci pour toute l'aide apportée tout au long de ma formation. Je n'oublie certes pas les secrétaires du service de neurophysiologie du GIGA, Nicole Delvène et Aurélie Laurent qui m'ont énormément aidé dans mes nombreuses démarches administratives souvent fort complexes.

Mes remerciements s'adressent de la même manière aux différents stagiaires qui sont passés à la Faculté de Psychologie, Logopédie et Sciences de l'Éducation. Tout particulièrement à Oriane Artebel, Lucie Rosière et Théo van Ingelgom qui m'ont été d'une grande aide dans la réalisation de mes différentes expériences.

Mes remerciements de la même façon aux Professeurs Samuel Mampunza Ma Miezi, Gilbert Mananga Lelo, Dominique Charlier-Mikolajczak, pour le soutien moral et matériel particulièrement dans de nombreuses situations difficiles que j'ai eu à traverser. Merci d'avoir cru en moi.

Merci à tous les professeurs, confrères, collègues et amis du Centre de Neuro-psychopathologie du Mont-Amba de l'Université de Kinshasa. Je voudrais citer notamment les Professeurs Valentin Ngoma, Jean Kaswa, Magloire Mpembi, Degani Banzulu, Florence Mbiya Muadi, Théodore Kazadi, Tharcisse

Kayembe, Tharcisse Loseke, Luabeya Anderson, Bernard Bukasa, Daniel Okitundu, Désiré Tshala, Guy Bumoko et Célestin Kaputu, les Docteurs Félicien Itakala, Davin Mpaka, Germain Manzekele, Hergy Bazungula, Ken Mwamba, David Sala, Cauchy Mpia, Dadet Mbuangi et Marie Thérèse Sombo. Particulièrement, je voudrai présenter ma profonde reconnaissance à mon ami et frère Dr Damien Junior Mayemba pour tout ce qu'il a fait pour moi.

Que dire à mes nombreux amis Hicham Belmajoubhi, Professeur Jean Robert Makulo, Diane Mvumbi Muanza, Dr Tony Wawina Bokalanga, Susie et Thierry Bécheret, Patricia et Hervé Nsongila, Didier Moro, Dr Didier Biletsi, Nathalie Ifale, Maguy Somba, Dr François Okundji, Drs Michel et Mathilde Aloni, Claudine Matadi, Olivier Nonga, Paulin et Mamie Kanema, Denis Paul et Yollande Itiary, Angela Shutsha, Dr Fanny Malendakana, Mijou Nlemvo, Professeur Glennie Nsambie, Lillian Masongezi, Dr Marthe Lebughe, Dr Enara Papyney, Dr Michel Nsumbu, Dr Guy Bandu, Dr Joule Madinga, Dr Félix Gamba, Professeur Serge Mayaka, Dr Patrick Kaseko, Dr Ben Banzuzi, Dr Bienvenu Nzinga et Dr Serge Menayame ? Merci pour leur soutien indéfectible en toute circonstance. Ma dette envers vous est incommensurable.

Que mes beaux-frères Thomas Luzayikisa et Rossy Kivovidi trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude pour le soutien morale et matériel toutes ces années.

Je présente mes remerciements à Madame Tshibola Mukuna ainsi qu'à toute sa famille et à ses amies pour tous les bienfaits à mon égard.

À toute ma famille, à la famille Mbaku et à la famille Mabiala, je dis merci pour toute l'affection et le soutien sans faille. Les savoir à mes côtés était rassurant.

À tous les amis et à toutes les autres personnes que je n'ai pas cités qu'ils sachent que je n'ai pas oublié tout le bien qu'ils m'ont prodigué tout au long de ma formation doctorale.

Table des matières

Résumé.....	i
Abstract	iii
Dédicaces	v
Remerciements.....	vii
Table des matières	xi
Liste des abréviations.....	xvii
Avant-propos.....	xix
Chapitre 1	3
Trouble de l'usage d'une substance et trouble du stress posttraumatique	3
1.1. Définition de l'addiction à une drogue	3
1.2. Définition du TSPT	4
1.3. Aspects épidémiologiques	6
1.4. Théories de la comorbidité entre l'addiction et le TSPT	7
1.4.1. Théorie de l'automédication	8
1.4.2. Théorie du risque élevé	10
1.4.3. Théorie de la vulnérabilité partagée	11
1.5. Au-delà des mécanismes explicatifs classiques	15
1.5.1. Complexité de l'influence du TSPT sur l'addiction aux drogues	15
1.5.2. Complexité de l'influence de l'addiction aux drogues sur le TSPT	17
1.5.3. Controverses.....	19
1.6. Limites des études chez l'homme.....	20
1.7. Conclusion	22
Chapitre 2.....	25
Théories et modèles animaux de l'addiction.....	25
2.1. Théories de l'addiction aux drogues.....	25
2.1.1. Théories des renforcements positifs et négatifs	25
2.1.2. Limites des théories de renforcements positifs et négatifs	27
2. 1.3. La « incentive sensitization theory of addiction »	28
2.2. Neurobiologie de l'addiction aux drogues.....	31
2.2.1. Aire tegmentale ventrale	32
2.2.2. Noyau accumbens	34
2.2.3. Cortex préfrontal	35
2.2.4. Amygdale	36
2.2.5. Axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HHS).....	36
2.2.6. Autres systèmes.....	40
2.2.7. Aspects génétiques et épigénétiques	42

2.3. Modèles animaux de l'addiction aux drogues	42
2.3.1. Test de conditionnement de préférence de place.....	43
2.3.2. Technique d'auto-administration.....	44
2.3.3. Sensibilisation locomotrice aux effets stimulants des drogues	46
2.4. Limites des modèles animaux de l'addiction aux drogues	50
2.5. Conclusion	53
Chapitre 3	55
Théories et modèles animaux du trouble de stress posttraumatique	55
3.1. Théories du TSPT	55
3.1.1. Conditionnement à la peur	55
3.1.2. Conditionnement à la sécurité	57
3.2. Neurobiologie du TSPT	58
3.2.1. Stress aigu et TSPT	58
3.2.2. Axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HHS).....	59
3.2.3. Amygdale	61
3.2.4. Hippocampe	61
3.2.5. Cortex préfrontal	62
3.2.6. Système adrénergique	62
3.2.7. Autres systèmes	63
3.2.8. Facteurs de risques et facteurs génétiques	63
3.3. Problématique d'un modèle animal du TSPT : critères de validités	64
3.3.1. Validité étiologique	65
3.3.2. Validité apparente.....	65
3.3.3. Validité prédictive	66
3.3.4. Validité constructive.....	66
3.3.5. Validité discriminatoire	67
3.3.6. Autres critères d'évaluation des modèles animaux du TSPT	67
3.4. Modèles animaux du TSPT	68
3.4.1. Le « learned helplessness »	68
3.4.2. Choc électrique.....	69
3.4.3. Le « single prolonged stress ».....	71
3.4.4. Le « predator-based stress ».....	73
3.4.5. Défaite sociale	74
3.4.6. Stress variables imprévisibles ou stress variables chroniques	76
3.5. Limites des modèles animaux du TSPT	77
3.6. Conclusion	79
Chapitre 4.....	83
Modèles animaux de l'interaction entre l'addiction aux drogues et le trouble du stress posttraumatique.....	83
4.1. Introduction	83
4.2. Influence du TSPT sur l'addiction aux drogues	84
4.2.1. Stress aigu et addiction aux drogues	84
4.2.2. TSPT et addiction aux drogues	87
4.3. Influence de l'addiction aux drogues sur le TSPT.....	93
4.3.1. Introduction	93

4.3.2. Influence de l'addiction sur l'évènement traumatique.....	93
4.3.3. Influence de l'addiction sur les symptômes d'intrusion	94
4.3.4. Influence de l'addiction sur la peur sensibilisée	95
4.3.5. Influence de l'addiction sur les comportements d'évitement	95
4.4. Neurobiologie de la comorbidité entre l'addiction aux drogues et le TSPT	96
4.4.1. Corticolibérine et axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien	96
4.4.2. Voies dopaminergiques.....	97
4.4.3. Autres	97
4.5. Conclusion	98
Chapitre 5	103
Synthèse et objectifs de la recherche	103
Chapitre 6	109
Méthodologie générale.....	109
6.1. Animaux et conditions d'hébergement	109
6.2. Équipements	110
6.2.1. Chambre de conditionnement à la peur.....	110
6.2.2. Le labyrinthe en croix surélevé	111
6.2.3. La chambre claire et obscure.....	112
6.2.4. Le test en champ ouvert (« Open field »).....	113
6.3. Drogues.....	114
6.4. Calendrier des expérimentations	114
6.4.1. Procédure du TSPT	114
6.4.2. Procédure de la sensibilisation locomotrice.....	118
6.5. Considérations éthiques	121
6.6. Analyses statistiques de données	121
Chapitre 7	125
Investigating the reciprocal relationships between locomotor sensitization to ethanol and PTSD-like clusters in DBA/2J mice	125
Abstract.....	126
7.1. Introduction	127
7.2. Methods	129
7.2.1. Animals	129
7.2.2. Drugs	130
7.2.3. Apparatus.....	130
7.2.4. Procedures	131
7.2.5. Statistical analysis	134
7.3. Results	136
7.3.1. Experiment 1: PTSD-like condition followed by ethanol sensitization.....	136
7.3.2. Experiment 2: Ethanol sensitization followed by PTSD-like condition	138
7.4. Discussion.....	139
7.4.1. Effects of PTSDLC on ethanol sensitization.....	141
7.4.2. Effects of ethanol-induced locomotor sensitization on PTSD-like clusters.....	142
7.5. Conclusion	143
References	143

Chapitre 8.....	155
Investigating the bidirectional relationship between cocaine-induced locomotor sensitization and posttraumatic stress disorder-like in DBA/2J mice.....	155
Abstract.....	156
8.1. Introduction	157
8.2. Methods	160
8.2.1. Animals	160
8.2.2. Drugs	161
8.2.3. Apparatus.....	161
8.2.4. Procedures	162
8.2.5. Statistical analyses	165
8.3. Results	167
8.3.1. Experiment 1: PTSDLC before cocaine locomotor sensitization	167
8.3.2. Experiment 2. Locomotor sensitization before PTSDLC	169
8.4. Discussion.....	171
References	174
Chapitre 9.....	185
Does ethanol-induced locomotor sensitization modulate posttraumatic stress disorder like clusters induced by an electric footshock?	185
Abstract.....	186
9.1. Introduction	187
9.2. Methods	189
9.2.1. Animals	189
9.2.2. Drugs	189
9.2.3. Apparatus.....	190
9.2.4. Procedures	191
9.2.5. Statistical analysis	194
9.3. Results	196
9.3.1. Experiment 1	196
9.3.2. Experiment 2	200
9.4. Discussion.....	202
9.4.1. Time course of the effects of ethanol sensitization on PTSDLC	202
9.4.2. Ethanol sensitization interposed between the acquisition and expression of PTSDLC.....	204
9.5. Conclusion	206
References	206
Chapitre 10.....	223
Discussion générale.....	223
10.1. Introduction	223
10.2. Résumé succinct des résultats.....	224
10.2.1. Étude 1 : Investigating the reciprocal relationships between locomotor sensitization to ethanol and PTSD-like clusters in DBA/2J mice.....	224
10.2.2. Étude 2 : Investigating the bidirectional relationship between cocaine-induced locomotor sensitization and posttraumatic stress disorder-like in DBA/2J mice	225

10.2.3. Étude 3 : Does ethanol-induced locomotor sensitization modulate posttraumatic stress disorder like clusters induced by an electric footshock?	227
10.2.4. Synthèse des résultats.....	228
10.3. Lecture transversale des résultats et apports théoriques	229
10.3.1. Influence du modèle animal du TSPT sur la sensibilisation locomotrice aux drogues.....	229
10.3.2. Influence de la sensibilisation locomotrice aux drogues sur l'expression du modèle animal de TSPT.....	234
10.4. Limites, perspectives futures et aspects translationnels	240
Bibliographie.....	245

Liste des abréviations

ACTH	: Adreno-Cortico-Trophic Hormone.
AMPA	: α -Amino-3-Hydroxy-5-Methyl-4-Isoxazolepropionic Acid.
APA	: American Psychiatric Association.
ATV	: Aire Tegmentale Ventrale.
CRF	: Corticotrophin Releasing Factor.
D1	: Récepteurs Dopaminergiques 1.
D2	: Récepteurs Dopaminergiques 2.
DSM	: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders.
GABA	: Gamma-Aminobutyric Acid.
GR	: Glucocorticoid Receptor.
HHS	: Hypothalamo-Hyophyso-Surrénalien.
ISRS	: Inhibiteurs Sélectifs de la Recapture de la Sérotonine.
KO	: Knock-Out.
NMDA	: N-Methyl D-Aspartate.
PTSD	: Posttraumatic Stress Disorder.
PTSDLC	: Posttraumatic Stress Disorder-Like Condition.
SPS	: Single Prolonged Stress.
TSPT	: Trouble du Stress Posttraumatique.

Avant-propos

L'addiction aux drogues est un trouble psychiatrique chronique. Il est caractérisé par une consommation excessive d'une substance d'abus associée à une incapacité à contrôler cette consommation ainsi que des rechutes lors des tentatives d'arrêt de consommation de ladite substance (APA, 2013). Outre les répercussions sur le plan social et de la santé physique, l'addiction aux drogues est associée à de nombreux troubles psychiatriques (Uhl et al., 2019). En effet l'addiction aux drogues s'accompagne de nombreuses comorbidités parmi lesquelles figure le trouble du stress posttraumatique (TSPT).

Le TSPT est un trouble psychiatrique chronique qui survient chez un sujet ayant subi ou ayant été témoin d'un événement traumatique (APA, 2013). Il se manifeste par des symptômes de réminiscence de l'événement traumatique, d'hyperréactivité du système nerveux autonome, des comportements d'évitement des stimuli rappelant l'événement traumatique et d'un émoussement des affects (APA, 2013). À travers le monde, sa prévalence s'est considérablement accrue du fait de nombreux événements traumatisants tels que les catastrophes naturelles liées au changement climatique, les guerres, les attentats terroristes et les violences urbaines (Richter-Levin et al., 2019). Le TSPT est fréquemment associé à de nombreuses comorbidités parmi lesquelles l'addiction aux drogues (Enman et al., 2014).

L'addiction aux drogues et le TSPT sont donc deux préoccupants problèmes de santé publique (Richter-Levin et al., 2019 ; Ruglass et al., 2017 ; Goldstein et al., 2016 ; Enman et al., 2014 ; Afful et al., 2010). L'ampleur de chacune de ces deux problématiques est en continuelle augmentation depuis le siècle dernier (Grant et al., 2016 ; Lopez-Quintero et al., 2011 ; Seal et al., 2011). Ainsi par exemple, la prévalence de l'addiction aux drogues a doublé aux États-Unis entre 2001 et 2013 (Grant et al., 2016). L'addiction aux drogues et le TSPT mobilisent des efforts colossaux, notamment financiers, de la part des États pour les endiguer (Roberto et al., 2017 ; Enman et al., 2014 ; Schöner et al., 2013). Comme si cela ne suffisait pas, ces deux problématiques surviennent souvent simultanément, au-delà d'une simple probabilité liée au hasard. L'addiction aux drogues et le TSPT sont donc deux affections comorbides (Grant et al., 2016 ; Anderson et al., 2014 ; Back et al., 2014 ; Kline et al., 2014 ; SAMHSA, 2010). Cette relation est souvent décrite comme complexe (Ruglass et

al., 2017 ; Langdon et al., 2016 ; Enman et al., 2014 ; Kline et al., 2014). Elle va au-delà d'une simple cooccurrence de chacune des conditions de la comorbidité. En effet, outre les nombreuses et lourdes conséquences que charrient chacune des deux problématiques, elles ont un effet multiplicateur l'une sur l'autre. La cooccurrence de ces deux affections péjore ces deux comorbidités notamment en majorant le coût de la prise en charge et en réduisant l'efficacité du traitement (Richter-Levin et al., 2019 ; Logrip et al., 2012 ; Najavits et al., 1998). Malheureusement à ce jour, la nature de la relation unissant l'addiction aux drogues et le TSPT reste mal connue (Langdon et al., 2016 ; Kline et al., 2014 ; Logrip et al., 2012). Une meilleure compréhension de cette relation contribuerait à améliorer la prise en charge des personnes qui souffrent de la comorbidité entre ces deux conditions.

Le présent travail se focalisera sur les relations qui existent entre l'addiction aux drogues et le TSPT. La présente thèse sera subdivisée en deux grandes parties. Une première partie théorique comprendra quatre chapitres. Le premier chapitre fera une synthèse des grandes lignes de ce qui est connu sur la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues chez l'homme. Les deux chapitres suivants se focaliseront sur les modèles animaux de ces deux conditions. Ainsi le deuxième chapitre sera consacré à un bref aperçu des modèles animaux de l'addiction aux drogues et le troisième sera consacré à un bref aperçu des modèles animaux du TSPT. Le quatrième chapitre s'intéressera aux études animales sur l'influence bidirectionnelle entre l'addiction aux drogues et le TSPT.

La deuxième partie expérimentale comprendra six chapitres. Le cinquième chapitre portera sur la synthèse et les objectifs de la présente thèse. Le sixième chapitre expliquera succinctement la méthodologie générale utilisée. Les chapitres sept à neuf présenteront les résultats des expériences réalisées. Enfin le dixième chapitre comprendra la conclusion générale de la thèse ainsi que des perspectives d'avenir.

Partie théorique

Chapitre 1

Trouble de l'usage d'une substance et trouble du stress posttraumatique

L'addiction aux drogues et le TSPT sont deux affections psychiatriques étroitement associées. Cette comorbidité est soutenue par une abondante littérature. Ce chapitre propose une revue de la littérature de cette comorbidité chez l'homme ainsi que des préoccupations qu'elle suscite.

1.1. Définition de l'addiction à une drogue

L'addiction à une drogue est une condition chronique caractérisée par une consommation excessive et incontrôlée d'une substance d'abus responsable d'une altération du fonctionnement social, des comportements à risques et des perturbations neurobiologiques liées à la nature pharmacologique de cette substance (García Pardo et al., 2017 ; Roberto et al., 2017 ; APA, 2013 ; Maldonado, 2010). Le diagnostic opérationnel nécessite la présence d'au moins 2 critères diagnostiques présentés dans l'encadré 1. L'addiction à une drogue entraîne de lourdes répercussions socioéconomiques, professionnelles et sanitaires (APA, 2013 ; Scuvée-Moreau, 2013). Outre les caractéristiques décrites ci-dessus, le manuel diagnostique et statistiques des troubles mentaux 5 (DSM 5) souligne le rôle majeur que prend la drogue dans la vie des sujets qui souffrent d'addiction. L'association américaine de psychiatrie (APA) a rassemblé dans le même trouble les principaux concepts clés de l'addiction aux drogues. En effet le trouble de l'usage d'une substance repris dans le DSM 5 inclut les phénomènes de tolérance, de dépendance, de craving, de sevrage et de rechute. Dans ce travail le terme de l'addiction aux drogues ou aux substances d'abus sera utilisé au sens du trouble de l'usage d'une substance proposé par l'association américaine de psychiatrie dans le DSM 5 (APA, 2013). Les termes toxicomanie et dépendance, jadis concurrents au concept de l'addiction, seront très peu utilisés afin de ne pas créer de confusion. De même, les classifications des drogues en dur versus soft, légal versus illégal, fort utile pour caractériser un phénomène aussi complexe que l'addiction aux drogues ne seront

pas utilisées. D'ailleurs la neurobiologie et les conséquences de l'addiction aux drogues ne s'embarrassent pas de ces termes.

Encadré 1. Définition du trouble de l'usage d'une substance

1. La substance est habituellement consommée en plus grande quantité ou plus longtemps que voulue.
 2. Des échecs aux tentatives de contrôle ou de réduction de la consommation de la substance.
 3. Une grande partie du temps est consacrée à se procurer la substance.
 4. Un craving caractérisé par une envie irrésistible à consommer la substance.
 5. Une incapacité à remplir ses obligations socioprofessionnelles.
 6. Une persistance de la consommation de la substance malgré les complications qu'elle occasionne.
 7. Un détachement de la vie socio-professionnelle et des activités récréatives au détriment de la consommation de la substance.
 8. Des consommations répétées de la substance dans des environnements dangereux pour l'intégrité physique.
 9. Une persistance de la consommation de la substance en dépit des conséquences sanitaires qu'elle induit.
 10. Un phénomène de tolérance de la substance.
 11. Un syndrome de sevrage lié à l'arrêt de consommation de la substance.
-

1.2. Définition du TSPT

Le TSPT est un trouble psychiatrique chronique qui survient dans les suites d'une exposition à un événement traumatique (Gilpin et Wainer, 2017 ; Reznikov et al., 2015 ; APA, 2013). Il a été décrit pour la première fois en 1980 par l'APA dans le DSM III (Richter-Levin et al., 2019 ; Gilpin and Wainer, 2017 ; APA, 1980). Cette affection a particulièrement été médiatisée suite aux problèmes de santé mentale que présentaient les vétérans de la guerre du Vietnam (Richter-Levin et al., 2019). Pourtant il est connu depuis l'aube des temps que les violences vécues dans les champs de batailles s'accompagnaient des perturbations psychologiques (Richter-Levin et al., 2019 ; Gilpin and Wainer, 2017 ; Crocq et Crocq, 2000). Depuis sa première description dans le DSM III, la définition du TSPT a subi deux modifications, en 1987 avec le DSM IV et en 2013 avec le DSM 5 (encadré 2). Bien avant la dénomination de l'affection par l'APA, existaient des entités correspondant peu ou prou au TSPT. En effet, au XIX^{ème} Siècle, il avait déjà été observé une détresse psychologique chez les combattants de la guerre de sécession aux États-Unis d'Amérique, entre 1861 et 1865. En 1884, Oppenheim

introduisit le concept de névrose traumatique. Ce concept de névrose traumatique a été adopté par Sigmund Freud et d'autres psychanalystes dans les années 1930. Le TSPT tire donc ses origines de nombreuses observations remontant à un siècle avant sa définition par l'APA. Ces différents travaux avaient en commun la description des troubles psychologiques survenant au décours d'un événement traumatique.

Le diagnostic opérationnel du TSPT est défini par l'APA, dans le DSM, et l'organisation mondiale de la santé, dans la classification internationale des maladies. Le TSPT est un syndrome qui reprend plusieurs symptômes regroupés dans des critères diagnostiques. Le DSM 5 requiert une évaluation de six critères pour pouvoir porter le diagnostic du TSPT. Ce trouble est caractérisé par la persistance, l'apparition ou l'aggravation, au moins un mois après la survenue d'un événement traumatique, des symptômes de réminiscence du traumatisme, des comportements d'évitements, d'émoussement des affects et d'hyperréactivité du système nerveux autonome. Chez certains patients, les symptômes peuvent être au complet plus de six mois après l'exposition à l'événement traumatique. Le TSPT se distingue des troubles anxieux par l'existence d'une étiologie identifiable survenue à un moment précis. Par son caractère chronique il se distingue aussi du trouble du stress aigu.

Encadré 2. Diagnostic du TSPT

1. Une exposition à un événement traumatique majeur : décès, menace de mort, blessures graves, etc.
 2. Des symptômes de reviviscence du traumatisme : flashback, cauchemars, souvenirs répétitifs, etc.
 3. Un évitement actif des stimuli rappelant l'événement traumatique : lieux, pensées, souvenirs, etc.
 4. Des perturbations cognitives et de l'humeur : amnésie dissociative, sentiments négatifs (honte, colère).
 5. Des perturbations de la vigilance et de la réactivité : hypervigilance, sursauts fréquents, etc.
 6. Les symptômes durent au moins 1 mois après la survenue de l'événement traumatique.
 7. Le trouble est responsable d'une détresse psychologique et d'un dysfonctionnement social.
 8. Le trouble n'est pas la conséquence d'une autre trouble mental ou d'une maladie organique.
-

1.3. Aspects épidémiologiques

Les études épidémiologiques sur l'addiction aux drogues et sur le TSPT montrent des prévalences élevées pour ces deux affections. Individuellement, dans l'année qui a précédé certaines études, l'addiction aux drogues a été retrouvée chez 3,9% à 11,8% de sujets (Marel et al., 2019 ; Hasin et al., 2016 ; Grant et al., 2016) et le TSPT chez 1,1% à 4,7% des personnes dans des populations de sujets adultes (Gradus, 2017 ; Goldstein et al., 2016 ; Darves-Bornoz et al., 2008 ; Kidorf et al., 2004). Les prévalences au cours de l'existence de l'addiction aux drogues et du TSPT sont estimées, respectivement, entre 9,9% et 35,3% (Hasin et Grant., 2015 ; Grant et al., 2016 ; Kessler et al, 2005 ; McCauley, 2012) et de 5,9% à 9,9% (Goldstein et al., 2016 ; Kilpatrick et al., 2013 ; Pietrzak et al, 2011 ; Kessler et al., 2005 ; Kidorf et al., 2004). Ces chiffres cachent de nombreuses disparités pour ces deux conditions, notamment entre les différents pays et régions du monde.

Particulièrement pour l'addiction aux drogues, les prévalences sont très variables d'une drogue à une autre. Par exemple, la prévalence de l'addiction à l'alcool est de 8,5% à 10% (Roberto et al., 2017 ; Hasin et Grant, 2015). Dans une étude n'incluant pas l'alcool ni la nicotine, Grant et collaborateurs (Grant et al., 2016) observèrent, dans les 12 mois précédant leur étude, des prévalences de 2,5% pour le cannabis, de 0,4% pour la cocaïne et de 0,1% pour l'héroïne. La prévalence au cours de la vie de ces substances était de 6,3% pour le cannabis, de 2,4% pour l'héroïne et de 0,5% pour l'héroïne. Selon Hasin et Grant (2015), la prévalence de l'addiction à l'alcool au cours de l'existence serait beaucoup plus élevée pouvant atteindre jusqu'à 30,3%.

Concernant le TSPT, les prévalences sont très variables d'un pays et d'un contexte à un autre. Par exemple, dans les pays occidentaux et selon les études, elles vont de 0,4% en Espagne, 0,6% en Belgique, 2,9% en Allemagne, 5,6% en Suède et 9,2% au Canada (Karam et al., 2014 ; Bunting et al., 2012 ; Hauffa et al., 2011 ; de Vries, 2009 ; van Ameringen et al., 2008 ; Frans et al., 2005 ; Rosenman, 2002 ; Creamer et al., 2001). Des prévalences beaucoup plus élevées sont observées dans des zones de conflits armés. Dans la population civile de l'Est de la République Démocratique du Congo, en proie à de nombreux conflits depuis plus de 25 ans, la prévalence du TSPT est de 50,1% (Johnson et al., 2010).

L'analyse des prévalences de la cooccurrence entre l'addiction aux drogues et le TSPT montre les particularités de leur étroite relation. Jusqu'à environ la moitié des personnes souffrant de TSPT présente une addiction aux drogues. En effet, il a été observé chez les personnes souffrant de TSPT des prévalences entre 22% et 52% d'addiction aux drogues (Ruglass et al., 2017 ; Pietrzak et al, 2011 ; Mills et al, 2006). Globalement, les troubles de consommation de drogues sont deux à cinq fois plus fréquents chez les personnes qui souffrent de TSPT comparées aux personnes qui ne souffrent pas de TSPT (Marel et al., 2019 ; Ruglass et al., 2017 ; Logrip et al., 2012 ; Seal et al., 2011 ; SAMHSA, 2007). Et inversement, jusqu'à un peu moins de la moitié de personnes souffrant de troubles de consommation de drogues présentent un TSPT. En effet, il a été observé des prévalences entre 15% et 42% de TSPT chez des personnes souffrant d'addiction aux drogues (Ruglass et al., 2017 ; Logrip et al., 2012 ; Pietrzak et al, 2011 ; Back et al., 2000 ; Najavits et al., 1998). Dans certaines conditions particulières, comme dans les zones de conflits armés, des prévalences plus élevées de TSPT peuvent être observées chez les personnes souffrant d'addiction aux drogues. Ainsi par exemple, une prévalence de 76% de TSPT a été observée chez des vétérans américains des guerres de l'Iraq et de l'Afghanistan qui présentaient une addiction aux drogues (Seal et al., 2011).

Ainsi, les données des études épidémiologiques et hospitalières indiquent clairement que le TSPT et l'addiction aux drogues sont deux conditions fréquemment associées. La section suivante décrira les théories qui tentent d'expliquer la fréquente cooccurrence entre ces deux conditions.

1.4. Théories de la comorbidité entre l'addiction et le TSPT

La relation entre l'addiction aux drogues et le TSPT est souvent décrite comme complexe (Ruglass et al., 2017 ; Langdon et al., 2016 ; Enman et al., 2014 ; Kline et al., 2014). Différentes théories ont été avancées pour expliquer cette comorbidité. Elles sont comprises dans trois registres différents. L'une peut être la conséquence de l'autre, les deux se potentialisent mutuellement ou l'un partagent des mécanismes communs (Ruglass et al., 2017 ; Wiechelt et al, 2011). Ces différents mécanismes sont présentés brièvement dans les paragraphes suivants.

1.4.1. Théorie de l'automédication

Depuis le 20^{ème} siècle, de nombreux chercheurs se penchent sur la comorbidité entre l'addiction aux drogues et le TSPT. Les premières observations de cette comorbidité ont fait le constat d'une grande fréquence de l'addiction aux drogues chez les sujets traumatisés, particulièrement les vétérans de guerre (Kline et al., 2014 ; Seal et al., 2011). Ces premières études se sont surtout focalisées sur l'influence du TSPT sur la survenue ultérieure de l'addiction. Dans la première théorie de l'automédication, qui prévaut sur les autres théories de la comorbidité, il a été stipulé que le TSPT favorise directement la consommation de drogues dans un objectif de coping d'évitement (Tull et al., 2010 ; Figure 1.1). Mais aussi indirectement, les troubles des affects associés au TSPT induisent des comportements à risque, notamment la consommation de drogues, afin de réduire les perturbations émotionnelles. Effectivement, il a été démontré que les personnes qui consomment les drogues dans le but d'améliorer leur perturbation émotionnelle se sentent bien mieux après cette consommation (Hasin et Grant, 2015). Dans ces deux situations, par effet direct ou indirect, la consommation de drogues est sous tendue par la volonté de consommer (Langdon et al., 2016 ; Hasin et Grant, 2015). Les tenants de cette théorie considèrent donc que la consommation des drogues est un style de coping utilisé par les sujets souffrant de TSPT qui cherchent à en réduire les symptômes. C'est la raison pour laquelle cette théorie est qualifiée de « self-medication theory » (Ruglass et al, 2017 ; Kline et al., 2014 ; Wiechelt et al, 2011 ; Tull et al., 2010). Pour les tenants de la théorie de l'automédication, l'addiction à une drogue est une réponse consciente à la présence d'une souffrance occasionnée par le TSPT (Ruglass et al., 2017 ; Langdon et al., 2016). Les sujets présentant un TSPT choisiraient de traiter leurs symptômes par la consommation d'une drogue. Et des études attestent que de nombreux patients souffrant de TSPT assurent consommer une substance d'abus pour atténuer ou guérir leur symptômes (Langdon et al., 2016 ; Hasin et Grant, 2015 ; Tull et al., 2010).

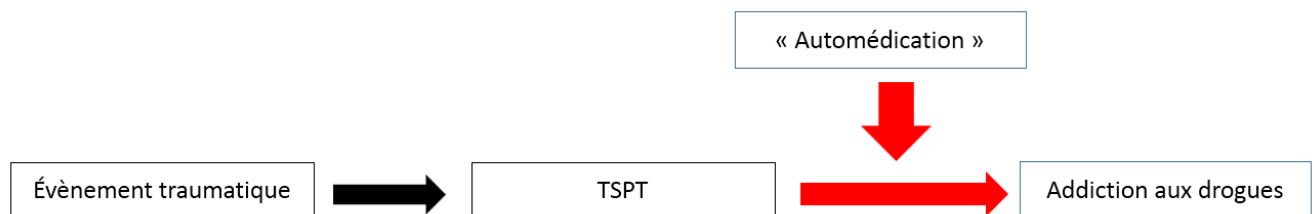


Figure 1.1. Théorie de l'automédication.

La théorie de l'automédication est soutenue par les nombreuses études qui, majoritairement, observent la survenue du TSPT avant celle d'un trouble de la consommation de drogues (Marel et al., 2019 ;

Ruglass et al, 2017 ; Langdon et al., 2016 ; Kline et al., 2014 ; Tull et al., 2010). La théorie de l'automédication a donc comme prémisse que le TSPT survient avant le début de l'addiction à une drogue (Langdon et al., 2016). Cette primauté du TSPT se base sur certains faits. En général, les conditions stressantes s'accompagnent d'une augmentation de consommation de substances d'abus. Il s'observe, par exemple, que la consommation et la prescription de substance d'abus chez les élèves s'accroît durant les périodes de grand stress telles que le examens (Taylor et al., 2016). La primauté du TSPT se base aussi sur les propos de nombreux sujets souffrant d'addiction qui soutiennent que le TSPT a précédé leur addiction aux substances d'abus (Tull et al., 2010). Les données de la littérature montrent que le TSPT précède la survenue de l'addiction chez deux tiers des personnes qui souffrent de la comorbidité (Lisieski et Perrine, 2017 ; Eagle et al., 2015).

Néanmoins la théorie de l'automédication ne peut à elle seule expliquer la comorbidité entre l'addiction aux drogues et le TSPT. En effet, plusieurs auteurs ont observé une fréquente préexistence de l'addiction sur le TSPT (Lisieski et Perrine, 2017 ; Eagle et al., 2015). De plus, si l'occurrence du TSPT peut être assez précisément déterminée, il est difficile voire impossible de préciser à quel moment une addiction a débuté. L'addiction à une drogue est un processus plus ou moins long et complexe, selon le type de drogue, qui se déroule entre sa première consommation et l'expression d'un comportement d'addiction (Newton-Howes et al., 2019). Le plus souvent chez des sujets jeunes, la première consommation d'alcool survient entre 10-16 ans (Newton-Howes et al., 2019), celle de nicotine entre 11-17 ans et celle du cannabis entre 14-19 ans (Maral et al., 2019 ; Secades-Villa et al., 2015). L'addiction à ces substances se manifeste plus tard, souvent entre 14-20 ans pour l'alcool (Marel et al., 2019), entre 15-19 ans pour la nicotine et entre 15-20 ans pour le cannabis. Et la durée de cette transition varie aussi selon le type de drogue consommée (Florez-Salamanca et al., 2013). Elle est de moins d'un mois pour l'héroïne, de moins d'un mois à 4 ans pour la cocaïne, de 1 à 6 ans pour le cannabis, de 1 à 27 ans pour la nicotine et 3 à 15 ans pour l'alcool (Marel et al., 2019 ; Lopez-Quintero et al., 2011). Ainsi donc la transition depuis une consommation récréative vers une addiction à une drogue peut être longue (Florez-Salamanca et al., 2013). De plus, le pouvoir addictogène varie d'une drogue à une autre. En effet, le risque d'addiction est fort variable selon les drogues. Des études ont rapporté que la probabilité cumulée de présenter à un moment de la vie une addiction était de 8,5-67,5%, 4,2%-37,5%, 16,7-24,2%, 21,1-23,1% et 3,9-34,1% pour les consommateurs, respectivement, de la nicotine, de l'alcool, de la cocaïne, de l'héroïne et du cannabis (Marel et al., 2019 ; Lopez-Quintero et al., 2011). Outre les caractéristiques chimiques des drogues, d'autres facteurs influencent

peu ou prou la transition d'une consommation récréative vers une addiction. Il s'agit, entre autres, des facteurs socioéconomiques, culturels et psychopathologiques parmi lesquels le stress (Marel et al., 2019 ; Lopez-Quintero et al., 2011). Ainsi déterminer précisément à quel moment une personne a développé un état d'addiction n'est pas aisé. Il est donc souvent difficile de conclure à la primauté de l'addiction à une drogue sur le TSPT (Langdon et al., 2016 ; Afful et al., 2010). Finalement, d'autres études montrent que l'addiction à plusieurs substances survient plus précocement que le TSPT. Se basant sur le DSM IV, Kessler et collaborateurs (2005) observent que le TSPT débute à 23 ans alors que l'abus à l'alcool, la dépendance à l'alcool, l'abus aux drogues et la dépendance aux drogues surviennent, respectivement, à 21 ans, 23 ans, 19 ans et 21 ans.

Outre la difficulté de préciser la primauté du TSPT, la théorie de l'automédication souffre d'autres faiblesses. Les données de la littérature indiquent que la souffrance occasionnée par le TSPT, comme celle induite par les autres types de stress, conduit à une consommation de drogues. Néanmoins, l'addiction est un phénomène complexe qui va bien au-delà d'une simple consommation de substances d'abus. Ainsi la théorie de l'automédication expliquerait le pourquoi de la consommation de drogues mais pas du tout le comment de l'installation de l'addiction aux drogues chez des personnes souffrant de TSPT. Elle ne permet donc pas de comprendre précisément les mécanismes par lesquels le TSPT influencerait la transition de la consommation de drogues à visée « curative » vers leur addiction.

1.4.2. Théorie du risque élevé

À l'inverse des tenants de la théorie de l'automédication, d'autres auteurs soutiennent que la consommation de drogues agit, par un mécanisme indirect, sur le risque de survenue du TSPT. Cela passe par le recours à des comportements à risque de la part des personnes consommant des drogues pour acquérir leur précieux sésame (Ruglass et al., 2017 ; McCauley et al., 2012 ; Figure 1.2). Certaines drogues, notamment la cocaïne et la méthamphétamine, sont associées à des comportements impulsifs et violents (Afful et al., 2010). De plus, les personnes souffrant d'addiction aux drogues vivent ou passent beaucoup de temps dans des contextes ou des lieux où se déroulent des violences dont ils peuvent, au minimum, être témoins (Afful et al., 2010). Ces comportements aboutissent finalement à des situations de traumatismes physiques ou psychiques responsables de la survenue d'un TSPT (Afful et al., 2010). Cette théorie est appelée la « high risk theory » (Kline et al., 2014 ; Wiechelt et al., 2011 ; Afful et al., 2010). De plus, la consommation de drogues est fréquemment associée à

différentes maladies et/ou à la survenue des états de « manque » qui peuvent constituer des véritables événements traumatiques responsables de la survenue d'un TSPT.

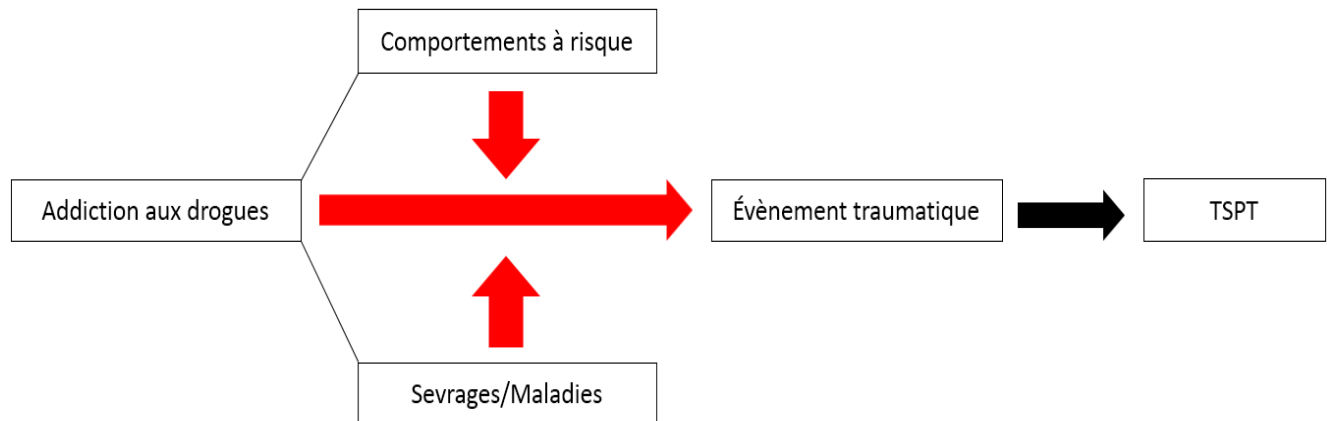


Figure 1.2. Théorie du risque élevé.

Cette théorie a donc comme corollaire la primauté de la survenue de l'addiction sur le TSPT. Cette théorie est moins soutenue que la précédente du fait d'une réalité clinique qui semble montrer que le plus souvent le TSPT précède la consommation de drogues. Seuls 33% des personnes souffrant de la comorbidité présentent d'abord une addiction aux substances d'abus avant de présenter un TSPT (Lisieski et al., 2017 ; Eagle et al., 2015). Et son rôle sur l'addiction par un mécanisme indirect la rend moins attrayante dans la recherche de facteurs étiologiques. Néanmoins elle offre une explication alternative à la théorie de l'automédication. L'automédication n'est donc pas la seule explication possible de la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues.

1.4.3. Théorie de la vulnérabilité partagée

Dans les deux premières théories sur la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues, chacune des deux conditions est le facteur qui engendre l'autre. À ces deux théories peut s'ajouter un troisième mécanisme pour expliquer la cooccurrence de ces deux conditions. Le TSPT et l'addiction aux drogues partageraient des mécanismes, biologiques et/ou génétiques, communs (Ruglass et al., 2017 ; Enman et al., 2014 ; Kline et al., 2014 ; Toledano et al., 2013). Chacune des deux conditions rendrait les personnes qui en souffrent vulnérables à l'acquisition de l'autre condition (Back et al., 2000). C'est la théorie du « shared vulnerability model » ou le « mutual maintenance model » (Ruglass et al., 2017 ; Langdon et al., 2016). Contrairement aux précédentes théories, la théorie de la susceptibilité partagée

soutient une relation bidirectionnelle entre le TSPT et l'addiction aux drogues (Back et al., 2000 ; Figure 1.3). Comme dit plus haut, des études ont démontré que les personnes qui souffrent du TSPT présentent plus souvent une addiction à une drogue que la population générale. Le TSPT est donc un facteur de risque de survenue d'une addiction aux substances d'abus. De même, comparées à la population générale, les personnes qui souffrent d'addiction aux drogues présentent plus souvent un TSPT que la population générale. Souffrir d'une addiction augmente donc le risque de développer ultérieurement un TSPT. Ainsi, il apparaît que chacune de ces deux conditions accroît la probabilité de survenue de l'autre condition (Back et al., 2000). Les sujets souffrant d'une de ces deux conditions deviennent donc plus vulnérables à l'acquisition de l'autre condition (Anderson et al., 2018 ; Enman et al., 2014 ; Back et al., 2000).

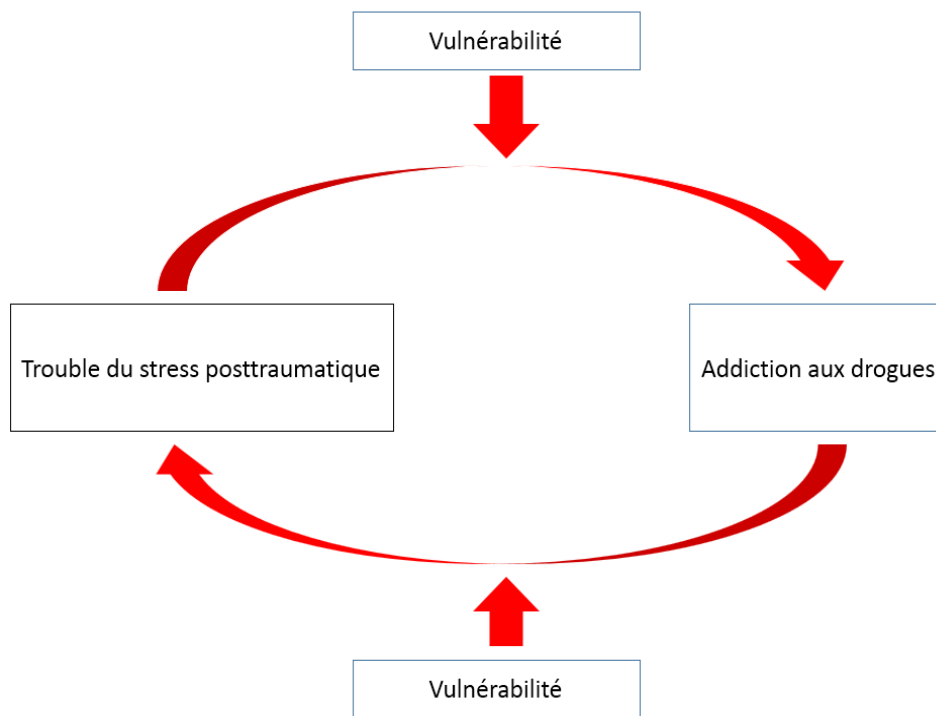


Fig. 1.3. Théorie de la vulnérabilité partagée.

Cette vulnérabilité ne se limite pas à l'acquisition de l'autre condition. En effet, le TSPT et l'addiction aux drogues s'aggravent mutuellement (Langdon et al., 2016 ; Wielchelt et al., 2011). L'addiction à une drogue est non seulement plus fréquente chez les personnes qui présentent un TSPT mais elle est souvent aussi plus grave chez ces sujets comparativement aux personnes qui ne souffrent pas de TSPT (Langdon et al., 2016 ; Najavits et al., 1998). Parmi les sujets qui souffrent d'addiction aux drogues, ceux qui présentent un TSPT souffrent plus souvent d'autres problèmes mentaux et nécessitent plus souvent des prises en charge psychologiques que les sujets qui ne souffrent pas de TSPT (Langdon et

al., 2016 ; Najavits et al., 1998). L'aggravation du TSPT s'accompagne de l'aggravation de l'addiction aux drogues et inversement l'amélioration du TSPT conduit à une amélioration de l'addiction aux drogues (Back et al., 2014 ; Logrip et al., 2012 ; Tull et al., 2010). Dans le sens opposé, l'addiction aux drogues aggrave aussi les symptômes du TSPT (Langdon et al., 2016 ; Sullivan et Holt, 2008). Les personnes qui souffrent de comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues présentent plus de symptômes de TSPT que celles qui ne souffrent que du TSPT (Sullivan et Holt, 2008 ; Saladin et al., 1995). Tout se passe comme si une fois que la comorbidité TSPT – addiction aux drogues est acquise les deux affections mettent en place une relation circulaire responsable d'un renforcement mutuel (Langdon et al., 2016 ; Enman et al., 2014). L'addiction aux substances d'abus aggrave ainsi le TSPT. Et l'accroissement de la sévérité du TSPT accroît à son tour celle de l'addiction aux drogues. Au final, les sujets souffrant de la comorbidité TSPT – addiction aux drogues ont un pronostic plus grave que ceux qui ne souffrent que d'une seule des deux affections (Kline et al., 2014). La prise en charge des personnes souffrant de la comorbidité TSPT – addiction aux drogues est plus difficile que celle des sujets souffrant uniquement d'une des deux conditions (Anderson et al., 2018 ; Wielchelt et al., 2011). Cette prise en charge donne les meilleurs résultats lorsque les deux troubles sont traités simultanément (Back et al., 2014).

En plus de s'aggraver mutuellement, le TSPT et l'addiction aux drogues présentent des similitudes (Enman et al., 2014). Leur apparition peut se comparer au sommet d'un iceberg. Pour ces deux troubles, seule une minorité de personnes exposées en souffriront (Marel et al., 2019 ; Edwards et al., 2013). Il est connu que de nombreux facteurs de risque favorisent la transition de la première consommation à l'addiction à une drogue. Ainsi le jeune âge à la première consommation ou à la première intoxication, le sexe (masculin), un faible niveau d'instruction, un faible niveau socioéconomique, l'existence de troubles anxieux et de l'humeur, favorisent la transition vers l'addiction à une drogue (Marel et al., 2019 ; Newton-Howes et al., 2019 ; Uhl et al., 2019 ; Grant et al., 2016 ; Hasin et Grant, 2015 ; Secades-Villa et al., 2015 ; Kline et al., 2014 ; Lopez-Quintero et al., 2011 ; Afful et al., 2010). La même observation peut être faite pour le TSPT. Seul un petit nombre de sujets exposés à un traumatisme présentera un TSPT. Dans la population américaine, la survenue du TSPT au cours de la vie est estimée à 6,1% alors que 68,6% de personnes ont été exposées, directement ou indirectement, à un événement traumatisant (Goldstein et al., 2016). Ainsi le jeune âge lors de l'exposition à un événement traumatique, le sexe (féminin), un faible niveau d'instruction, un bas niveau socioéconomique, l'existence de troubles anxieux, sont autant de facteurs qui vulnérabilisent

les sujets à présenter un TSPT (Goldstein et al., 2016 ; Enman et al., 2014 ; Kline et al., 2014 ; Afful et al., 2010). Donc, l'addiction aux drogues et le TSPT partagent en commun de nombreux facteurs de risques. Et ce ne sont pas les seuls éléments qu'ils partagent en commun.

En effet des études montrent des similitudes de dysfonctionnement psychopathologique entre le TSPT et l'addiction aux drogues (Ruglass et al., 2017). Aussi bien le TSPT que l'addiction aux drogues présentent une grande comorbidité avec les troubles de l'humeur, particulièrement la dépression majeure (Marel et al., 2019 ; Quadir et al., 2017 ; Hasin et Grant, 2015). Les personnes qui souffrent du TSPT, comme celles qui souffrent d'addiction aux drogues, présentent des comportements impulsifs, un dysfonctionnement du système de récompense et une forte sensibilité au stress (Garcia-Pardo et al., 2017 ; Enman et al., 2014). Comparées aux personnes qui n'en souffrent pas, les personnes qui souffrent du TSPT et/ou d'une addiction à une drogue présentent des taux plus élevés de trouble de personnalité (Marel et al., 2019 ; Hasin et Grant, 2015). Ces deux affections sont comorbides avec les troubles de la personnalité antisociale, borderline et schizotypique (Goldstein et al., 2016). Le TSPT et l'addiction aux drogues ont aussi des répercussions neurocognitives (Uhl et al., 2019 ; Koob et Volkow, 2016 ; Bates et al., 2013). En effet les troubles de l'attention et de la mémoire sont plus fréquents chez les sujets qui présentent la comorbidité comparés à ceux qui ne présentent qu'une seule des deux affections (Uhl et al., 2019 ; Langdon et al., 2016). Ce qui laisse penser que ces deux pathologies produisent des dysfonctionnements similaires ou qui se chevauchent (Ruglass et al., 2017 ; Enman et al., 2014). Et les similitudes ne s'arrêtent pas là.

Les similitudes entre le TSPT et l'addiction aux drogues s'observent aussi sur le plan neurobiologique. De nombreuses études rapportent des altérations de certaines structures cérébrales ainsi que des dysfonctionnements de certains neurotransmetteurs (Enman et al., 2014). L'addiction aux drogues et le TSPT sont associés au dysfonctionnement de l'amygdale, de l'hippocampe, de l'aire tegmentale ventrale (ATV) et du cortex préfrontal (Roberto et al., 2017). À côté de l'implication de ces structures, le dysfonctionnement de nombreux neuromédiateurs et hormones a été incriminé (Enman et al., 2014). Il s'agit principalement des systèmes sérotoninergique, adrénergique, dopaminergique, GABAergiques et de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HHS ; Enman et al., 2014 ; Bernardi et Lattal, 2010). L'axe HHS est le système endocrinien le plus souvent étudié dans la comorbidité entre l'addiction aux drogues et le TSPT (Enman et al., 2014). La corticolibérine, ou facteur de

libération de la corticotrophine (CRF), et le cortisol sont fortement impliqués dans la survenue de l'addiction et du TSPT. Ces mécanismes neurobiologiques seront discutés dans les chapitres suivants.

1.5. Au-delà des mécanismes explicatifs classiques

Les éléments d'explication apportées par les trois théories classiques de la comorbidité TSPT – addiction aux drogues laissent de nombreuses zones d'ombres et suscitent de questionnements (Langdon et al., 2016). Les sections suivantes seront consacrées à ces problématiques. Ce sera aussi l'occasion de présenter une autre lecture de la comorbidité entre l'addiction aux drogues et le TSPT.

Les trois théories classiques expliquant les relations entre l'addiction aux drogues et le TSPT sont relativement simplistes. Elles s'avèrent intéressantes sur le plan épidémiologique où la causalité étiologique est un paramètre important. Néanmoins ces théories ne sont pas satisfaisantes pour les cliniciens confrontés à cette comorbidité. En effet, la pratique clinique est confrontée à plusieurs problèmes (Saladin et al., 1995). D'une part, les deux conditions présentent des symptômes communs. Et d'autre part, la symptomatologie de chacune de ces deux conditions varie avec les caractéristiques de l'autre. Leur relation est donc beaucoup plus complexe que ne laisse entrevoir une simple relation étiologique. En clinique ces deux problèmes sont probablement plus importants que l'aspect causal de la relation entre le TSPT et l'addiction aux drogues. Il est dès lors nécessaire de faire une lecture de cette comorbidité qui tienne compte de ces aspects.

1.5.1. Complexité de l'influence du TSPT sur l'addiction aux drogues

Sous tendue par la théorie de l'automédication, la grande majorité des études de la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues s'est d'abord focalisée sur l'étiologie du TSPT (Enman et al., 2014; Kline et al., 2014). La réflexion sous-jacente était que la prévention du TSPT conduirait à réduire la part de l'addiction qui lui est attribuée. Cette vision de la relation entre ces deux pathologies est renforcée par les nombreuses observations cliniques décrites plus haut. Néanmoins cette vision étiologique est réductrice des relations entre le TSPT et l'addiction aux drogues. Un premier niveau de complexité repose sur le chevauchement des symptômes de ces deux affections (Edwards et al., 2013). Comme pour le TSPT, l'intoxication et le sevrage à la cocaïne sont marqués par une

hypervigilance, de l'anxiété, des troubles du sommeil et des troubles de l'humeur (Roberto et al., 2017 ; Goeders et Guerin, 1994 ; Saladin et al., 1995). Le sevrage à l'alcool est lui aussi marqué par de l'anxiété, de l'irritabilité, des troubles du sommeil et une hypervigilance du système nerveux autonome (Saladin et al., 1995). Ainsi distinguer la part qui revient à chacune des deux conditions n'est pas toujours facile chez une personne qui souffre de leur cooccurrence.

Le rôle du traumatisme, un concept complexe, dans la comorbidité n'est pas toujours aisé à appréhender. Il a été précédemment dit que tous les traumatismes ne conduisent pas à la survenue d'un TSPT. Il faut ajouter que le risque de survenue du TSPT est variable selon les types de traumatismes (Afful et al., 2010 ; Sullivan et Holt, 2008 ; Back et al., 2000). Par exemple, les traumatismes physiques et sexuels sont ceux qui favorisent le plus la survenue du TSPT (Sullivan et Holt, 2008 ; Back et al., 2000). Les violences physiques et sexuelles sont aussi plus fréquentes chez les personnes souffrant de la comorbidité TSPT - addiction aux drogues que chez ceux qui ne souffrent que du TSPT (Sullivan et Holt, 2008 ; Saladin et al., 1995). Le type de traumatisme joue un rôle aussi dans la sévérité du TSPT et, par voie de conséquence, dans celle de l'addiction aux drogues (Sullivan et Holt, 2008 ; Back et al., 2000). Comme mentionné plus haut, les études cliniques montrent une relation étroite entre le degré de sévérité du TSPT et le degré de sévérité de l'addiction aux drogues (Back et al., 2000). Plus sévère est le TSPT plus sévère sera l'addiction aux drogues. En outre, il a été observé chez des sujets souffrant d'addiction aux drogues que ceux qui souffraient du TSPT avaient été exposés à un plus grand nombre d'événements traumatiques (Afful et al., 2010 ; Sullivan et Holt, 2008 ; Back et al., 2000 ; Najavits et al., 1998). Ainsi l'influence du TSPT va bien au-delà d'un simple rôle de déclencheur de l'addiction aux drogues.

Ces vingt-cinq dernières années, plutôt que d'analyser globalement l'influence du TSPT, certains auteurs ont plutôt commencé à se pencher sur l'influence spécifique des caractéristiques et des symptômes du TSPT sur l'addiction aux drogues (Logrip et al., 2012 ; Tull et al., 2010 ; Sullivan et Holt, 2008 ; Saladin et al., 1995). Pour ces auteurs, les caractéristiques du TSPT sont liées à celles de l'addiction aux drogues. Ainsi, par exemple, l'intensité ou la sévérité du traumatisme influence le choix de drogues. Les sujets qui souffrent d'une addiction à la méthamphétamine recensent un plus grand nombre de stressors aussi bien que ceux souffrant d'addiction à la cocaïne ou que ceux qui ne souffrent d'aucune addiction (Taylor et al., 2016). Il a également été observé une relation entre le type de traumatisme du TSPT et le type d'addiction à une drogue. Les prévalences des assauts physiques

et des violences sexuelles sont plus élevées chez les personnes souffrant d'addiction à la cocaïne comparativement aux personnes souffrant d'addiction à l'alcool (Back et al., 2000). Il existe aussi une relation entre l'expression des symptômes du TSPT et le type de substance d'addiction. Les personnes qui consomment des opiacés ou de la cocaïne, comparativement à celles qui consomment d'autres types de drogues présentent un plus grand nombre de symptômes du TSPT qu'ils débutent plus précocement (Back et al., 2000). Pour certains auteurs, les symptômes d'intrusions du TSPT (Langdon et al., 2016 ; Sullivan et Holt, 2008) et l'émoussement affectif sont associés à une consommation d'alcool (Langdon et al., 2016). Certains autres auteurs observent que les symptômes d'hyperréactivité sont associés à une addiction à l'alcool (Sullivan et Holt, 2008). Pour d'autres auteurs encore, l'héroïne et l'alcool réduisent spécifiquement les symptômes d'intrusion (Tull et al., 2010). Tel est le cas des vétérans de la guerre du Vietnam qui soutiennent que l'alcool, l'héroïne et le cannabis réduisent leurs symptômes d'intrusion (Tull et al., 2010). De plus, certains de ces vétérans de guerre motivent leur consommation d'alcool et de cocaïne par la réduction de la souffrance émotionnelle induite par le TSPT. Visiblement, l'influence du TSPT va bien au-delà d'un simple facteur étiologique qu'il le soit ou non.

1.5.2. Complexité de l'influence de l'addiction aux drogues sur le TSPT

Dans l'autre sens, les études portant sur l'influence de l'addiction aux drogues sur le TSPT ont aussi d'abord adopté une vision étiologique de la relation. Au-delà de cette vision étiologique, de nombreux chercheurs se sont par la suite intéressés à l'influence de l'addiction aux drogues sur l'expression du TSPT. En effet, comme dit précédemment, des études avaient rapporté que le TSPT chez des personnes souffrant d'addiction aux drogues est plus sévère que celui des personnes qui ne souffrent pas d'addiction aux drogues. Et cela se confirmait par une prise en charge du TSPT plus difficile lorsqu'il est comorbide à l'addiction aux drogues. Ou encore par une réduction de la sévérité des symptômes du TSPT après une certaine période d'abstinence (Tull et al., 2010). Mais la fin du 20^{ème} siècle et le début du 21^{ème} siècle ont vu l'émergence d'une nouvelle préoccupation concernant l'influence de l'addiction aux drogues sur le TSPT (Ruglass et al., 2017). Des chercheurs ont commencé à s'intéresser à l'expression de symptômes du TSPT chez les personnes souffrant d'addiction. Ils ont ainsi constaté que le TSPT s'exprimait différemment selon la présence ou l'absence d'une addiction à une drogue (Ruglass et al., 2017 ; Saladin et al., 1995). Mais plus encore, il a été observé que l'expression des symptômes du TSPT variait avec la nature de la substance d'abus.

Quoiqu'encore peu abondante, une littérature scientifique de la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues se focalise sur l'expression des symptômes du TSPT chez les sujets souffrant de troubles de l'usage de substances. Ces études rapportent que l'addiction aux drogues modifie l'expression des symptômes du TSPT (Back et al., 2000 ; Saladin, 1995). En effet, les symptômes du TPST s'expriment différemment chez les personnes souffrant d'addiction à une drogue comparées à celles qui ne souffrent pas d'addiction à une drogue. Les personnes qui souffrent de la comorbidité TSPT - addiction aux drogues, comparées à celles qui ne souffrent que du TSPT, présentent un plus grand nombre de symptômes d'hyperréactivité du système nerveux autonome et des comportements d'évitement (Saladin et al., 1995). Plus encore, les symptômes du TSPT s'expriment différemment selon la nature de la drogue (Back et al., 2000 ; Saladin et al., 1995). Ces résultats orientent donc vers une influence spécifique des drogues sur les symptômes du TSPT (Ruglass et al., 2017 ; Tull et al., 2010). En effet les sujets souffrant d'addiction à l'alcool présentent plus de symptômes d'hyperréactivité du système nerveux autonome, particulièrement des troubles du sommeil, que les sujets souffrant d'addiction à la cocaïne (Saladin et al., 1995). Des résultats similaires ont également été rapportés avec les benzodiazépines et l'héroïne (Tull et al., 2010). La cocaïne quant à elle est associée aux symptômes d'évitement du TSPT (Langdon et al., 2016). Les symptômes d'évitement sont aussi plus fréquents chez les sujets souffrant d'addiction à l'héroïne (Tull et al., 2010). Il semble donc bien qu'il existe une spécificité des substances addictives dans l'expression des symptômes du TSPT (Ruglass et al., 2013). Néanmoins, les données disponibles rendent compte de nombreuses divergences selon les chercheurs. Hormis l'effectivité de l'effet des substances d'abus sur les symptômes du TSPT, il existe de nombreuses divergences à propos de la spécificité des effets des drogues sur l'expression des symptômes du TSPT. Ainsi, Sullivan et Holt (2008) observent que les symptômes d'évitement et d'hyperactivité sont moins sévères chez les personnes souffrant d'addiction à l'alcool par rapport aux autres drogues alors qu'il n'y a pas de différence pour les symptômes d'intrusion. Au contraire Tull et al. (2010) n'observent aucune relation entre les symptômes du TSPT pris isolément et l'addiction à la cocaïne, au crack ou à l'alcool. Ainsi donc, pour une substance donnée, certains auteurs trouvent une influence pour un symptôme spécifique du TSPT alors que d'autres auteurs l'observent pour un autre symptôme ou ne l'observent tout simplement pas.

En plus de la controverse exposée dans le précédent paragraphe, certains auteurs affirment que la consommation d'alcool n'aggrave pas les symptômes du TSPT (Langdon et al., 2016 ; Tull et al.,

2010 ; Sullivan et Holt; 2008). Pire, naviguant à contre-courant, plusieurs résultats d'études décrivent une amélioration des symptômes du TSPT suite à la consommation de drogues. Les personnes qui consomment de l'alcool semblent améliorer leurs difficultés émotionnelles (Hasin et Grant, 2015). Le cannabis a lui aussi été associé à une réduction des symptômes d'intrusion et à une amélioration du sommeil (Ruglass et al., 2017). La cocaïne, quant elle, réduit les comportements d'évitement et d'émoussement affectif des personnes souffrant de TSPT (Ruglass et al., 2017 ; Najavits et al., 2003). Toutefois ces effets d'amélioration semblent ne s'observer qu'à court terme (Ruglass et al., 2017).

1.5.3. Controverses

Il existe de nombreuses controverses portant sur la relation entre le TSPT et l'addiction aux drogues. Certaines études soutiennent que seule l'une des deux conditions influence la seconde (Langdon et al., 2016 ; Langdon et al., 2014), d'autres qu'elles s'influencent mutuellement (Langdon et al., 2016) ou qu'elles ne s'influencent pas du tout (Langdon et al., 2016). Ainsi certains auteurs observent que le TSPT favorise la survenue d'une addiction aux drogues alors que l'inverse n'est pas vrai (Langdon et al., 2016 ; Back et al., 2014 ; Kline et al., 2014 ; Tull et al., 2010). Pour ces auteurs, l'addiction aux drogues n'accroît pas le risque d'occurrence d'un événement traumatique ni celui de survenue du TSPT (Tull et al., 2010). Il ne s'agit donc plus seulement d'une explication unidirectionnelle de la comorbidité mais plutôt d'une négation de la relation inverse. Certains de ces auteurs vont encore plus loin. Selon eux le TSPT ne modulerait même pas la relation entre l'exposition à un événement traumatique et la survenue de l'addiction aux drogues. Pour eux, l'évènement traumatique en soi favoriserait l'addiction aux drogues indépendamment de l'existence ou non d'un TSPT (Kline et al., 2014 ; Logrip et al., 2012). L'évènement traumatique est considéré, en quelque sorte, comme le facteur étiologique d'une série de troubles, dont le TSPT et l'addiction aux drogues, qui surviendraient indépendamment les uns des autres. Une autre étude soutient quant à elle l'association entre une addiction à l'alcool et le TSPT mais stipule qu'elle n'apparaît que sur la vie entière et non pas dans un passé récent (Goldstein et al., 2016). Toutefois, la réalité pourrait être plus complexe. La consommation d'une drogue, notamment dans le cadre d'une addiction, simultanément améliorerait l'expression d'un symptôme du TSPT et aggraverait un autre (Tull et al., 2010). Ce fait laisse entrevoir, entre autres, la difficulté de faire la part de chose entre l'effet d'une consommation ponctuelle de drogue chez un sujet souffrant d'addiction et l'effet des perturbations neurobiologiques chroniques de l'addiction sur le TSPT. Toutes ces controverses conduisent à une certaine confusion.

Néanmoins pour beaucoup de ces études, il existe de nombreuses limites et biais qui rendent difficiles l'interprétation des résultats.

1.6. Limites des études chez l'homme

Au-delà des controverses brièvement décrites ci-dessus, les résultats des études sur l'addiction aux drogues et le TSPT chez l'homme soulèvent de nombreuses questions méthodologiques et éthiques. La vaste majorité de ces études est rétrospective (Back et al., 2000). Ces études sont donc basées sur l'histoire rapportée par les participants (Langdon et al., 2016 ; Najavits et al., 1998). À cet aspect de subjectivité s'ajoute l'absence d'utilisation de mesures quantitatives objectives (Deslauriers et al., 2018 ; Langdon et al., 2016 ; Najavits et al., 1998). Ceci peut conduire à des biais d'informations. L'addiction aux drogues et le TSPT sont fréquemment associés à des troubles neurocognitifs. Ainsi par exemple, bien que souvent subtiles et/ou transitoires, 50% à 70% des sujets souffrant d'addiction à l'alcool présentent des troubles cognitifs (Bates et al., 2013). Ces dysfonctionnements peuvent occasionner des biais de mémoire (Uhl et al., 2019 ; Koob et Volkow, 2016 ; Bates et al., 2013 ; Back et al., 2000). De nombreuses études comportent des échantillons avec des effectifs limités et qui souvent ne sont pas représentatifs des populations cibles (Langdon et al., 2016 ; Bates et al., 2013 ; Najavits et al., 1998). Cela favorise les effets de biais de sélection.

Une seconde préoccupation concerne le type de population étudiée (Black et al., 2000). Il existe une grande hétérogénéité des populations étudiées. Selon les objectifs de l'étude les sujets inclus peuvent être pris ou pas en charge pour le TSPT et/ou pour l'addiction aux drogues ou des sujets consommant toujours leurs drogues (Afful et al., 2010 ; Kidorf et al., 2004). Certaines études ne donnent pas beaucoup de précision sur le temps passé entre la dernière consommation de drogues et le déroulement des études (Bates et al., 2013). Cette hétérogénéité rend difficile la comparaison des résultats entre les études. Particulièrement pour les études chez des sujets pris en charge pour une addiction à une drogue certains résultats prêtent parfois à confusion. Ainsi par exemple, certaines études montrent des proportions élevées de symptômes d'hypervigilance chez des sujets abstinents à l'alcool depuis plusieurs mois. S'agit-il d'un syndrome de sevrage chez des sujets non abstinents ou plutôt d'une exacerbation des symptômes du TSPT chez des sujets abstinents (Sullivan et holt, 2008; Back et al., 2000) ? Dans ces situations, la population étudiée correspond-elle réellement à la population cible ?

Comme mentionné plus haut, ceci souligne l'intérêt des mesures objectives pour vérifier les propos des sujets.

En outre, de nombreuses études ont été réalisées sur des personnes souffrant d'addiction ou consommant plusieurs drogues à la fois (Dworkin et al., 2018 ; Afful et al., 2010 ; Sullivan et Holt, 2008 ; Najavits et al., 1998 ; Kidorf et al., 2004). Ceci reflète d'ailleurs la réalité des sujets souffrant d'addiction aux drogues dont la moitié consomment au moins deux substances d'abus à la fois (Uhl et al., 2019 ; Sullivan et Holt, 2008). Dans ce contexte, il est quasi impossible de pouvoir isoler l'effet d'une seule substance. D'autant plus que les effets de différentes drogues interfèrent les unes sur les autres (Marel et al., 2019 ; Lopez-Quintero et al., 2011). La « gateway hypothesis » stipule que la consommation de certaines drogues majore le risque de consommation d'autres drogues (Ruglass et al., 2017 ; Secades-Villa et al., 2015). Ainsi par exemple 44,7% des consommateurs de cannabis progresseront vers d'autres drogues (Secades-Villa et al., 2015). Le risque et la rapidité d'acquisition d'une addiction peuvent être influencés par une deuxième substance (Marel et al., 2019 ; Lopez-Quintero et al., 2011). Ainsi, par exemple, la co-consommation de nicotine, de cannabis et d'autres substances d'abus augmente non seulement le risque d'addiction à l'alcool mais aussi raccourcit la durée de transition de cette addiction (Marel et al., 2019). Il devient dès lors difficile de répondre à la question de savoir quel symptôme du TSPT est spécifiquement associé à quelle drogue.

Enfin et surtout, les études chez l'homme sont limitées par les aspects éthiques qui empêchent la réalisation d'études expérimentales vraies dans lesquelles les variables causales sont manipulées par le chercheur (Goswami et al., 2013). Nul besoin d'en faire un long paragraphe. Il est évident qu'il n'est pas possible d'induire une addiction et/ou un TSPT chez un individu pour pouvoir étudier leurs relations. Toutes ces limites méthodologiques et éthiques ouvrent la porte aux études expérimentales sur des animaux (Borghans et Homberg, 2015 ; Reznikov et al., 2015). Les études animales permettent, entre autres, le contrôle de la temporalité des événements (García Pardo et al., 2017 ; Goswami et al., 2013). Elles permettent aussi de contrôler les différents facteurs qui jouent un rôle dans l'addiction aux drogues et dans le TSPT (García Pardo et al., 2017 ; Goswami et al., 2013). Conduites selon des règles strictes d'éthique animale, ces études contribuent ainsi à améliorer considérablement la compréhension de la comorbidité entre l'addiction aux drogues et le TSPT (Borghans et Homberg, 2015 ; Schöner et al., 2013). Bien évidemment, il y a une limite translationnelle avec les études animales. C'est la concordance des résultats entre les études humaines

et animales qui permettent des avancées significatives. Et partant cela conduirait à une amélioration de la prise en charge des personnes qui souffrent de cette comorbidité.

1.7. Conclusion

L'addiction aux drogues et le TSPT sont deux problèmes de santé publique. Ces deux troubles sont étroitement associés dans une relation complexe. Leurs relations sont expliquées principalement par la théorie de l'automédication, la théorie du haut risque et la théorie de la vulnérabilité partagée. Chacune de ces trois perspectives a permis des avancées dans la compréhension de la comorbidité entre l'addiction aux drogues et le TSPT. Néanmoins de nombreuses zones d'ombres subsistent dans la relation entre le TSPT et l'addiction. Les mécanismes par lesquels le TSPT favorise la survenue d'une addiction aux drogues ne sont pas complètement élucidés. Et d'autre part, de nouvelles préoccupations, au-delà des théories classiques, émergent. Ces dernières décennies ont vu un nombre croissant d'études s'intéresser à l'influence des drogues sur l'expression des différents symptômes du TSPT. Les nombreuses limitations méthodologiques et éthiques liées aux études chez l'homme rendent nécessaire l'utilisation des modèles animaux pour améliorer la compréhension de la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues.

Les deux chapitres qui suivent font un survol des modèles animaux de l'addiction aux drogues et du TSPT. Ils constituent une transition avant d'aborder les données relatives aux études animales de la comorbidité entre l'addiction aux drogues et le TSPT.

Chapitre 2

Théories et modèles animaux de l'addiction

Ce chapitre est consacré essentiellement aux aspects de l'addiction basés sur des modèles animaux. Plutôt que de les décrire de manière générale, ce chapitre ne se limitera qu'aux aspects permettant, pour la suite, de mieux appréhender les relations existant entre l'addiction aux drogues et le TSPT dans les études précliniques.

2.1. Théories de l'addiction aux drogues

2.1.1. Théories des renforcements positifs et négatifs

L'addiction aux drogues peut être schématisée par un cycle comportant 3 étapes: le binge/intoxication, le sevrage/malaise et la préoccupation/anticipation (Uhl et al., 2019 ; Robert et al., 2017 ; Koob et Volkow, 2016 ; Scuvée-Moreau, 2013 ; Logrip et al., 2012). Ce cycle est commun à toutes les substances d'abus malgré leurs spécificités chimiques. L'addiction pourrait se résumer de façon simpliste par l'incapacité d'un sujet à rompre ce cercle vicieux.

La consommation d'une drogue s'accompagne du plaisir et d'un sentiment de bien être (Roberto et al., 2017). Selon certains auteurs, cette sensation de plaisir est liée à l'activation du système de récompense par la drogue. Le circuit de récompense comporte de nombreuses structures dont le noyau accumbens et l'ATV (Mukhara et al., 2018 ; Scuvée-Moreau, 2013). La consommation de drogues s'accompagne d'une libération de dopamine, par les neurones dopaminergiques de l'ATV, dans le noyau accumbens (Uhl et al., 2019 ; Roberto et al., 2017). Ce plaisir obtenu par la consommation d'une drogue pousse les personnes souffrant d'addiction à la consommer davantage afin de revivre ce plaisir (Roberto et al., 2017). Cela conduit à un effet renforçateur de la consommation de la drogue (Logrip et al., 2012). Le renforcement se définit comme un processus qui augmente la probabilité de survenue d'un événement (Garcia-Pardo et al., 2017). C'est la clé de voûte de la théorie du

renforcement positif induit par les drogues (Roberto et al., 2017). Parallèlement à cette activation du système de récompense, s'installe une neuroadaptation qui vise à rétablir l'homéostasie physiologique en présence de la drogue (Roberto et al., 2017 ; Koob et Volkow, 2016 ; Scuvée-Moreau, 2013). Ce processus régule à la baisse l'activation du circuit de récompense notamment par la réduction de la transmission dopaminergique et sérotoninergique au niveau du noyau accumbens (Roberto et al., 2017 ; Koob et Volkow, 2016). Cette neuroadaptation est responsable de la diminution des effets que procurent la consommation des drogues (Koob et Volkow, 2016 ; Scuvée-Moreau, 2013). Les personnes qui souffrent d'addiction à une drogue doivent alors consommer des quantités plus élevées de drogue afin d'obtenir le même degré de plaisir. C'est le phénomène de la tolérance.

Si la consommation de drogues procure un plaisir recherché, l'absence de consommation conduit au sevrage. Le sevrage est un ensemble de réponses physiologiques qui marquent un déséquilibre homéostatique lié à l'arrêt de la consommation (Scuvée-Moreau, 2013). C'est un phénomène qui présente deux facettes, physique et psychique. Le sevrage physique est caractérisé par des symptômes et des signes physiques parfois très sévères. Il est spécifique à chaque drogue. Néanmoins, toutes les drogues présentent en commun un sevrage psychique. La facette psychique du sevrage est caractérisée par l'anxiété, l'irritabilité et une humeur dépressive (Roberto et al., 2017 ; Koob et Volkow, 2016). Le mécanisme de ce sevrage commun à toutes les drogues se déroule aussi dans le système de récompense. Durant cette phase, le système de récompense est caractérisé par de faibles quantités de dopamine et de sérotonine dans le noyau accumbens mais aussi par une réduction de la transmission GABAergique et glutamatergique (Didone et al., 2016b ; Koob et Volkow, 2016 ; Abrahao et al., 2013). Le noyau accumbens devient très sensible. À côté des perturbations du système de récompense, un autre système important s'active. C'est le système anti-récompense dont l'existence ne fait pas consensus (Koob et Volkow, 2016). Ce système anti-récompense aurait pour rôle de rétablir l'homéostasie physiologique. En effet, le sevrage s'accompagne d'une activation de l'axe HHS caractérisé par la libération de corticolibérine et de cortisol. Une libération de corticolibérine, de noradrénaline et de dynorphine, est observée au niveau de l'amygdale étendue (Koob et Volkow, 2016). Par contre, la libération du neuropeptide Y est réduite. Mis ensemble, les perturbations du système de récompense et du système anti-récompense s'accompagnent de nombreuses sensations désagréables induites par le sevrage (Koob et Volkow, 2016). Ces sensations peuvent être bloquées, notamment, par l'administration dans le noyau accumbens des antagonistes des récepteurs kappa des opioïdes (Koob et Volkow, 2016) ou par l'utilisation des antagonistes des récepteurs CRF1. Toutes ces

perturbations conduisent les sujets souffrant d'une addiction à consommer leur drogue afin de prévenir ou d'éviter ces déplaisantes sensations (Logrip et al., 2012). Ces effets conduisent ainsi à un renforcement négatif (Logrip et al., 2012). C'est la pierre angulaire de la théorie du renforcement négatif proposée par Koob et LeMoal complétée par Koob et Volkow.

Le processus de l'addiction est achevé par le phénomène de préoccupation/anticipation. Ainsi selon les théories classiques, l'addiction s'installe dès lors qu'un sujet anticipe le plaisir qu'il obtiendrait à consommer la drogue et/ou le déplaisir qu'il subirait à ne pas la consommer. Au fil des cycles d'intoxication-sevrage, la neuroadaptation liée au sevrage s'impose sur la sensation du plaisir induite par la consommation (Roberto et al., 2017). L'arrêt de la consommation s'accompagne rapidement d'un syndrome aigu de manque. Le cycle sans fin de l'addiction est ainsi bouclé avec l'installation de ce cercle vicieux. La préoccupation à obtenir les substances d'abus ainsi que l'anticipation à éviter les sensations déplaisantes du sevrage sont modulées par les stimuli associés à la consommation de drogues ainsi qu'au stress (Roberto et al., 2017).

2.1.2. Limites des théories de renforcements positifs et négatifs

Les théories de renforcements positifs et négatifs ont permis des avancées dans le domaine de l'addictologie. Elles ont notamment joué un rôle majeur dans la reconnaissance de l'addiction aux drogues comme problème de santé mentale (Didone, 2014). En dépit de leur impressionnant apport dans la compréhension de l'addiction, ces théories de l'addiction présentent d'importantes lacunes. Les limites de ces théories sont brièvement exposées dans les paragraphes ci-dessous.

La théorie du renforcement positif stipule que les sujets consomment la drogue parce que cela leur procure du plaisir. Néanmoins, seule une faible minorité des personnes qui consomment les substances d'abus et qui en retirent du plaisir souffriront d'une addiction (Marel et al., 2019). En outre, l'addiction est un phénomène chronique caractérisé par une fréquente répétition de rechutes. Cette théorie n'explique donc pas les échecs aux nombreuses tentatives d'arrêt de la consommation que subissent les personnes qui souffrent d'addiction aux drogues. De plus, les données de la littérature indiquent que le plaisir qu'apporte la consommation diminue grandement au fur et à mesure d'une consommation chronique (Didone, 2014). Et pourtant, les rechutes surviennent durant les périodes où le plaisir lié à la consommation est faible (Berridges et Robinson, 2016 ; Didone, 2014).

Dans la théorie du renforcement négatif la consommation d'une substance d'abus répond au besoin d'éviter les effets déplaisant du sevrage. Pourtant de nombreux sujets souffrant d'addiction provoquent volontairement des sevrages dans l'espoir de retrouver le plaisir que leur procurait initialement la consommation de drogues. Pour beaucoup de personnes souffrant d'addiction, les rechutes surviennent plusieurs semaines ou mois après que tous les symptômes du sevrage aient disparus. Si la théorie du renforcement négatif expliquait totalement l'addiction aux substances aux drogues, le risque de rechute devrait être corrélé à l'intensité du sevrage. Pourtant de nombreux auteurs ont démontré l'absence de relation entre la sévérité du sevrage et les rechutes (Didone, 2014). Les sujets souffrant d'addiction à une drogue n'arrivent pas à arrêter sa consommation malgré leurs nombreux efforts et les conséquences néfastes sur les plans socio-économique, professionnel et sanitaire de leur addiction. Ainsi, quoique certaines personnes consomment des drogues pour éviter les désagréments du sevrage, la théorie du renforcement négatif n'explique donc pas entièrement leur addiction.

Ainsi l'élaboration d'hypothèses alternatives permettant une meilleure compréhension d'un phénomène aussi complexe que l'addiction était une nécessité. À côté des deux théories classiques de l'addiction présentées ci-dessus, de nombreuses autres théories ont émergé. Parmi celles-ci, seule la théorie de la sensibilisation motivationnelle à l'addiction sera discutée dans le cadre de ce travail. En effet, cette théorie est celle qui a servi de support théorique aux études réalisées dans la présente thèse.

2. 1.3. La « incentive sensitization theory of addiction »

La « incentive sensitization theory of addiction » ou la théorie de la sensibilisation motivationnelle est née des limites de la théorie des renforcements positifs de l'addiction. En 1989, convaincus de la pertinence de la théorie du renforcement positif, Robinson et Berridge (Berridge et Robinson, 2016 ; Robinson et Berridge, 2008 ; Berridge et al., 1989) ont tenté de démontrer, sur des rats, qu'une déplétion de dopamine réduirait le plaisir (« liking »). Étonnamment ces auteurs ont observé que le « liking » n'était pas modifié par la déplétion de la dopamine. Par contre ils ont observé une abolition de toutes les motivations même celles liées aux récompenses naturelles. De là a débuté une intense réflexion sur les mécanismes sous-jacents à l'addiction aux drogues. L'une des premières idées innovantes issues de cette réflexion a été de dissocier le plaisir de la motivation dans le processus de l'addiction. Berridge et Robinson (1993, 2008) ont proposé que la voie mésolimbique de la dopamine,

cœur du processus de l'addiction, était porteur du désir (« wanting ») plutôt que du « liking ». Pour ces auteurs, les changements cérébraux induits par les drogues sont responsables d'une sensibilisation motivationnelle. Cette sensibilisation motivationnelle joue un rôle primordial dans la transition vers l'addiction à une drogue (Robinson et Berridge, 2008).

En 1993, Robinson et Berridge (1993) ont ainsi jeté les bases d'une nouvelle théorie de l'addiction aux drogues, la sensibilisation motivationnelle de l'addiction. Chez les personnes susceptibles et dans certaines conditions, la consommation chronique de drogues est responsable de changements durables des circuits neuronaux qui donnent une saillance incitative aux stimuli associés aux drogues (Garcia-Pardo et al., 2017 ; Robinson et Berridge, 2008). Cette neuroadaptation serait responsable de la transition vers l'addiction et de sa persistance (Didone et al., 2016a ; Didone et al., 2016b ; Pastor et al., 2012). Selon Robinson et Berridge (2008), la consommation d'une drogue est associée à trois composantes motivationnelles interconnectées, le plaisir (« liking »), l'apprentissage et le désir (« wanting »). Bien qu'interconnectées ces composantes fonctionnent indépendamment les unes des autres. L'addiction à une substance correspond à une pathologie du « wanting ». Cette pathologie du « wanting » est le résultat d'altérations neurobiologiques induites par une consommation chronique d'une drogue. La consommation répétitive et chronique d'une drogue s'accompagne d'une plasticité neuronale, particulièrement au niveau du circuit de récompense. Il se produit une sensibilisation du système de récompense avec une production accrue de dopamine (Didone et al., 2016b). Le système de récompense devient hypersensible non pas seulement à la drogue mais aussi aux stimuli associés à sa consommation. Cette hypersensibilité du système de récompense est responsable d'une motivation pathologique et d'un biais attentionnel envers les stimuli associés à la drogue (Robinson et Berridge, 2008). Au final, cette sensibilisation s'accompagne d'un important accroissement de la motivation à consommer la drogue. Cette hyper-motivation à consommer une drogue est aussi bien consciente qu'inconsciente (Robinson et Berridge, 2008). Elle peut persister très longtemps, voire toute la vie, selon la nature de la drogue. Cette persistance est à la base des rechutes même après une longue période d'abstinence (Didone et al., 2016a ; Pastor et al., 2012 ; Robinson et Berridge, 2008). Chaque quantité de drogue consommée augmente le désir d'en consommer davantage. C'est la raison pour laquelle la sensibilisation est parfois qualifiée, bien qu'à tort, de tolérance inverse. Le sujet qui souffre d'addiction consacre son énergie à l'acquisition et à la consommation de sa drogue.

La théorie de la sensibilisation incitative ne contredit par les théories des renforcements positif et négatif. Elle les ramène à des épiphénomènes (Didone, 2014). Comme expliqué plus haut, les théories classiques de l'addiction ne parviennent pas à expliquer complètement ni l'addiction ni les rechutes. La sensibilisation du système de récompense explique elle pourquoi les rechutes et le craving surviennent durant les périodes où le plaisir qu'apporte la consommation est faible ou nul. Elle explique aussi pourquoi les rechutes et le craving surviennent même longtemps après un sevrage (Boehm II et al., 2008). Les modifications neuronales induites par une consommation chronique d'une drogue et qui conduisent à une sensibilisation du système de récompense concerne en premier lieu le système dopaminergique méso-cortico-limbique. Plusieurs études ont tenté de caractériser plus précisément les mécanismes neurobiologiques liés à cette sensibilisation du système cérébral de la récompense. Cette sensibilisation est marquée par une diminution de la sensibilité des autorécepteurs pré-synaptiques D2 et une augmentation de la sensibilité des récepteurs D1 post-synaptiques au niveau du noyau accumbens (Didone et al., 2016b). Une surexpression des récepteurs α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA) caractérise une hypersensibilité au glutamate au niveau de l'ATV. La sensibilité accrue au glutamate est responsable de la potentialisation durable de l'ATV aux drogues et aux stimuli qui leur sont associés. Ces phénomènes, associés à d'autres non expliqués dans le cadre de ce travail, sont responsables de la sensibilité motivationnelle qui guide la transition vers l'addiction. En effet, l'exposition aux stimuli associés aux drogues est susceptible d'activer le circuit de récompense. L'exposition aux stimuli, plus que les effets renforçateurs de la drogue elle-même, suscite un besoin pressent de consommer (Garcia-Pardo et al., 2017). En outre, Robinson et Berridge (1993) ont démontré que non seulement le « liking » n'était pas dépendant de la dopamine, mais ils ont par la suite localisé les sites cérébraux impliqués dans la sensation du plaisir (Robinson et Berridge, 2016). La théorie de la sensibilisation motivationnelle ne rejette donc pas les théories classiques de renforcements positifs et négatifs. Tout en étant d'accord que certaines personnes consomment par anticipation du plaisir et du déplaisir liée à la drogue, Berridge et Robinson mettent la sensibilisation motivationnelle au cœur de l'addiction.

La sensibilisation motivationnelle induite par l'exposition répétée aux drogues est modulée par l'apprentissage. L'apprentissage conduit à l'apparition des comportements d'addiction dans certains contextes. Cela est confirmé par le rôle majeur que joue le contexte dans l'acquisition et l'expression de la sensibilisation motivationnelle. En effet, celle-ci se manifeste le plus souvent dans le contexte dans lequel l'animal a été exposé à la drogue (Didone et al., 2016a ; Rademacher et al., 2015 ;

Robinson et Berridge, 2008). Le rôle que joue le contexte dans la sensibilisation motivationnelle démontre l'importance des stimuli associés aux drogues dans la sensibilisation motivationnelle. Ces stimuli induisent une décharge conditionnée des neurones dopaminergiques (Stelly et al., 2016). Néanmoins l'apprentissage à lui seul ne conduit pas à la sensibilisation motivationnelle. En effet, les personnes qui souffrent d'addiction manifestent souvent une ingéniosité comportementale pour satisfaire leur désir de consommation (Didone, 2014). D'autre part, il a été observé chez des rongeurs que l'administration de cocaïne ou d'amphétamine dans leur lieu habituel d'hébergement ne conduit ni à l'acquisition ni à l'expression d'une sensibilisation locomotrice, une mesure indirecte de la sensibilisation motivationnelle (Didone et al., 2016a ; Rademacher et al., 2015). De même, des études sur l'éthanol démontrent que l'apprentissage ne joue pas un rôle important dans l'addiction à l'alcool. En effet, des auteurs ont démontré que l'acquisition et l'expression de la sensibilisation locomotrice à l'éthanol était indépendantes du contexte (Castelló et al., 2017 ; Didone et al., 2016a ; Matchynski-Franks et al., 2016 ; Pastor et al., 2012 ; Stevenson et al., 2008). L'exposition répétée à l'éthanol dans d'autres contextes que celui du test conduit à une sensibilisation locomotrice. Plus encore, il arrive qu'un pairage de la drogue au contexte n'aboutisse pas à une sensibilisation locomotrice. Eisener-Dorman et al. (2011) ont observé que les souris 129S1/SvImJ exprimaient une sensibilisation locomotrice à la cocaïne lorsqu'elle était associée à une chambre claire mais pas à une chambre sombre.

Malgré son rôle primordial, la théorie de la sensibilisation motivationnelle n'est pas la seule explication de la survenue de l'addiction (Boehm II, et al., 2008 ; Robinson et Berridge, 2008). Robinson et Berridge (2008), comme d'autres auteurs, reconnaissent, par exemple, que des dysfonctionnements du cortex préfrontal, portant sur la prise de décision ou sur l'inhibition du comportement de consommation, jouent un rôle important dans l'addiction aux substances d'abus (Garcia-Pardo et al., 2017).

2.2. Neurobiologie de l'addiction aux drogues

La consommation de drogues s'accompagne d'une activation du système de récompense. Le système de récompense comprend principalement l'ATV, le noyau accumbens, l'amygdale et le cortex préfrontal (Mukhara et al., 2018 ; Scuvée-Moreau, 2013 ; Figure 2.1). Outre ces différentes structures, la neurobiologie de l'addiction aux drogues fait aussi intervenir de nombreux systèmes hormonaux et

neurotransmetteurs (Koob et Volkow, 2016 ; Pastor et al., 2012). Dans le présent travail, seuls quelques uns de ces systèmes et structures seront décrits.

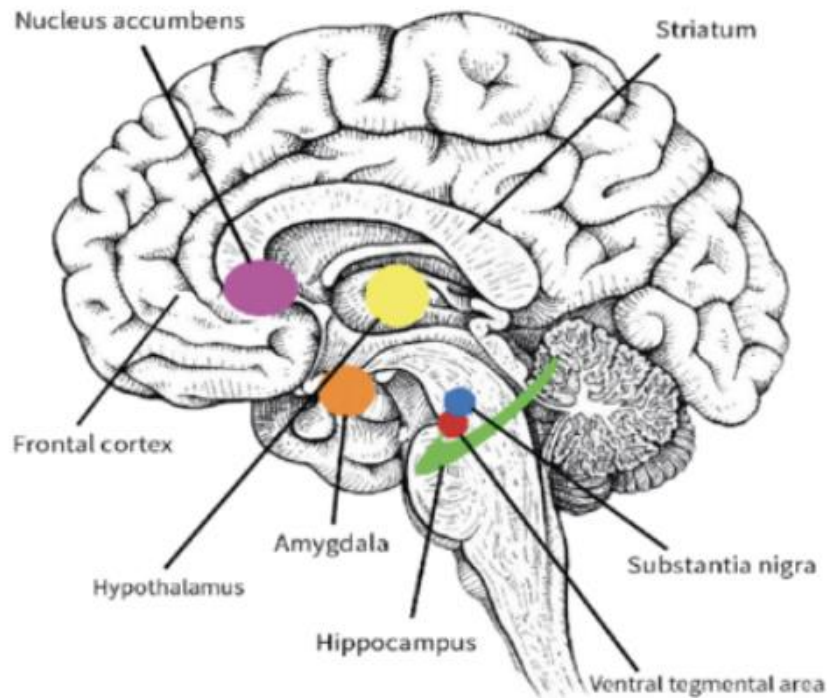


Figure. 2.1. Principales structures du système de récompense (Lam et Jadavji, 2018).

2.2.1. Aire tegmentale ventrale

L'ATV constitue, avec le noyau accumbens, sans nul doute l'une des structures les plus importantes impliquées dans la transition vers l'addiction aux drogues (Holly et al, 2016). Il se compose essentiellement de neurones dopaminergiques, GABAergiques et glutamatergiques (Miyamoto et al., 2014). L'activation du système de récompense via l'ATV est caractérisée par une libération de dopamine dans la voie dopaminergique mésolimbique, principalement dans le noyau accumbens (Mukhara et al., 2018 ; Roberto et al., 2017 ; Didone et al., 2016b), et mésocorticale, notamment dans le cortex préfrontal. Cette libération de dopamine par l'ATV est inhibée par les neurones GABAergiques du cortex préfrontal (Mukhara et al., 2018).

Les neurones dopaminergiques de l'ATV exercent une activité tonique permanente afin d'assurer un niveau basal de dopamine dans le cerveau. Pour certains auteurs, l'administration répétée de drogues augmenterait cette activité de base (Didone et al., 2016b). Cette dopamine se fixe préférentiellement sur les autorécepteurs dopaminergiques 2 (D2) pour lesquels elle a une affinité 10 à 100 supérieure

que pour les récepteurs dopaminergiques 1 (D1 ; Uhl et al., 2019). L'activation des récepteurs D2 conduit, par un mécanisme de feed-back négatif, à une diminution de la libération de dopamine et de la récompense liée à la drogue (Koob et Volkow, 2016 ; Xue et al., 2011). À l'inverse, les antagonistes des récepteurs D2 micro-injectés dans l'ATV augmentent la libération de dopamine (Didone et al., 2016b). Les drogues induisent une décharge phasique qui, quoique transitoire, augmente rapidement et drastiquement le niveau de dopamine (Koob et Volkow, 2016). Cette dopamine se fixe sur les récepteurs D1 et active le circuit de récompense dont le cortex préfrontal, l'amygdale et l'hippocampe (Uhl et al., 2019 ; Koob et Volkow, 2016). Ces trois structures qui jouent un rôle clé dans le conditionnement et la mémoire induisent automatiquement une association entre la drogue et les stimuli associés avec la récompense (Uhl et al., 2019). Outre son rôle régulateur, les récepteurs D2 jouent un rôle dans l'addiction aux drogues. En effet, il a été observé, chez les sujets souffrant d'addiction, une réduction de leur expression associée à un hypo-fonctionnement, entre autres, du cortex préfrontal qui joue un rôle crucial dans la régulation des émotions et la prise des décisions (Uhl et al., 2019). L'augmentation de l'expression des récepteurs D2 est associée à une réduction des comportements d'auto-administration de la cocaïne et de l'alcool en étude préclinique (Uhl et al., 2019). La quinpirole, un agoniste sélectif des récepteurs D2, micro-injecté dans l'ATV empêche la reprise d'un comportement de recherche de cocaïne après l'extinction de ce comportement (Xue et al., 2011).

Les relations entre l'ATV et les autres structures du système de récompense sont multiples et complexes (figure 2.2). Les neurones dopaminergiques de l'ATV se projettent vers le noyau accumbens, le cortex préfrontal, l'amygdale et de nombreuses autres structures (Mukhara et al., 2018 ; Xue et al., 2011). Ainsi par exemple, les neurones dopaminergiques de l'ATV activent les neurones GABAergiques du thalamus qui vont diminuer le fonctionnement du cortex préfrontal (Mukhara et al., 2018). L'ATV reçoit de nombreuses afférences des structures du système de récompense. Il reçoit, entre autres des projections de neurones GABAergiques en provenance du noyau accumbens (Blacktop et al., 2016). Il reçoit de l'amygdale et du cortex préfrontal des informations sur les stimuli associés aux drogues (Mukhara et al., 2018). Les neurones de l'ATV expriment des récepteurs aux glucocorticoïdes et à la corticolibérine, dont l'activation, notamment par la corticolibérine, conduit à une libération de la dopamine dans le noyau accumbens (Pastor et al., 2008). Des injections de corticolibérine dans l'ATV majorent les effets liés à la cocaïne chez le rat (Mukhari et al., 2018). Au

final, toutes ces interconnexions modulent le fonctionnement de l'ATV et influencent son rôle dans l'addiction aux drogues.

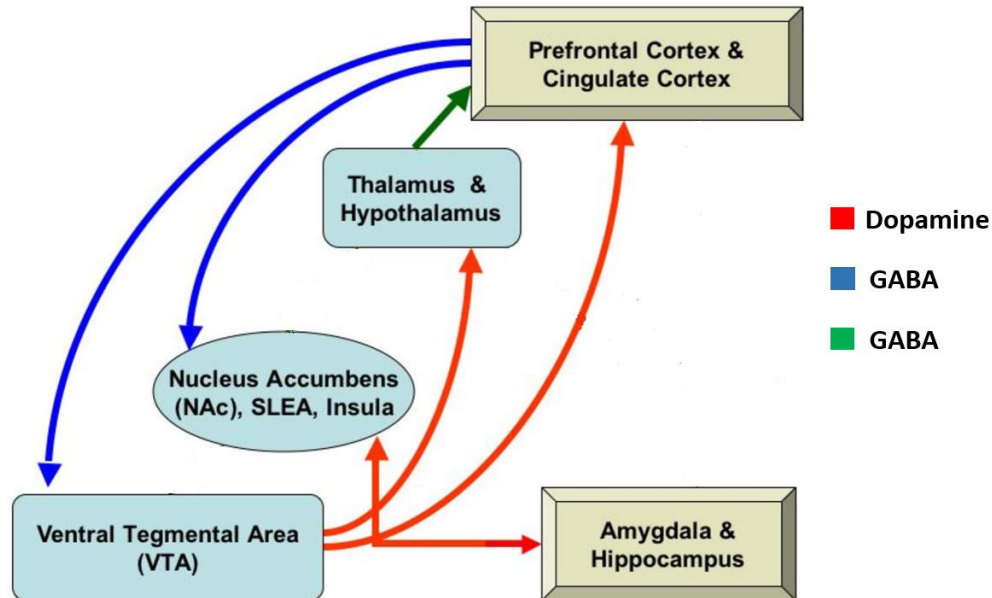


Figure 2.2. Relations entre les structures du système de récompense (adaptée de Makris et al., 2008).

2.2.2. Noyau accumbens

Selon plusieurs théories, le noyau accumbens est au cœur du processus d'addiction. Toutes les drogues stimulent directement ou indirectement le noyau accumbens (Scuvée-Moreau, 2013 ; Maldonado, 2010). Celles qui le font directement augmentent la libération, par exemple les amphétaminiques, ou inhibent la recapture, comme la cocaïne, de la dopamine provenant des neurones dopaminergiques de l'ATV (Mukhara et al., 2018). D'autres substances telles que les opioïdes et les cannabinoïdes agissent indirectement en inhibant les neurones GABAergiques. En effet, l'activation des récepteurs aux opioïdes et aux cannabinoïdes à la surface des neurones GABAergiques bloque l'activité de ces derniers. Ces substances lèvent ainsi l'inhibition des neurones GABAergiques sur les neurones dopaminergiques de l'ATV, ce qui augmente leur décharge de dopamine dans le noyau accumbens. Bien que cela soit parfois contesté, il semble que l'éthanol aussi active directement l'ATV (Didone et al., 2016b). Mais il n'y a pas que les drogues qui stimulent le noyau accumbens. L'exposition aux stimuli associés aux drogues active aussi les cellules du noyau accumbens (Uhl et al., 2019).

L'administration répétée de drogues ne se limite pas qu'à des modifications fonctionnelles du noyau accumbens. L'exposition prolongée aux drogues s'accompagne de modifications structurelles des

neurones du noyau accumbens. L'exposition répétée à la cocaïne chez les rongeurs conduit à une augmentation du nombre d'épines dendritiques des neurones du « cœur » du noyau accumbens (Uhl et al., 2019 ; Robinson et Berridge, 2008). Ces épines sont plus longues, moins épaisses et moins fonctionnelles que celles observées chez des animaux du groupe témoin (Uhl et al., 2019). À l'inverse durant les périodes de sevrage ces épines sont plus larges (Uhl et al., 2019). Néanmoins cette neuroplasticité n'est pas observée avec toutes les substances d'abus. L'éthanol et les opiacés n'induisent pas une augmentation d'épines dendritiques (Scuvée-Moreau et al., 2013).

2.2.3. Cortex préfrontal

L'addiction aux substances d'abus se caractérise par un déficit d'inhibition du cortex préfrontal (Koob et Volkow, 2016). Le cortex préfrontal joue un rôle d'inhibiteur de l'ATV. Les substances d'abus sont responsables d'altérations structurelles et fonctionnelles du cortex préfrontal, comme pour de nombreuses autres structures cérébrales (Bates et al., 2013). De plus, les neurones dopaminergiques de l'ATV activent les neurones GABAergiques du thalamus (Mukhara et al, 2018). Ces neurones GABAergiques du thalamus inhibent le fonctionnement du cortex préfrontal et de ce fait lève l'inhibition que ce dernier exerce sur l'ATV (Mukhara et al, 2018). Les neurones du cortex préfrontal expriment aussi les récepteurs dopaminergiques D1 et D2 (Uhl et al.2019 ; Xue et al., 2011). L'activation des récepteurs dopaminergiques D1 est nécessaire pour induire un comportement de recherche de cocaïne lié au contexte (Lasseter et al., 2014). L'infusion dans l'ATV de sulpiride, un antagoniste des récepteurs D2, induit une augmentation de dopamine dans le cortex préfrontal (Xue et al., 2011). Le blocage des récepteurs dopaminergiques D1 du cortex préfrontal dorsal empêche la reprise, induite par la cocaïne, d'un comportement d'auto-administration préalablement éteint (Lasseter et al., 2014 ; Xue et al., 2011). L'hypofonctionnement du cortex préfrontal réduit les capacités de cette structure à inhiber l'hyperactivité du système de récompense.

Comme pour l'amygdale, en présence de stimuli associés aux drogues ou du contexte dans lequel la drogue a été administrée, le cortex préfrontal, par ses projections glutamatergiques sur les récepteurs NMDA (N-méthyl-D-aspartate) et AMPA, active l'ATV et le noyau accumbens (Uhl et al., 2019 ; Koob and Volkow, 2016 ; Lasseter et al., 2014). L'interconnexion entre ces structures est nécessaire pour induire un comportement de recherche de cocaïne induit par le contexte. En effet, la déconnexion

de ces deux structures empêche l'expression d'un comportement de recherche de la cocaïne lié au contexte (Lasseter et al., 2014).

2.2.4. Amygdale

L'amygdale est aussi l'une des structures qui jouent un rôle clé dans le processus de l'addiction aux drogues. Cette structure, notamment par son noyau latéro-basal, module la relation entre les effets plaisants de la drogue et l'environnement dans lequel la drogue a été consommée (Rademacher et al., 2015). En effet, l'amygdale joue avec le cortex préfrontal un rôle majeur dans la reconnaissance du contexte et des autres stimuli associés aux drogues (Lasseter et al., 2014). L'association drogue - contexte modifie, entre autres, les connexions synaptiques entre les neurones pyramidaux et les interneurons GABAergiques du noyau latero-basal de l'amygdale (Rademacher et al., 2015). En présence de ces stimuli, l'amygdale active les neurones dopaminergiques de l'ATV (Mukhara et al., 2018). Cette activation implique notamment les neurones glutamatergiques de l'amygdale qui se projettent vers l'ATV et le noyau accumbens (Koob et Volkow, 2016 ; Rademacher et al., 2015). Son rôle lors de l'exposition aux stimuli associés aux drogues est l'une des composantes majeures du craving (Rademacher et al., 2015). L'inactivation de l'amygdale perturbe l'apprentissage contextuel responsable d'une altération de la réinstallation des comportements de recherche de drogues lorsque les animaux sont remis dans le contexte dans lequel ils ont reçu une substance d'abus (Rademacher et al., 2015 ; Lasseter et al., 2014).

2.2.5. Axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HHS)

L'axe HHS est une composante majeure du système de stress (Mukhari et al., 2018 ; Garcia-Pardo et al., 2017 ; Roberto et al., 2017 ; Pastor et al., 2012). Il est également activé par l'exposition et le sevrage de quasiment toutes les drogues (Uhl et al., 2019 ; Roberto et al., 2017 ; Pastor et al., 2012 ; Moffett et Goeders, 2005). L'activation du système HHS par des signaux extérieurs et intérieurs entraîne la libération de la corticolibérine et de la vasopressine par l'hypothalamus. La corticolibérine agit sur l'hypophyse antérieure qui libère la corticotrophine ou l'adrénocorticotrophine (ACTH ; Figure 2.3). Cette dernière agit sur la glande surrénale qui libère, dans le torrent sanguin, le cortisol chez l'homme ou la corticostérone chez les rongeurs. La corticostérone diffère du cortisol par un

radical hydroxyle sur le carbone 17. Les taux de cortisol ou de corticostérone régulent la libération de corticolibérine et d'ACTH par un rétrocontrôle négatif sur l'hypothalamus et l'hypophyse antérieure. Quoique composante majeure de la neurobiologie du stress, l'axe HHS joue également un rôle important dans l'addiction aux drogues (Roberto et al., 2017). Il agit sur de nombreuses structures cérébrales et module de nombreux systèmes. Au niveau de l'ATV, il excite directement aussi bien les neurones dopaminergiques que les autres neurones (Blacktop et al., 2016). Néanmoins l'exposition aiguë et répétée de drogues conduit à des réponses différentes de l'axe HHS (Roberto et al., 2017). En effet, la corticolibérine ne joue aucun rôle dans les effets aigus des substances d'abus. Les souris Knock-Out (KO) pour la CRF1 expriment la même activité locomotrice aux effets aigus de l'éthanol que les souris wild-type (Pastor et al., 2012 ; Pastor et al., 2008). Par contre, l'exposition répétitive des drogues conduit à une dysrégulation et à une sensibilisation de l'axe HHS. En effet, il a été observé qu'une exposition répétée de cocaïne, d'éthanol, de nicotine et d'opioïdes réduit l'activation de l'axe HHS. Son action dans l'addiction aux drogues est liée aux effets de la corticolibérine et des glucocorticoïdes (Roberto et al., 2017 ; Pastor et al., 2012).

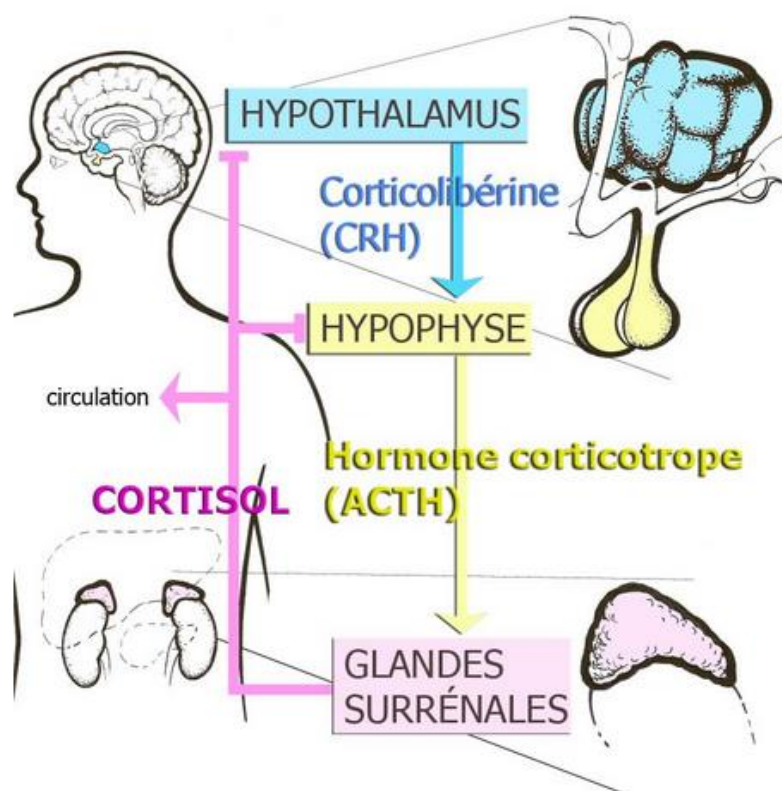


Figure 2.3. Axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (Gunnar et al., 2009)

La corticolibérine est une hormone dont la libération est augmentée lors de l'exposition à pratiquement toutes les drogues (Roberto et al., 2017 ; Pastor et al., 2012). Son rôle est crucial pour l'acquisition et l'expression d'une sensibilisation locomotrice à l'éthanol (Pastor et al., 2012 ; Pastor et al., 2008). Cette neurohormone induit un comportement d'auto-administration de cocaïne (Blacktop et al., 2016) et de sensibilisation locomotrice à l'éthanol (Roberto et al., 2017 ; Pastor et al., 2012). À l'inverse, l'administration d'antagoniste des récepteurs de la corticolibérine réduit la sensibilisation locomotrice et l'auto-administration induite par la cocaïne par les rats (Uhl et al., 2019 ; Mukhari et al., 2018). La corticolibérine joue aussi un rôle primordial dans les comportements de rechute. Son augmentation durant le sevrage est responsable d'une anxiété associée qui est atténuée par des antagonistes de la corticolibérine (Uhl et al., 2019). Son action sur l'ATV est essentielle à la reprise d'un comportement de recherche de cocaïne (Blacktop et al., 2016). De même, à la suite d'une extinction d'un comportement d'auto-administration de la cocaïne, une administration de corticolibérine dans l'ATV induit une reprise de ce comportement chez le rat (Blacktop et al., 2016). La corticolibérine induit ses effets en se fixant sur ses récepteurs CRF1 et CRF2 mais avec une affinité plus grande pour le CRF1 que pour le CRF2 (Roberto et al., 2017 ; Pastor et al., 2012). Et seul le récepteur CRF1 joue un rôle dans l'addiction aux drogues. En effet, la corticolibérine, en agissant sur les CRF1, induit une sensibilisation locomotrice à l'éthanol (Roberto et al., 2017 ; Pastor et al., 2012 ; Pastor et al., 2008). Ce comportement, réduit par les antagonistes des récepteurs CRF1, est absent chez les souris KO pour les CRF1 (Pastor et al., 2012 ; Pastor et al., 2008). À l'inverse, les souris KO pour les CRF2 développent et expriment normalement une sensibilisation locomotrice à l'éthanol (Pastor et al., 2012 ; Pastor et al., 2008).

Il est à noter que de nombreuses structures cérébrales dont l'amygdale produisent de la corticolibérine. Cette corticolibérine extra-hypothalamique joue un rôle dans l'addiction indépendamment de l'activation ou pas de l'HHS (Uhl et al., 2019 ; Roberto et al., 2017 ; Pastor et al., 2008). En effet, ses taux ne sont pas régulés par le rétrocontrôle négatif des corticoïdes (Uhl et al., 2019). Au contraire, les comportements d'addiction chez les rongeurs (comportement d'auto-administration, conditionnement de préférence de place et sensibilisation locomotrice) sont associés à une augmentation de cette corticolibérine dans l'amygdale, l'ATV et le cortex préfrontal (Uhl et al., 2019 ; Roberto et al., 2010). Bien que la corticolibérine extra-hypothalamique soit importante dans l'addiction aux drogues, son rôle ne sera pas plus commenté. De même, les autres membres de la famille de la corticolibérine telle que l'urocortine qui se fixe aussi sur le CRF1 sans entraîner une

sensibilisation locomotrice à l'éthanol (Pastor et al., 2012 ; Pastor et al., 2008) ne feront pas l'objet d'un paragraphe particulier.

La corticolibérine n'est pas la seule composante de l'axe HHS impliquée dans le processus de l'addiction. Les glucocorticoïdes, particulièrement le cortisol, produits par l'activation de l'HHS jouent un rôle important dans le processus de l'addiction. L'auto-administration de méthamphétamine s'accompagne d'une augmentation de corticostérone (Moffett et Goeders, 2005). Contrairement à la corticolibérine, la libération de corticostérone n'est pas induite directement par l'exposition aux drogues. En effet, l'administration d'éthanol chez des souris DBA/2J KO pour la corticolibérine n'aboutit pas à une augmentation de corticostérone (Pastor et al., 2012). Néanmoins les glucocorticoïdes jouent un rôle certain dans l'addiction. Une administration répétée de corticostérone conduit à l'expression d'une sensibilisation locomotrice à l'éthanol (Pastor et al., 2012). Les glucocorticoïdes agissent, entre autres, en régulant à la hausse la tyrosine hydroxylase. En effet, le stress conduit à une augmentation de tyrosine hydroxylase dans le noyau accumbens (Mukhari et al., 2018). Cet enzyme joue un rôle clé dans la synthèse de la dopamine en assurant la transformation de la L tyrosine en L DOPA qui est l'étape limitante de la synthèse des catécholamines (Mukhara et al., 2018). Concomitamment à cette effet, les glucocorticoïdes régulent à la baisse la mono-amine oxydase (Mukhara et al., 2018). La mono-amine oxydase est une enzyme qui assure le catabolisme des mono-amines telles que les catécholamines et la sérotonine. De la sorte les glucocorticoïdes favorisent l'augmentation des taux des catécholamines en favorisant leur synthèse et en inhibant leur catabolisme. Au final les glucocorticoïdes augmentent la libération de dopamine dans le noyau accumbens (Santos-Rocha et al., 2018). L'administration d'antagonistes aux glucocorticoïdes, telle que la mifepristone, chez les rongeurs bloque l'acquisition de la sensibilisation locomotrice à l'éthanol (Pastor et al., 2012 ; Pastor et al., 2008) et le comportement d'auto-administration de l'éthanol (Uhl et al., 2019). De même, la réduction de la production de glucocorticoïdes, par adrénalectomie, s'accompagne d'une réduction du niveau de base de dopamine et de la capacité de la cocaïne à augmenter la dopamine dans le noyau accumbens (Mukhari et al., 2018). Cet effet est reproduit par l'utilisation de la métyrapone, un inhibiteur de synthèse de la corticostérone (Pastor et al., 2012). Cette surrénalectomie réduit les comportements de sensibilisation locomotrice et d'auto-administration de drogues (Roberto et al., 2017 ; Pastor et al., 2012). Toutefois, les glucocorticoïdes n'influencent pas l'expression de la sensibilisation locomotrice. La métyrapone n'empêche pas l'expression d'une sensibilisation locomotrice à l'éthanol acquise préalablement (Pastor et al., 2012). Bien que les

glucocorticoïdes agissent aussi sur les récepteurs aux minéralocorticoïdes, cet effet ne semble pas jouer un rôle dans l'addiction. En effet, l'administration de la spironolactone, un antagoniste des récepteurs aux minéralocorticoïdes, n'empêche ni l'acquisition ni l'expression de la sensibilisation locomotrice (Pastor et al., 2012).

2.2.6. Autres systèmes

Le système GABAergique est l'une des composantes de l'addiction aux drogues. Les récepteurs GABAergiques A et B sont exprimés sur de nombreux type de neurones dont tous les types de neurones de l'ATV (Blacktop et al., 2016). Les données indiquent que ces récepteurs GABAergiques n'ont aucun effet dans l'acquisition d'un comportement d'auto-administration chez l'animal. En effet, des antagonistes des récepteurs GABA A et GABA B n'ont montré aucun effet inducteur sur l'auto-administration de cocaïne chez le rat (Blacktop et al., 2016). Néanmoins, il a été démontré un rôle du système GABAergique dans la réinstallation par un stress d'un comportement d'addiction après son extinction. Toutefois, cet effet du GABA semble spécifique au GABA B. En effet, l'administration dans l'ATV de la 2-hydroxysaclofen, un antagoniste sélectif des récepteurs GABA B, empêche la réinstallation par le choc électrique d'un comportement d'auto-administration éteint de la cocaïne chez le rat (Blacktop et al., 2016). À l'inverse, l'administration dans l'ATV de la bicuculline, un antagoniste sélectif de GABA A, n'a aucun effet sur la réinstallation par un stress d'un comportement d'auto-administration éteint de cocaïne chez le rat (Blacktop et al., 2016). Cet effet de la 2-hydroxysaclofen bloque également la réinstallation par la corticolibérine d'un comportement éteint d'auto-administration de cocaïne (Blacktop et al., 2016).

Les modèles animaux de l'addiction aux substances d'abus s'accompagnent d'une stimulation de l'activité glutamatergique (Uhl et al., 2019). L'activation des récepteurs glutamatergiques NMDA participe dans la transition de la décharge tonique vers une décharge phasique des neurones dopaminergiques (Stelly et al., 2016). L'administration de MK-801, un antagoniste des récepteurs NMDA, bloque la sensibilisation locomotrice à l'éthanol chez les rongeurs. Les récepteurs glutamatergiques jouent aussi un rôle dans le craving, le sevrage et la rechute, particulièrement la rechute secondaire à un stress (Abraham et al., 2013). Une élévation des taux de glutamate dans l'ATV est observée lors de la réinstallation par le stress d'un comportement d'auto-administration de cocaïne et d'héroïne (Blacktop et al., 2016). Comme cela a été expliqué plus haut, la corticolibérine agit sur

l'ATV en augmentant la libération du glutamate (Blacktop et al., 2016). Une injection dans l'ATV d'un antagoniste des récepteurs glutamatergiques AMPA et NMDA, tel que l'acide kynurénique, empêche la réinstallation par le stress d'un comportement d'auto-administration de cocaïne et d'héroïne malgré une élévation de dopamine (Blacktop et al., 2016).

Le système adrénergique est aussi impliqué dans l'addiction. La prazosine, un antagoniste des récepteurs adrénergiques alpha 1 ($\alpha 1$), atténue le comportement d'auto-administration de l'alcool, de la cocaïne et de l'héroïne (Logrip et al., 2012). Un effet similaire est observé avec les antagonistes des récepteurs adrénergiques bêta (β). Le propranolol, un antagoniste des récepteurs $\beta 1$ et $\beta 2$, réduit le comportement d'auto-administration de l'alcool et la reprise d'auto-administration de la nicotine induite par les stimuli qui leur sont associés (Logrip et al., 2012 ; Chiamulera et al., 2010). La prazosine et le propranolol réduisent les effets du sevrage à la nicotine (Logrip et al., 2012). Toutefois leurs effets sur le sevrage ne sont pas du même registre. La prazosine réduit les symptômes affectifs du sevrage à la nicotine tandis que le propranolol atténue plutôt les symptômes physiques du sevrage. Les effets des antagonistes des récepteurs adrénergiques $\alpha 1$ et β concordent avec ceux des agonistes des autorécepteurs $\alpha 2$. La stimulation de ces autorécepteurs conduit à une réduction de libération de noradrénaline. Les agonistes des récepteurs adrénergiques $\alpha 2$ réduisent les symptômes somatiques de nombreuses drogues (Logrip et al., 2012).

Le système des opioïdes endogènes avec les enképhalines, les endorphines et la dynorphine, joue aussi un rôle à travers ses récepteurs delta, kappa, mu et nociceptine/orphanine (Uhl et al., 2019 ; Maldonado, 2010). L'activation des récepteurs kappa par les opioïdes agonistes réduit les taux de dopamine extracellulaire dans le noyau accumbens (Uhl et al., 2019). Les opiacés augmentent la libération de la dopamine en se fixant sur les récepteurs mu et delta du noyau accumbens, ou en inhibant l'activité GABAergique de l'ATV par fixation sur leurs récepteurs mu (Maldonado, 2010). La naloxone, la naltrexone et la naloxonazine, des antagonistes des récepteurs mu, diminuent le conditionnement de préférence de place à la cocaïne (Maldonado, 2010). Néanmoins les effets des opioïdes sont complexes. L'injection de naltrindole au niveau de l'ATV augmente l'auto-administration de la cocaïne alors que dans le noyau accumbens cela diminue ce comportement (Maldonado, 2010). De nombreuses études continuent de décrypter le rôle des opioïdes dans l'addiction aux drogues.

2.2.7. Aspects génétiques et épigénétiques

Tous les sujets ne présentent pas la même vulnérabilité au pouvoir addictogène des drogues. Seule une faible proportion de consommateurs de drogues fera la transition vers l'addiction (Marel et al., 2019 ; Maldonado, 2010). Il existe donc une forte variabilité individuelle. Des facteurs génétiques contribuent pour une grande part dans cette variabilité entre les sujets. En effet, la génétique joue un rôle crucial dans l'addiction aux drogues (Uhl et al., 2019 ; Abrahao et al., 2013 ; Maldonado, 2010). Néanmoins l'addiction est plus une condition liée à l'interaction entre la constitution génétique et l'environnement dans lequel vit le sujet (Uhl et al., 2019 ; Maldonado, 2010). Ainsi, des études démontrent le rôle de l'épigénétique dans la transition vers l'addiction aux drogues. La consommation chronique de drogues aboutie à des changements épigénétiques durables au niveau du cerveau. L'addiction à la cocaïne est associée aux phénomènes d'acétylation, de phosphorylation et de méthylation des histones dans la chromatine (Anderson et al., 2018). Toutefois, malgré leur rôle dans l'addiction, les aspects génétiques et épigénétiques ne seront plus abordés dans le présent travail.

2.3. Modèles animaux de l'addiction aux drogues

Il existe de nombreux modèles animaux utilisés pour étudier l'addiction aux drogues. Chacun de ces modèles analyse une de ses facettes (García Pardo et al., 2017 ; Koob et Volkow, 2016). Ainsi par exemple, certains modèles se focalisent sur la composante hédonique, d'autres sur la composante récompense et d'autres encore sur l'aspect motivationnel de l'addiction (García Pardo et al., 2017 ; Koob et Volkow, 2016). En effet, l'addiction étant un phénomène complexe, il n'existe à ce jour aucun modèle animal qui prenne en compte toutes ses facettes (García Pardo et al., 2017 ; Koob et Volkow, 2016 ; Eisener-Dorman et al., 2011). Les lignes suivantes se limiteront à décrire brièvement les principaux modèles utilisés pour étudier la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues. Les autres modèles conçus pour étudier les phénomènes d'extinction, de rechute, du processus de reconsolidation et de la motivation à consommer malgré la punition, ne seront pas discutés.

2.3.1. Test de conditionnement de préférence de place

Le test de préférence de place conditionnée est un modèle qui évalue la mémoire des effets plaisants de l'addiction à une substance (García Pardo et al., 2017 ; Rademacher et al., 2015 ; Eisener-Dorman et al., 2011). En effet, ce modèle est basé sur le conditionnement pavlovien qui consiste à apparier un stimulus, dans ce cas une drogue, avec un environnement donné (Eisener-Dorman et al., 2011).

Le test de préférence de place conditionnée se déroule dans une chambre de conditionnement comprenant deux compartiments séparés par un compartiment intermédiaire, une sorte de sas d'entrée (Taylor et al., 2016 ; Rademacher et al., 2015 ; Figure 2.4). Les deux compartiments constituent des environnements distincts par leurs textures, leurs senteurs et/ou leurs motifs. Le test de préférence de place conditionnée se déroule généralement en trois phases (Eisener-Dorman et al., 2011 ; Bernardi et Lattal, 2010). Il débute par une phase de pré-conditionnement ou habituation. Cette phase permet de réduire le stress lié à la nouveauté (Eisener-Dorman et al., 2001). L'animal est placé dans le compartiment intermédiaire et peut librement explorer les deux autres compartiments. À ce stade, des critères d'inclusion à l'étude sont proposés. Ces critères sont basés sur les comportements des animaux. Ainsi par exemple, la différence de temps passé dans ces deux compartiments ne doit pas être supérieure ou égale à 15% ou alors ne doit pas être significative (Stelly et al., 2016 ; Rademacher et al., 2015). Les animaux qui ne répondent pas à cette exigence sont éliminés (Rademacher et al., 2015). Cette phase permet d'obtenir le niveau de préférence initial que représente le temps passé dans le compartiment qui sera apparié à la drogue.

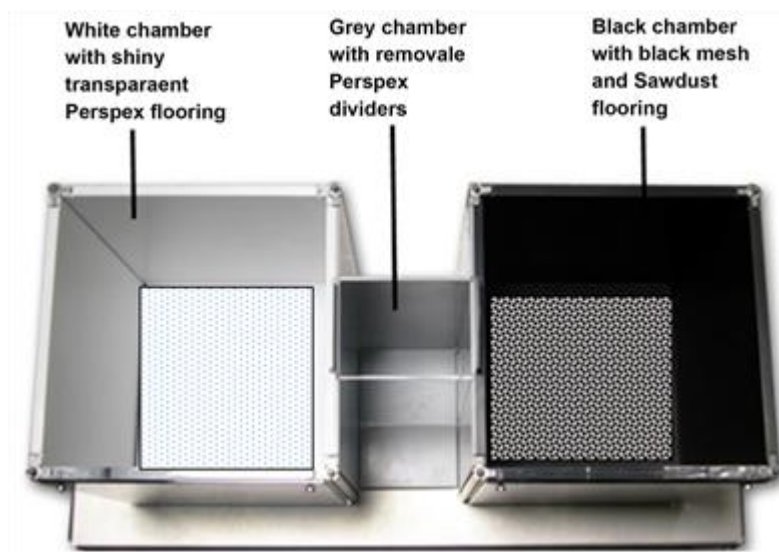


Figure 2.4. Chambres de conditionnement de préférence de place (Webber-Waugh et al., 2017)

La deuxième phase du test de préférence de place conditionnée constitue le conditionnement proprement dit (Bernardi et Lattal, 2010). Un jour sur deux ou deux fois par jour, matin et après-midi ou soir, et de manière alternée, afin d'éviter de créer une habitude, les animaux reçoivent du sérum salin 0,9% ou une drogue dans le compartiment approprié. Plutôt que le moment de la journée, il s'agit surtout d'éviter de reporter l'effet de la drogue dans l'autre compartiment (Taylor et al., 2016). Certains auteurs attribuent aux animaux le box non préféré comme celui dans lequel ils recevront la drogue et le box préféré comme celui dans lequel ils recevront le sérum salin (Taylor et al., 2016). Après l'injection, l'animal reste confiné dans le compartiment sans accès à l'autre compartiment. La position et les différentes activités des animaux sont enregistrées durant tout le temps qu'ils passent dans les chambres de conditionnement (Taylor et al., 2016 ; Rademacher et al., 2015 ; Eisener-Dorman et al., 2011). Cette période de conditionnement dure quelques jours (Eisener-Dorman et al., 2011). Le test de préférence de place conditionnée se déroule le dernier jour. L'animal est placé dans le compartiment intermédiaire. Il a libre accès aux deux compartiments. La préférence du compartiment est évaluée par la différence des temps passés dans le compartiment apparié à la drogue du dernier jour et du premier jour (Taylor et al., 2016). Elle peut aussi être évaluée en comparant les temps passés dans les deux compartiments, celui apparié à la drogue et celui apparié à l'injection du sérum salin (Macedo et al., 2018).

Le test de préférence de place conditionnée est un paradigme qui présente comme avantages une faible durée et une simplicité d'exécution, particulièrement en comparaison avec les protocoles d'auto-administration (Eisener-Dorman et al., 2011).

2.3.2. Technique d'auto-administration

Le modèle d'addiction par auto-administration repose sur le conditionnement skinnerien. La grande majorité de drogues sont auto-administrées par l'animal (Garcia-Prado et al., 2017 ; Taylor et al., 2016). Les drogues peuvent être auto-administrées par voie orale ou par voie intraveineuse. Le protocole de l'auto-administration se déroule dans une chambre de conditionnement opérant (figure 2.5). Cette chambre comporte, généralement, deux leviers. L'appui sur un des deux leviers, dit actif, délivre la drogue. Cette délivrance est pairée à un bref stimuli tel qu'une lumière, au dessus du levier actif, ou un son (Taylor et al., 2016). À l'inverse, l'appui de l'autre levier, dit inactif, n'est suivi

d'aucun effet. L'animal apprend ainsi à produire une réponse opérante afin de bénéficier d'une récompense. La drogue est utilisée comme renforçateur d'un comportement d'addiction, l'appui du levier. La procédure d'acquisition d'un comportement d'auto-administration peut s'étaler sur plusieurs jours ou semaines (Taylor et al., 2016). L'auto-administration est considérée comme acquise lorsqu'un certain nombre prédéterminé d'appuis ou d'infusions de drogues est acquis (Taylor et al., 2016).

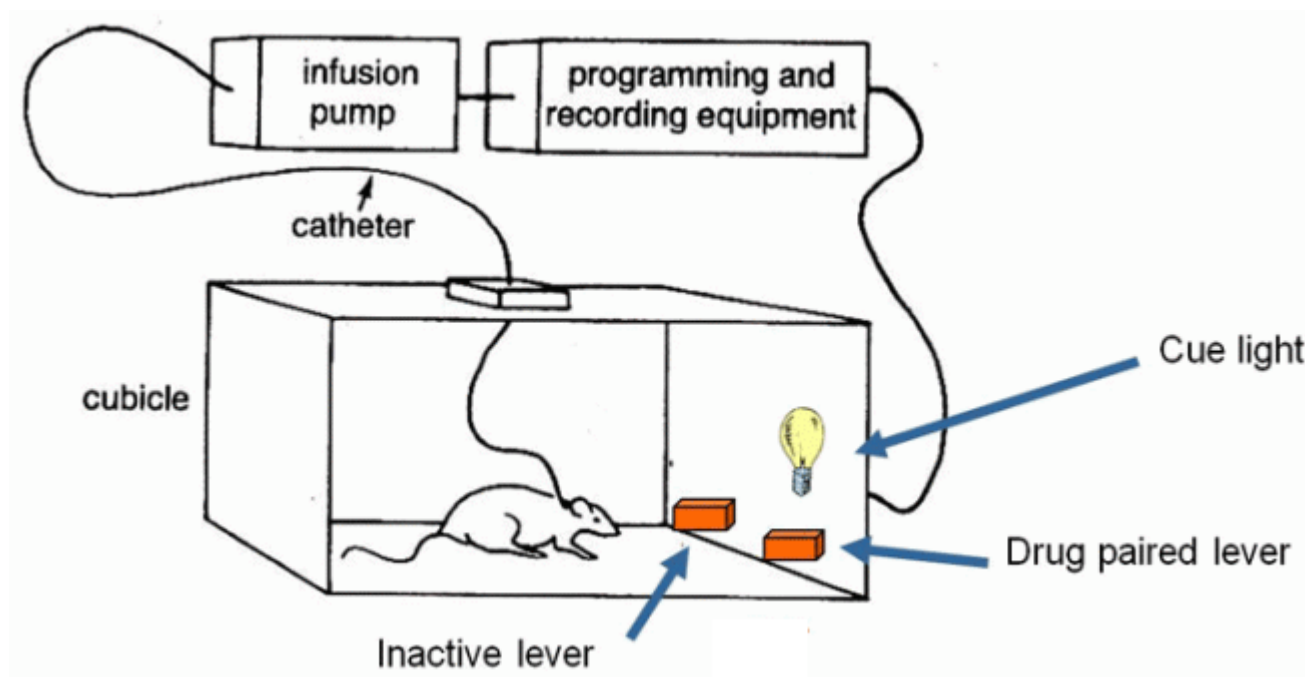


Figure 2.5. Schéma de la technique de l'auto-administration (adaptée de la page <https://drsimonsaysscience.org/2015/03/>)

Il existe de nombreux régimes de renforcement de l'auto-administration afin de prendre en compte la motivation à consommer, une des caractéristiques de l'addiction aux drogues, par un comportement de recherche active de la substance psychoactive. Les trois régimes les plus souvent utilisés sont la procédure du ratio fixe, la procédure de l'intervalle fixe et la procédure du renforcement progressif. Dans la procédure du ratio fixe, l'animal doit atteindre un nombre d'appui prédéterminé avant de pouvoir recevoir la dose de la drogue. Dans la procédure de l'intervalle fixe, un certain temps prédéterminé doit s'écouler avant qu'une autre dose de la drogue puisse être délivrée (Taylor et al., 2016). Dans la procédure de renforcement progressif il y a une augmentation progressive du nombre d'appuis sur le levier actif nécessaire pour obtenir la drogue. Les nombres d'appuis requis sont prédéterminés par une formule mathématique ayant pour formule « $5Xe^{(\text{nombre d'infusion} \times 0,2)} - 5$ », soit la suite suivante 1-2-4-6-9-12-15-20-25-32-40-50-62-77-95-118-145-178 ... (Taylors et al., 2016 ;

Covington et Miczek, 2005). Le point d'arrêt est atteint lors que l'animal n'appuie plus sur le levier actif durant une durée pré-déterminée (Taylor et al., 2016 ; Covington et Miczek, 2005). Les sessions de renforcement progressif peuvent durer plusieurs heures. Pour la cocaïne elles peuvent durer jusqu'à 10 à 16 heures (Taylor et al., 2016 ; Covington et Miczek, 2005). En effet, les rats montrent une consommation régulière jusqu'à 10 à 16 heures d'accès à la cocaïne (Covington et Miczek, 2005). Au delà de cette durée, la grande majorité des rats arrêtent de s'auto-administrer de la cocaïne (Covington et Miczek, 2005).

L'auto-administration par la voie orale est écologiquement plus proche de la consommation humaine de nombreuses drogues. Néanmoins, cette technique rencontre une difficulté de taille, le goût de ces substances. Certains animaux présentent une aversion pour le goût de nombreuses substances psychoactives. Induire un comportement d'auto-administration orale nécessite d'abord de contourner leur aversion pour ces substances. Plusieurs techniques sont utilisées à cette fin. Il s'agit notamment de l'utilisation des procédures destinées à édulcorer le goût de ces substances ou de l'administration de drogues par voie intra-gastrique (Castelló et al., 2017 ; Broadwater et Spear, 2013). L'auto-administration par voie intraveineuse est une procédure moins écologique que l'auto-administration par voie orale. L'appui du levier actif conduit à la libération de la substance psychoactive directement dans une veine à travers un cathéter. Elle nécessite donc une intervention chirurgicale préalable afin de poser un cathéter à demeure. Cela implique un suivi post-opératoire assurant un traitement comprenant un antibiotique, un produit hépariné et parfois des anti-inflammatoires (Taylor et al., 2017).

2.3.3. Sensibilisation locomotrice aux effets stimulants des drogues

La sensibilisation locomotrice induite par les drogues est un phénomène qui a été découvert fortuitement dans les années 1930 mais sa portée n'a commencé à s'éclaircir que vers la fin du 20^{ème} siècle. Elle est largement acceptée comme modèle animal de la recherche compulsive de substances d'abus (Robinson et Berridge, 1993). La sensibilisation locomotrice, contrairement à la tolérance, consiste en une relation dose-effet qui déplace la courbe vers le haut ou la droite. Soit que l'administration répétitive d'une dose donnée produit un effet plus important avec le temps (Didone et al., 2016a ; Didone, 2014 ; Figure 2.6). Soit que l'administration répétitive d'une dose donnée permet l'émergence des effets qui ne s'observent qu'à des doses plus élevées d'une substance. C'est

ainsi qu'elle a été qualifiée à tort de tolérance inverse (Didone, 2014). En effet, sans entrer dans les détails, cette qualification n'est pas correcte car les mécanismes impliqués dans ces deux phénomènes sont différents.

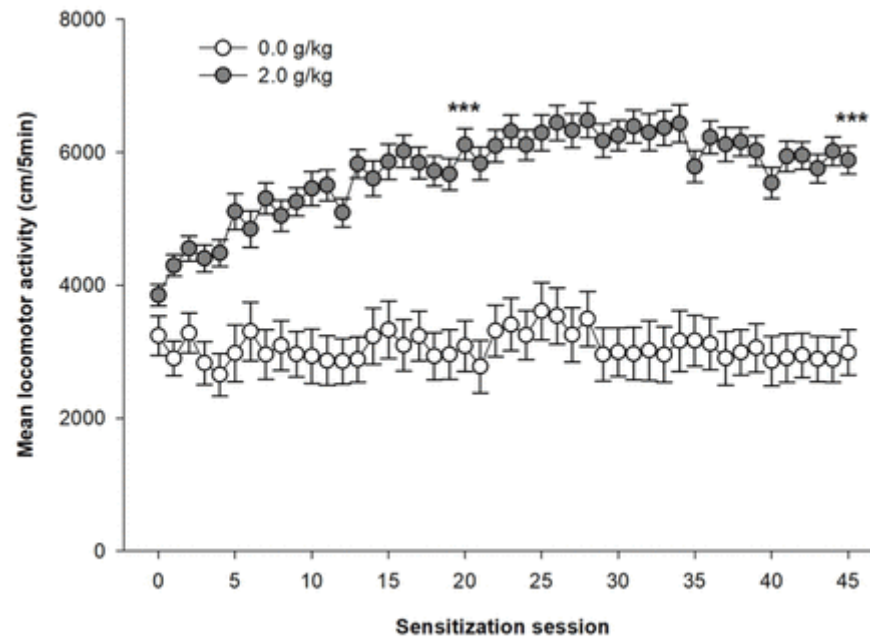


Figure 2.6. Sensibilisation locomotrice à l'éthanol administré quotidiennement durant 45 jours à la dose de 2 g/kg chez la souris DBA/2J (Didone et al., 2019).

La sensibilisation locomotrice comporte deux phases, l'acquisition (induction ou développement) et l'expression. Les mécanismes neurobiologiques sous-tendant ces deux phases ne sont pas identiques (Pastor et al., 2012). Ainsi par exemple la corticolibérine joue un rôle crucial dans l'expression mais semble ne pas être nécessaire dans l'acquisition de la sensibilisation (Pastor et al., 2012). La phase d'acquisition correspond à l'installation de modifications neuronales induites par une drogue (Didone, 2014). La phase d'expression correspond à une installation durable des altérations neurobiologiques liées à la consommation chronique d'une drogue (Didone, 2014). L'expression de la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants d'une drogue peut être évaluée de trois façons différentes mais complémentaires. La première consiste à évaluer l'activité locomotrice de la dernière session de la procédure de sensibilisation locomotrice aux effets stimulants des drogues. C'est le comportement sensibilisé qui est une mesure intergroupes de la sensibilisation locomotrice. La seconde consiste à comparer, par une différence ou un rapport, les activités locomotrices de la dernière session et de la première session d'exposition à une drogue. Nous l'appelons le delta scores qui est une mesure intra-sujets de la sensibilisation locomotrice. La dernière façon consiste à comparer l'activité locomotrice

des animaux traités chroniquement à des animaux naïfs exposé pour la première fois à la drogue. C'est aussi une mesure intergroupes de la sensibilisation locomotrice. La procédure de cette sensibilisation locomotrice utilisée dans cette recherche est décrite dans la partie méthodologie.

De nombreux facteurs modulent l'installation d'une sensibilisation locomotrice. Il s'agit entre autres, de la dose (Stevenson et al., 2008 ; Didone et al., 2008), du sexe, de l'âge (Uhl et al., 2019; Stevenson et al., 2008), de l'environnement, de la souche/espèce (Boehm II et al., 2008) et de la modalité d'administration d'une drogue. Certains de ces facteurs seront passés en revue dans les paragraphes ci-dessous. Nous nous limiterons aux facteurs qui présentent une relation directe avec la présente recherche.

La sensibilisation locomotrice est un phénomène défini par une augmentation graduelle de l'activité locomotrice des animaux à la suite d'une exposition répétée d'une même dose d'une drogue (Didone et al., 2016a ; Didone et al., 2016b ; Abrahao et al., 2013 ; Pastor et al., 2012 ; Stevenson et al., 2008 ; Zapata et al., 2003). La dose de la drogue est un facteur important aux côtés d'autres facteurs dans le processus de la sensibilisation locomotrice (Stevenson et al., 2008). En effet, la littérature montre qu'il existe un seuil en dessous duquel le processus de sensibilisation ne s'acquière pas. Pour l'alcool des chercheurs ont montré chez la souris que des doses inférieures à 1,5 ou 2 g/kg n'induisent pas une sensibilisation locomotrice (Didone et al., 2008 ; Stevenson et al., 2008). Aux doses élevées, supérieures à 2,5 g/kg, la sensibilisation locomotrice ne se développe pas car masquée par le phénomène de la sédation (Brabant et al., 2014 ; Didone et al., 2008). Les souris qui sont moins sensibles aux effets sédatifs de l'alcool exhibent une sensibilisation locomotrice plus élevée que les souris qui sont sensibles aux effets sédatifs de l'alcool (Brabant et al., 2014). Néanmoins les souris soumises à des fortes doses expriment une sensibilisation locomotrice lors de l'administration de plus faibles doses (Didone et al., 2008). Outre la sédation, les stéréotypies peuvent aussi masquer la sensibilisation locomotrice (Robinson et Berridge, 2008). Les stéréotypies sont des comportements anormaux qui apparaissent habituellement lors de l'utilisation de doses élevées des substances psychostimulantes comme la cocaïne et les amphétamines. Elles se caractérisent par une augmentation de l'activité locomotrice non accompagnée d'un déplacement linéaire d'un point à un autre (Brabant et al., 20014). L'effet de la dose ne se confine pas simplement à la quantité de drogues dans le sang. Les souris qui sensibilisent et celles qui ne sensibilisent pas à l'éthanol présentent la même alcoolémie (Pastor et al., 2012; Boehm II et al., 2008). Avec une alcoolémie et une clearance à l'éthanol

identiques, les souris DBA/2J adultes sensibilisent à la dose de 2 g/kg alors que les souris DBA/2J adolescentes ne sensibilisent pas (Stevenson et al., 2008). Les souris DBA/2J sensibilisées à l'éthanol présentent la même alcoolémie que les souris DBA/2J qui reçoivent l'éthanol pour la première fois (Boehm II et al., 2008). La sensibilisation aux effets stimulants de drogues ne s'explique donc pas par une modification de leur pharmacodynamie. Elle ne résulte pas d'une accumulation de ces substances ni de leurs métabolites (Quadros et al., 2005). Les souris DBA/2J éliminent totalement la dose d'éthanol de 2 g/kg en moins de 3 heures (Stevenson et al., 2008), les rats Sprague-Dawley, quant à eux, éliminent 1 mg/kg d'amphétamine en 4 heures (Rademacher et al., 2015). D'ailleurs l'élimination de l'éthanol s'accélère d'ailleurs au fil des jours (Stevenson et al., 2008).

La sensibilisation est un processus fortement influencé par l'environnement dans lequel la drogue est administrée (Didone et al., 2016a). En effet, l'environnement est un facteur qui favorise ou inhibe l'acquisition de la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de drogues. La sensibilisation à la cocaïne est meilleure lorsque tout le processus se déroule dans le même environnement (Didone et al., 2016a). Une familiarité préalable au contexte ne perturbe pas le processus de sensibilisation à la cocaïne (Didone et al., 2016a). Par contre les rongeurs expriment peu ou pas de sensibilisation à la cocaïne lorsqu'ils sont testés dans un environnement différent de celui dans lequel ils ont été sensibilisés à ses effets stimulants (Didone et al., 2016a). Néanmoins, pour certaines substances, tel que l'éthanol, le lieu d'administration importe beaucoup moins (Didone et al., 2016a). En effet les rongeurs expriment une sensibilisation locomotrice identique quel que soit le lieu où ils ont reçu l'éthanol. Toutefois, une familiarité préalable avec la chambre de testing prévient l'expression de la sensibilisation locomotrice à l'éthanol (Garcia et al., 2017 ; Didone et al., 2016a ; Boehm II et al., 2008). La durée de persistance de la sensibilisation locomotrice est influencée par l'environnement. Habituellement, elle dure quelques jours à quelques semaines pour l'alcool mais plusieurs mois ou années pour la cocaïne (Boehm II et al., 2008). Le pairage avec le contexte prolonge la durée de la sensibilisation locomotrice à l'éthanol (Boehm II et al., 2008). Les conditions d'hébergement des rongeurs constituent aussi un aspect environnemental. Il a été démontré que les conditions d'hébergement influencent la sensibilisation locomotrice. Les souris hébergées isolément ou par paires exhibent une sensibilisation locomotrice plus importante que les souris hébergées à plusieurs (Garcia et al., 2017). L'enrichissement du milieu d'hébergement influe négativement sur la sensibilisation locomotrice. Les souris élevées dans des cages enrichies ne sensibilisent pas ou sensibilisent moins que les souris élevées dans des cages non enrichies (Garcia et al., 2017). Cet effet

est plus marqué pour des faibles doses des psychostimulants (Garcia et al., 2017). Les manipulations des animaux durant leur hébergement influencent aussi sur la sensibilisation locomotrice. Les animaux souvent manipulés ne sensibilisent pas à l'éthanol ou moins que les animaux moins souvent manipulés (Garcia et al., 2017).

Plusieurs autres facteurs jouent un rôle de premier plan dans la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants des drogues. Le sexe est l'un de ces facteurs. La sensibilisation locomotrice est plus marquée pour les rongeurs femelles que pour les mâles (Boehm II et al., 2008). L'âge des rongeurs au moment de la sensibilisation joue un rôle non négligeable. Ainsi par exemple, les souris adolescentes sont plus sensibles que les souris adultes aux effets aigus de l'éthanol (Stevenson et al., 2008). À l'inverse contrairement aux adultes, ils n'expriment la sensibilisation locomotrice qu'aux doses élevées de 2,5 g/kg alors que les souris adultes l'expriment déjà à partir de doses plus faibles de 1,5 g/kg (Stevenson et al., 2008). L'espèce, et dans une espèce la souche, est un des facteurs qui influencent la sensibilisation locomotrice (Boehm II et al., 2008). Les souris sont réputées meilleures pour la sensibilisation locomotrice que les rats. Chez les souris, toutes ne sensibilisent pas de la même manière. Ainsi par exemple la souris C57 exprime peu ou pas du tout une sensibilisation locomotrice à l'éthanol (Didone, 2014).

La sensibilisation locomotrice aux effets stimulants des drogues est une procédure qui est le mieux expliquée par la théorie de la sensibilisation motivationnelle induite par les drogues ainsi que les stimuli qui leur sont associés. Ce n'est qu'un comportement moteur parmi plusieurs qui peuvent être sensibilisés par les drogues. Elle est considérée comme une mesure indirecte de la sensibilisation neuronale qu'elle reflète (Pastor et al., 2012 ; Robinson et Berridge, 2008).

2.4. Limites des modèles animaux de l'addiction aux drogues

Hormis les limites translationnelles à l'homme, les modèles animaux d'addiction présentent de nombreuses limitations. L'une des principales limites des modèles d'auto-administration et de conditionnement de la préférence de place conditionnée consiste en ce qu'ils ne miment pas nécessairement l'addiction chez l'homme (Robinson et Berridge, 2008). Il est connu que l'auto-administration en accès limité ne permet pas de produire des symptômes d'addiction chez l'animal (Robinson et Berridge, 2008). Ces modèles ne permettent donc pas toujours de différencier un

comportement addictif d'un comportement de consommation récréative. Particulièrement pour l'auto-administration, il n'est même pas certains que les procédures conduisent à des intoxications aiguës aux drogues. Pour la suite, nous ne nous attarderons pas aux limites de ces deux modèles d'addiction même si ces deux paradigmes pourraient avoir un meilleur profil écologique que la sensibilisation locomotrice. En effet, la sensibilisation locomotrice est l'un des paradigmes d'addiction les moins écologiques. La comparaison est très criante avec notamment les modèles d'auto-administration orale de drogues. Néanmoins, cette faiblesse est compensée par le fait que la sensibilisation aux effets stimulants de drogues permet un meilleur contrôle des conditions expérimentales (Robinson et Berridge, 2008). De plus, chez les rongeurs bons répondants aux trois modèles animaux d'addiction, la sensibilisation locomotrice conduit à l'acquisition et à l'expression de l'auto-administration et du conditionnement de préférence de place (Robinson et Berridge, 2008) même après plusieurs jours de sevrage (Abraham et al., 2013). Chez les souris, elle peut même atténuer l'aversion pour l'éthanol (Lessov et al., 2001b). L'inverse n'est cependant pas toujours vrai. Il a été démontré que les rats soumis à des protocoles d'auto-administration de la cocaïne avec un accès limité à 1 heure n'expriment pas une sensibilisation locomotrice (Robinson et Berridge, 2008 ; Ferrario et al., 2005). À l'inverse, un accès étendu conduit à l'expression d'une sensibilisation locomotrice à la cocaïne (Robinson et Berridge, 2008 ; Ferrario et al., 2005).

Comme tous les autres modèles animaux d'addiction, la sensibilisation locomotrice présente aussi des limites. L'un des reproches les plus fréquents à l'encontre de la sensibilisation locomotrice est qu'elle n'est pas observée chez l'homme (Pastor et al., 2012 ; Boehm II et al., 2008 ; Robinson et Berridge, 2008). Ce reproche n'est pas le propre de ce modèle animal. En effet les résultats obtenus avec n'importe quel autre modèle animal d'addiction ne peuvent être directement extrapolés à l'homme. Néanmoins, de nombreux chercheurs publient des résultats en faveur de l'existence de la sensibilisation locomotrice chez l'homme (Pastor et al., 2012). Des études chez l'homme montrent que la consommation de substances d'abus s'accompagne d'une stimulation de l'activité locomotrice. Des études sont en cours de réalisation pour tenter de faire le lien entre la sensibilisation locomotrice et la sensibilisation motivationnelle chez l'homme (Brabant et al., 2014). Ce vaste sujet ne sera pas abordé dans le présent chapitre. Un autre reproche fait à ce modèle est que l'addiction chez l'homme est un long processus qui s'étale sur plusieurs années. La sensibilisation locomotrice par contre peut apparaître 4 à 5 jours après le début d'administration de la drogue. Certains auteurs parlent même de sensibilisation locomotrice après l'administration d'une seule dose d'une substance d'abus (Berridge

et Robinson, 2016 ; Valjent et al., 2010 ; Stevenson et al., 2008). Néanmoins, ces protocoles d'une seule administration correspondent plus aux effets aigus de drogues qui représentent la première étape vers une addiction. Toutefois les effets aigus et chroniques des drogues font intervenir des mécanismes différents (Pastor et al., 2012). En effet, les effets moteurs de l'exposition aiguë à une drogue ne prédisent pas l'expression de la sensibilisation. Il n'existe aucune corrélation entre l'amplitude de la réponse aiguë et l'expression de la sensibilisation locomotrice (Stevenson et al., 2008). Il est aussi reproché à la sensibilisation locomotrice que l'administration forcée de drogues par un expérimentateur n'est pas écologique (Robinson et Berridge, 2008 ; Zapata et al., 2003). Le degré de contrôle de consommation d'une substance d'abus a un impact certain sur la magnitude des effets des drogues (Zapata et al., 2003). Les animaux ne fournissent aucun effort, dans le sens d'un comportement compulsif, pour obtenir la drogue. De plus, contrairement à l'homme, la dose ingérée est toujours la même. Des protocoles de recherches chez l'homme utilisent parfois l'administration par un expérimentateur ou l'auto-administration de drogues par voie intraveineuse pour certaines substances naturellement consommées par d'autres voies. Bien que peu écologiques, ces protocoles fournissent de précieux renseignements sur les processus de l'addiction aux drogues. Ainsi un bon modèle d'addiction chez l'animal est celui qui reproduit les comportements et les altérations neurobiologiques de l'addiction chez l'homme quel que soit le mode d'exposition à la drogue (Robinson et Berridge, 2008).

Une des faiblesses de la sensibilisation vient du fait que c'est une mesure indirecte de la sensibilisation neurale. Comme expliqué plus haut, elle peut être masquée par les stéréotypies et les effets sédatifs des drogues (Didone et al., 2014 ; Robinson et Berridge, 2008). Particulièrement pour les stéréotypies, ces mouvements anormaux sont l'expression d'une forte sensibilisation neuronale avec participation de la voie dopaminergique nigro-striée (Robinson et Berridge, 2008). La seule utilisation de la sensibilisation locomotrice comme reflet de la sensibilisation neuronale peut dans certaines circonstances conduire à des conclusions erronées (Robinson et Berridge, 2008). Ceci arrive particulièrement dans l'interprétation des résultats négatifs (Robinson et Berridge, 2008). Flagel et Robinson (2007) ont montré qu'à une certaine dose de cocaïne, les groupes n'exprimaient plus de différences dans leur sensibilisation locomotrice alors que la vitesse de locomotion et les stéréotypies étaient plus élevées dans le groupe ayant reçu la plus grande dose. Eagle et Perrine (2013) ont fait le même constat avec la méthamphétamine. Ils ont démontré qu'un groupe de rats n'avait pas exprimé

une sensibilisation locomotrice à cause des stéréotypies. À l'inverse des résultats négatifs, les résultats positifs peuvent être interprétés tels quels (Robinson et Berridge, 2008).

2.5. Conclusion

L'addiction aux drogues est une condition chronique qui implique une perte de contrôle associée à de multiples échecs aux tentatives d'arrêt malgré les nombreuses conséquences négatives. Elle implique de nombreux systèmes et structures qui interagissent entre eux. Les théories classiques de renforcements positif et négatif des substances d'abus ont constitué les premières explications de l'addiction aux drogues. Selon elles, les sujets vulnérables sont prisonniers des drogues, piégés au départ par le plaisir qui les attire et maintenus dans l'addiction par le déplaisir lié au sevrage. Ces explications simplistes et lacunaires ont suscité l'élaboration de théories beaucoup plus complexes dont celle de la sensibilisation motivationnelle. Cette théorie place la sensibilisation motivationnelle au cœur de l'addiction qui est considéré essentiellement comme un trouble du « wanting ». Au fil de l'exposition à une substance d'abus celle-ci est de plus en plus désirée au détriment de toute autre chose. Toutes ces théories ont conduit à l'élaboration des modèles animaux parmi lesquels les théories de l'auto-administration, du conditionnement de préférence de place et de la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants des drogues. Malgré leurs nombreuses limites, ces modèles ont permis des avancées importantes dans la compréhension de l'addiction aux drogues. Dans la présente recherche la sensibilisation locomotrice est le modèle d'addiction qui servira à étudier les relations entre l'addiction et le TSPT.

Chapitre 3

Théories et modèles animaux du trouble de stress posttraumatique

Le TSPT est une affection connue de longue date. En dépit d'importantes avancées dans la compréhension de cette affection, des zones d'ombres persistent (Reznikov et al., 2015). Ces dernières rendent compte de la nécessité des modèles animaux pour améliorer la compréhension de cette débilite condition (Reznikov et al., 2015). Ce chapitre fait une brève revue des études animales consacrées au TSPT.

3.1. Théories du TSPT

La survenue du TSPT est expliquée par plusieurs mécanismes qui peuvent être répartis en deux groupes. Pour certains auteurs, le TSPT est la conséquence d'une réponse inappropriée à un stress intense (Grant et al., 2016 ; Edwards et al., 2013). Pour d'autres auteurs par contre, le TSPT est la conséquence d'un déficit des mécanismes d'extinction d'un stress (Luikinga et al., 2019 ; Grant et al., 2016 ; Reznikov et al., 2015 ; Edwards et al., 2013 ; Bernardi et Lattal, 2010). Les premiers auteurs s'appuient sur le conditionnement à la peur pour étayer leur réflexion (Edwards et al., 2013). Les seconds eux s'appuient sur le conditionnement à la sécurité (Kong et al., 2014).

3.1.1. Conditionnement à la peur

Le conditionnement à la peur, est le principal paradigme utilisé dans la compréhension du TSPT (Kida, 2019 ; LeDoux, 2000). C'est un conditionnement pavlovien qui transforme un stimulus neutre en un stimulus aversif conditionné (Kida, 2019 ; Richter-Levin et al., 2019 ; Ganella et Kim, 2014 ; Wood et al., 2007). Il se fait par un apprentissage associant un stimulus neutre à un stimulus aversif. Le stimulus neutre est constitué par un stimulus simple, tel qu'un son, ou par un stimulus complexe, tel

qu'un contexte. Le stimulus aversif, dit stimulus inconditionnel, est par exemple l'odeur ou la présence d'un prédateur, le contact avec un congénère violent ou un choc électrique. Contrairement au stimulus neutre qui ne produit aucune réponse particulière, le stimulus inconditionnel produit toujours une réponse appelée réponse inconditionnelle. L'association du stimulus inconditionnel avec le stimulus neutre donne à ce dernier la capacité d'induire un comportement de peur. Le stimulus neutre se mue alors en un stimulus conditionné. Et la réponse que suscite le stimulus conditionné est dite réponse conditionnée. Chez les rongeurs les réponses conditionnées les plus étudiées sont le sursaut et l'immobilisation ou le « freezing » (Ganella et Kim, 2014). Le freezing est défini comme l'absence de mouvements autres que respiratoires (Roelofs, 2017 ; Ganella et Kim, 2014 ; Siegmund et Wotjak, 2007a ; Siegmund et Wotjak, 2007b). Plus généralement, toute autre réponse suscitée par le stimulus conditionné est une réponse conditionnée. Elle n'est pas forcément celle qui s'exprime lors de l'exposition au stimulus inconditionnel.

Le conditionnement à la peur est un processus fortement tributaire de l'amygdale, de l'hippocampe et du cortex préfrontal (Chaaya et al., 2018 ; Chang et Liang, 2017 ; Sanders et al., 2003). L'amygdale avec ses nombreux noyaux et ses multiples connexions joue un rôle clé. Il constitue un important modulateur de la peur. Il contrôle les comportements de sursaut, d'immobilisation (freezing) et l'expression faciale de la peur, et il module les modifications du rythme cardiaque liées au système nerveux parasympathique (Roelofs, 2017 ; Yang et al., 2007). L'amygdale constitue le lieu de stockage des événements traumatiques. Dans des contextes inconnus, la tâche de l'amygdale consistant à identifier les éventuelles menaces est facilitée par une importante plasticité neuronale. Dans les contextes connus, l'amygdale reçoit de l'hippocampe de précieuses informations sur le contexte. L'hippocampe joue ainsi un rôle primordial dans la peur contextuelle. L'hippocampe module, par ses connexions avec le cortex préfrontal, des réponses de fuite, de combat ou d'immobilisation (freezing).

Le conditionnement à la peur est un paradigme fort intéressant pour modéliser le TSPT. En effet, il permet un contrôle des paramètres expérimentaux et il est facile à instaurer. La réponse conditionnée persiste longtemps, parfois durant plusieurs mois.

3.1.2. Conditionnement à la sécurité

Le TSPT est, pour de nombreux auteurs, un trouble lié à un déficit de l'extinction de la mémoire traumatique (Luikinga et al., 2019 ; Reznikov et al., 2015 ; Bernardi et Lattal, 2010). Les études montrent que l'anxiété à la suite d'un choc électrique perdure le plus longtemps chez les animaux qui expriment une faible capacité d'extinction (Reznikov et al., 2015). Un faible taux de corticostérone prédit l'expression d'une faible extinction (Reznikov et al., 2015). Les modèles du TSPT comme pathologie de l'extinction de la mémoire traumatique utilisent le conditionnement de la sécurité. Ce conditionnement peut être obtenu soit par une extinction de la peur conditionnée soit par un conditionnement de l'inhibition (Borghans et Homberg, 2015 ; Reznikov et al., 2015). L'extinction à la peur s'obtient par une exposition répétée du stimulus conditionné seul qui in fine aboutit à la suppression de la réponse conditionnée (Kida, 2019 ; Bernardi et Lattal, 2010). Le conditionnement à l'inhibition s'acquiert par la répétition d'un stimulus qui n'est jamais accompagné du stimulus inconditionnel (Kong et al., 2014). Ce stimulus acquiert la capacité de prédire la non-survenue du stimulus inconditionnel et par conséquent entraîne l'inhibition de la réponse conditionnée (Kong et al., 2014). Ces modèles ne seront pas décrits dans ce travail bien qu'ils présentent un intérêt certain dans les études sur les effets de différents traitements proposés pour soigner le TSPT. Le conditionnement à la sécurité suscite souvent la question de la substitution d'une nouvelle trace mnésique au souvenir traumatique. Il y a un net consensus pour dire que le conditionnement à la sécurité, notamment par des techniques de désensibilisation, ne conduit pas à la suppression de la mémoire traumatique. Les données sont en faveur de la mise en place d'une nouvelle trace mnésique qui fera concurrence à la mémoire traumatique (Kida, 2019 ; Fukushima et al., 2014). Contrairement au conditionnement à la peur qui a pour élément clé l'amygdale, le conditionnement à la sécurité a pour élément clé le cortex préfrontal (Kida, 2019). Les physiopathologies des deux conditionnements ne sont donc pas les mêmes. La compétition entre les deux traces mnésiques n'empêche d'ailleurs pas la mémoire traumatique de refaire surface par moments (Kida, 2019). L'extinction du TSPT n'ayant pas été explorée dans le présent travail, elle ne fera plus l'objet d'une attention particulière pour la suite malgré son importance certaine dans la compréhension du TSPT.

3.2. Neurobiologie du TSPT

Le TSPT est une affection dont les mécanismes neurobiologiques ne sont pas totalement élucidés malgré les nombreux travaux de recherche qui lui sont consacrés (Malikowska-Racia et Salat, 2019 ; Borghans et Homberg, 2015 ; Reznikov et al., 2015). Ce trouble est caractérisé par des perturbations de l'axe HHS, une hyperactivation de l'amygdale et une réduction du volume de l'hippocampe et du cortex, particulièrement préfrontal (Malikowska-Racia et Salat, 2019). C'est une condition chronique qui doit être différenciée du stress aigu observé au début de son évolution.

3.2.1. Stress aigu et TSPT

Le stress est un ensemble de réactions de l'organisme en relation avec un processus qui perturbe l'homéostasie corporelle. Cette réaction joue un rôle primordial dans la survie. Il permet la collecte rapide d'informations sur une source de nourriture, un abri ou la présence d'un prédateur (Stelly et al., 2016). Le stress conditionne l'organisme à faire face à toute situation de contrainte. En effet, face à une agression réelle ou perçue comme telle, l'organisme réagit par la fuite, le combat ou l'effroi (Roelofs, 2017). Il se produit, entre autres, une libération de substances adrénérquiques et une activation de l'axe HHS (Bernardi et Lattal, 2010). L'adrénaline et le cortisol mobilisent les ressources énergétiques disponibles prioritairement aux organes primordiaux à la conservation de la survie, principalement les muscles et les fonctions sensorielles. Une fois que le danger est passé, l'organisme retrouve, assez rapidement, son homéostasie caractérisée par un retour à des valeurs normales du cortisol et des substances adrénérquiques. Néanmoins, ceci correspond au stress aigu et non au TSPT.

La physiopathologie du TSPT n'est à ce jour pas bien comprise (Schöner et al., 2017). Le TSPT pourrait résulter d'un dysfonctionnement de certaines structures cérébrales parmi lesquelles l'amygdale, l'hippocampe et le cortex préfrontal sont le plus souvent incriminés (Malikowska-Racia et Salat, 2019 ; Richter-Levin et al., 2019). Le dysfonctionnement de ces structures s'accompagne du dysfonctionnement, entre autres, des fonctions de l'apprentissage de la menace, de l'extinction de la peur, de la régulation émotionnelle et du traitement contextuel (Richter-Levin et al., 2019). En dehors de ces structures, le TSPT est aussi associé au dysfonctionnement de nombreux systèmes hormonaux ainsi que de neurotransmetteurs. Parmi ces substances, la plus incriminée est la corticolibérine, pièce importante de l'axe HHS.

3.2.2. Axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HHS)

L'axe HHS a été abondamment décrit dans le chapitre précédent. Ici, il ne sera fait mention que de son rôle dans le TSPT. Le TSPT est caractérisé par des taux anormalement élevés de corticolibérine, l'hormone de libération de la corticotrophine (Malikowska-Racia et Salat, 2019 ; Logrip et al., 2012). Chez le rongeur, la corticolibérine est associée à des effets anxiogènes, notamment les réactions de sursaut (Malikowska-Racia et Salat, 2019 ; Roberto et al., 2017). L'administration d'agonistes des récepteurs CRF1 reproduit ces comportements alors que les antagonistes des récepteurs CRF1 les réduisent (Roberto et al., 2017). La corticolibérine consolide, au niveau de l'amygdale, le processus de la mémoire traumatique (Malikowska-Racia et Salat, 2019). Au niveau de l'hippocampe, elle empêche la synaptogenèse qui joue un rôle primordial dans l'extinction de la peur (Malikowska-Racia et Salat, 2019).

Normalement, la corticolibérine est responsable de la libération de l'ACTH qui à son tour entraîne la sécrétion de la corticostérone chez les rongeurs. Chez l'homme, il a été observé que les taux de corticotrophine des sujets souffrant de TSPT étaient en quantités inférieures à celles des sujets ne souffrant pas de TSPT (Malikowska-Racia et Salat, 2019). La libération de corticotrophine, en réponse à l'action de la corticolibérine, est atténuée (Malikowska-Racia et Salat, 2019). Lors d'un stress aigu le cortisol et la corticostérone, deux glucocorticoïdes aux propriétés anxiolytiques, entraînent un feedback négatif de la libération de la corticolibérine et favorisent le retour à l'homéostasie. Ce rétrocontrôle semble ne pas fonctionner dans le TSPT. En effet, le TSPT est caractérisé par des taux bas de cortisol (Malikowska-Racia et Salat, 2019 ; Borghans et Homberg, 2015) alors que ceux de la corticolibérine sont anormalement élevés (Malikowska-Racia et Salat, 2019 ; Logrip et al., 2012 ; Figure 3.1). Ce fait trouve une explication dans les modifications du fonctionnement des récepteurs aux corticoïdes. Le cortisol et la corticostérone agissent en se fixant sur les récepteurs aux minéralocorticoïdes et aux glucocorticoïdes (GR). Les récepteurs aux minéralocorticoïdes ont une affinité pour le cortisol et la corticostérone plus grande que les GR. Les fluctuations circadiennes de ces corticoïdes sont suffisantes pour saturer les récepteurs aux minéralocorticoïdes (Stelly et al., 2016). Ils ne se fixent sur les GR que lorsqu'ils se trouvent en concentration élevée. Seule leur fixation aux GR conduit au rétrocontrôle de la libération de la corticolibérine et de la corticotrophine. Des études chez les rongeurs montrent que dans le TSPT le nombre de récepteurs aux corticoïdes diminuent, particulièrement au niveau de l'hippocampe (Malikowska-Racia et Salat, 2019). À ceci

s'ajoute un dysfonctionnement de l'axe HHS avec une sensibilisation des GR (Malikowska-Racia et Salat, 2019). Ces récepteurs sensibilisés inhibent la libération de cortisol malgré les taux élevés de corticolibérine. Néanmoins, plutôt que conséquence du TSPT, les données de la littérature soutiennent que ces faibles taux de cortisol sont antérieurs au TSPT. De fait, un faible taux de cortisol constitue un facteur de vulnérabilité pour l'acquisition d'un TSPT (Malikowska-Racia et Salat, 2019). Les sujets traumatisés qui reçoivent de l'hydrocortisone, un glucocorticoïde, dans les heures qui suivent un traumatisme important présentent moins souvent un TSPT que les traumatisés qui n'en reçoivent pas (Malikowska-Racia et Salat, 2019). De même, les rongeurs qui reçoivent un corticoïde avant l'exposition à un événement traumatique ne présentent pas ou que faiblement des comportements d'un modèle animal de TSPT (Malikowska-Racia et Salat, 2019). Ceci est encore renforcé par des études génétiques chez les jumeaux. Ces études confirment l'antériorité des faibles taux de cortisol des sujets présentant un TSPT. En clinique, il est observé que les militaires qui présentent de faibles taux salivaires de cortisol avant un conflit armé présentent un risque le plus élevés de souffrir du TSPT lors d'un conflit armé comparativement aux autres militaires (Malikowska-Racia et Salat, 2019).

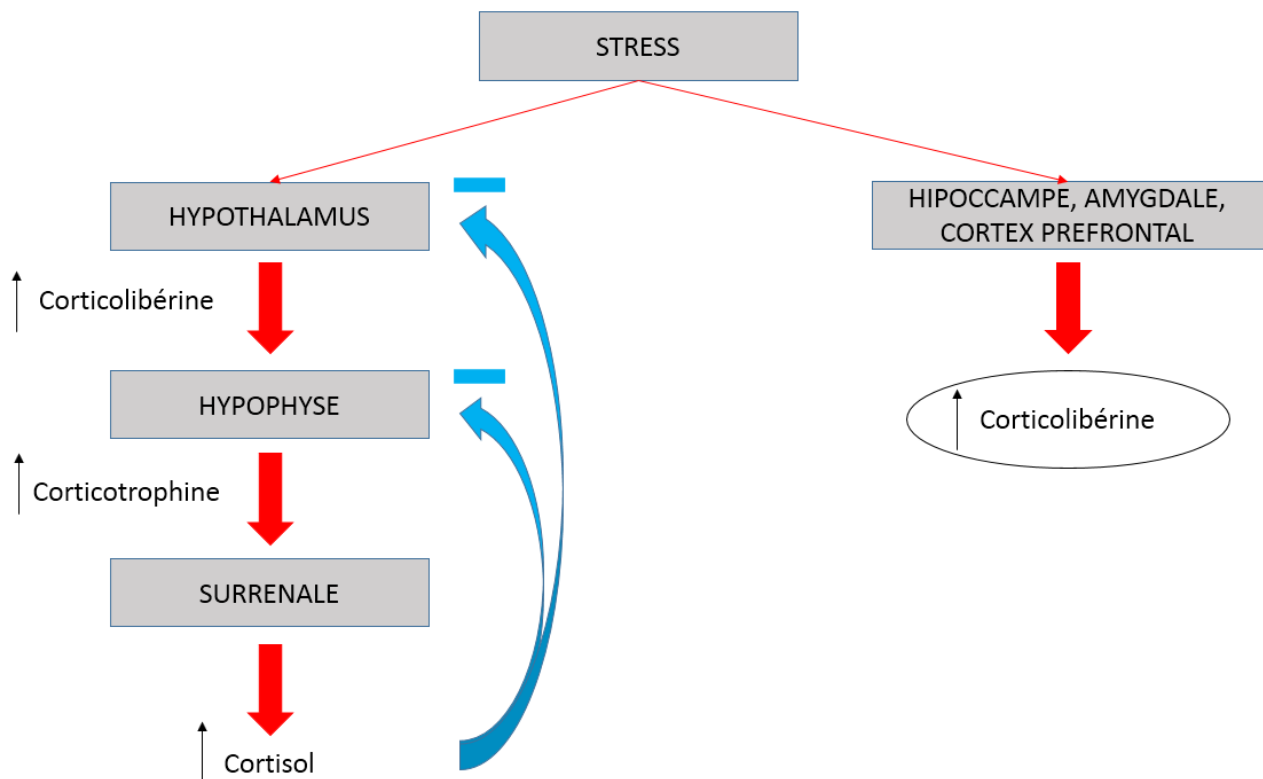


Figure 3.1. Axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien et corticolibérine extra-hypothalamique.

3.2.3. Amygdale

Aux dysfonctionnements de l'axe HHS et du système adrénergique s'associe un dysfonctionnement de plusieurs structures cérébrales dont l'amygdale, l'hippocampe et le cortex préfrontal. L'amygdale, particulièrement l'amygdale étendue, joue un rôle clé dans le TSPT comme l'atteste son hyperactivité dans cette affection (Richter-Levin et al., 2019 ; Logrip et al., 2012). L'amygdale joue un rôle important dans le stockage et la consolidation de la peur traumatique (Kida, 2019). Les souvenirs du traumatisme activent plus fortement l'amygdale des personnes souffrant du TSPT que celle des personnes qui n'en souffrent pas. Les vétérans du Vietnam souffrant de lésions amygdaliennes présentaient moins du TSPT que les sujets contrôles (Koenigs et al., 2008). L'amygdale joue aussi un rôle important dans la récurrence du souvenir de l'évènement traumatique. Et à son tour la reviviscence du souvenir traumatique accroît son fonctionnement. Les glucocorticoïdes augmentent l'activité de l'amygdale qui favorise aussi la libération de corticolibérine de l'hypothalamus en opposition à l'hippocampe et au cortex préfrontal qui empêchent sa libération. En outre, l'amygdale des sujets souffrant de TSPT présente une hypotrophie. Les anomalies observées dans le fonctionnement de l'amygdale sont postérieures au traumatisme (Goswami et al., 2013). Toutefois d'autres auteurs n'observent pas une diminution du volume de l'amygdale (Borghans et Homberg, 2015).

3.2.4. Hippocampe

L'hippocampe joue un rôle crucial dans les processus de traitement, de stockage et de récupération de la mémoire. Il est le siège d'une importante activité de neurogenèse qui lui permet d'associer des stimuli aversifs avec leur contexte de survenue. Ainsi, l'hippocampe joue un rôle important dans la contextualisation de la mémoire traumatique (Kida, 2019). C'est l'une des structures particulièrement riches en GR (Goswami et al., 2013). Néanmoins des taux anormalement élevés ou bas de corticoïdes perturbent son fonctionnement. Un taux élevé de corticoïdes entraîne une atrophie de ses cellules, une inhibition de la neurogenèse de l'hippocampe et une inhibition des activités dépendantes de la plasticité synaptique (McEwen, 2007). Le TSPT est associé à une hypotrophie de l'hippocampe responsable de déficits de l'attention et de la mémoire contextuelle ainsi que des troubles émotionnels (Borghans et Homberg, 2015). Cette hypotrophie est associée à une réduction de l'inhibition qu'exerce l'hippocampe, en synergie avec le cortex préfrontal, sur la production de corticolibérine par

l'hypothalamus. Néanmoins, une lésion de l'hippocampe n'empêche pas l'expression d'une peur contextuelle (Kida, 2019). En effet, l'expression de la peur contextuelle, fonction partagée par l'hippocampe et l'amygdale, devient de plus en plus dépendante de cette dernière. La conséquence est une expression de la peur quel que soit le contexte (Goswami, et al. 2013). Les personnes souffrant du TSPT sont incapables de différencier les contextes de sécurité des contextes dangereux. Elles sont aussi incapables d'apprécier l'innocuité des stimuli neutres en l'absence de menace. Toutefois, comme pour le faible taux du cortisol, l'hypotrophie de l'hippocampe est antérieure à la survenue du traumatisme responsable du TSPT. En effet, les études chez les jumeaux des personnes présentant un TSPT observent un hippocampe de plus petit volume que la population générale. C'est donc un facteur de vulnérabilité.

3.2.5. Cortex préfrontal

Le cortex préfrontal est aussi une structure cérébrale qui joue un rôle majeur dans le TSPT. Parmi ses multiples fonctions, le cortex préfrontal a un rôle inhibiteur sur l'amygdale. Il inhibe aussi la libération de la corticolibérine au niveau de l'hypothalamus. Cette structure cérébrale connaît un dysfonctionnement et une hypotrophie au cours du TSPT (Pitman et al., 2012 ; Bremner et al., 2008). Néanmoins, comme pour l'amygdale mais contrairement à l'hippocampe, l'hypotrophie du cortex préfrontal est acquise à la suite du TPST (Pitman et al., 2012). Elle n'est toutefois pas spécifique au TSPT car elle est aussi retrouvée dans les états de stress chronique (Pitman et al., 2012). Le dysfonctionnement du cortex préfrontal, particulièrement de l'aire ventromédiale, serait responsable du déficit de l'extinction observée chez l'homme (Milad et al., 2008 ; Bremner et al., 2008). En effet, ce dysfonctionnement du cortex préfrontal réduit ses capacités à contrôler la libération de la corticolibérine par l'hypothalamus (Malikowska-Racia et Salat, 2019). Toutes ces altérations et dysfonctionnements majorent les effets des corticoïdes et l'importance de l'amygdale.

3.2.6. Système adrénergique

Le système adrénergique joue un rôle crucial dans l'occurrence du TSPT (Kida, 2019 ; Borghans et Homberg, 2015 ; Bernardi et Lattal, 2010). Le système adrénergique est impliqué dans de nombreuses fonctions cognitives parmi lesquelles l'attention, la mémoire, l'éveil et l'apprentissage (Bernardi et

Lattal, 2010). Comme pour le stress aigu, le TSPT est aussi caractérisé par une hyperréactivité du système adrénergique associée à une augmentation du métabolisme de la noradrénaline (Logrip et al., 2012). Le dysfonctionnement du système adrénergique joue un rôle majeur dans les symptômes d'intrusion et d'hyperréactivité du système nerveux autonome des personnes souffrant de TSPT (Logrip et al., 2012). Cette activité excessive du système noradrénergique est, entre autres, liée à une réduction du nombre et de l'affinité d'auto-récepteurs α_2 adrénergiques. Chez l'homme, l'utilisation de la prazosine, un antagoniste des récepteurs α_1 adrénergiques, améliore le fonctionnement du cortex préfrontal (Borghans et Homberg, 2015).

3.2.7. Autres systèmes

De nombreux autres neuromédiateurs sont aussi incriminés dans la survenue du TPST parmi lesquels la dopamine. En effet, les perturbations neurobiologiques du TSPT concernent aussi le système dopaminergique. Les projections dopaminergiques dans le cortex préfrontal sont impliquées dans le processus d'extinction de la peur (Bernardi et Lattal, 2010). Il a été démontré que les agonistes des récepteurs dopaminergiques D2/D3 réduisent les comportements de TSPT chez les souris (Malikowska-Racia et al., 2019).

Bien que leur rôle ne soit pas bien compris, la famille des neuropeptides Y, particulièrement le neuropeptide Y lui-même, sont impliqués dans l'occurrence du TSPT. Le neuropeptide Y possède des effets anxiolytiques (Yan et al., 2018). Ses taux augmentent dans les situations de stress. De nombreuses autres substances sont incriminées dans la survenue du TSPT. Parmi ces substances, peuvent être citées le GABA, les neurokinines, le cFos et la vasopressine (Aspesi et Pinna, 2019 ; de Lange et al., 2008). Néanmoins, leurs rôles ne seront pas décrits dans le cadre du présent travail.

3.2.8. Facteurs de risques et facteurs génétiques

3.2.8.1. Facteurs de risque

Le TSPT est une affection relativement rare si on tient compte du nombre de personnes ayant expérimenté un traumatisme important. En effet la prévalence du TSPT ne dépasse guère les 10% de

la population générale alors que 70 à 80% de cette population ont déjà expérimenté au moins un traumatisme sévère (Aspesi et Pinna, 2019 ; Richter-Levin et al., 2019). Et devant un même traumatisme, tous les individus ne développeront pas un TSPT. Il existe donc des variabilités individuelles. Ces différences entre les individus sont inhérentes aussi bien à des facteurs extérieurs qu'à des facteurs propres aux sujets (Richter-Levin et al, 2019).

Les facteurs de risque du TSPT sont nombreux. Ils peuvent être catégorisés en facteurs lointains et en facteurs proches ou immédiats (Richter-Levin et al., 2019). Les facteurs lointains comprennent, entre autres, les traumatismes vécus dans l'enfance. De nombreuses études montrent une relation étroite entre les situations stressantes vécues dans la vie et le TSPT. La vulnérabilité au TSPT est d'autant plus marquée que ces situations stressantes ont été vécues dans l'enfance ou l'adolescence. Les facteurs immédiats comprennent, entre autres, l'addiction aux drogues (Richter-Levin et al, 2019).

3.2.8.2. Facteurs génétiques

La recherche d'une vulnérabilité à souffrir du TSPT a conduit à la réalisation des études génétiques. Les résultats de ces études génétiques, particulièrement sur des jumeaux homozygotes, sont en faveur d'une composante génétique à cette vulnérabilité individuelle (Richter-Levin et al., 2019). En effet, il existe une fréquence de correspondance plus grande pour les jumeaux homozygotes (Nugent et al., 2008 ; Afifi et al., 2010). Des études chez des jumeaux homozygotes montrent que les jumeaux non traumatisés présentent une hypotrophie et des dysfonctionnements de l'hippocampe (Gilbertson et al., 2007). Des variations de l'ADN responsables d'une vulnérabilité ou d'une résilience chez les sujets ont été décrites (Mahan et Ressler, 2012). Des études sur le sujet proposent de nombreux gènes candidats de vulnérabilité au TSPT (Richter-Levin et al., 2019). Néanmoins beaucoup reste à faire dans ce domaine afin de permettre une meilleure compréhension du rôle des facteurs génétiques.

3.3. Problématique d'un modèle animal du TSPT : critères de validités

Le TSPT est une condition reposant entièrement sur la subjectivité des sujets qui en souffrent (Deslauriers et al., 2018 ; Richter-Levin et al., 2019). Cette subjectivité a d'ailleurs joué négativement sur la reconnaissance du TSPT comme entité clinique. Et cette subjectivité rend difficile l'élaboration

des modèles animaux valides du TSPT (Deslauriers et al., 2018 ; Borghans et Homberg, 2015). Comme expliqué dans les précédents paragraphes, le TSPT est défini par l'existence de plusieurs critères. Il s'agit donc d'un ensemble complexe de symptômes consécutifs à un ou plusieurs événements traumatiques (Deslauriers et al., 2018). Les modèles animaux sont bâtis en s'efforçant de reproduire ces différents critères diagnostiques du TSPT (Borghans et Homberg, 2015). La validité de ces modèles nécessite des critères d'évaluation. Il existe de nombreux critères utilisés pour évaluer la pertinence des modèles animaux du TSPT (Schöner et al., 2017 ; Borghans et Homberg, 2015). Parmi ces critères de validité, le présent travail s'intéressera aux validités étiologique, apparente (ou phénoménologique), prédictive, constructive et discriminatoire. Tous les différents modèles animaux du TSPT s'efforcent peu ou prou de rencontrer ces différents critères de validité.

3.3.1. Validité étiologique

La validité étiologique, spécifiquement pour le TSPT, est un critère de validité important. Elle est particulièrement importante parce que la définition du TSPT souligne le rôle central de l'évènement traumatique (Schöner et al., 2017 ; Reznikov et al., 2015). Toutes les manifestations de cette affection ne sont que les conséquences de la survenue de cet évènement. La validité étiologique est aussi importante parce que ce sont les caractéristiques de l'évènement traumatique qui distinguent le TSPT des autres troubles, particulièrement des troubles anxieux. Ainsi, les modèles animaux du TSPT proposent des stressseurs pouvant mimer l'évènement traumatique du TSPT. Ces stressseurs ne doivent pas seulement reproduire les manifestations du TSPT mais les maintenir suffisamment longtemps afin qu'elles ne correspondent pas à un modèle de stress aigu (Schöner et al., 2017).

3.3.2. Validité apparente

La validité apparente évalue la capacité que présente le modèle animal du TSPT à mimer les symptômes du TSPT (Aspesi et Pinna, 2019 ; Schöner et al., 2017 ; Borghans et Homberg, 2015 ; Goswami et al., 2013). Les modèles animaux s'efforcent d'identifier des comportements animaux qui correspondraient aux symptômes du TSPT (Deslauriers et al., 2018). De nombreux tests permettent d'évaluer la validité apparente. Il s'agit notamment des tests d'anxiété du labyrinthe en croix surélevé, de la chambre claire-obscur, de l'open field, du test de sursaut et du conditionnement à la peur

(Borghans et Homberg, 2015). La validité apparente se trouve confrontée à un problème lié à la définition du TSPT. En effet, le TSPT a une définition purement comportementale. Il n'existe pas de paramètres objectivement mesurables pour sa définition (Aspesi et Pinna, 2019). Dès lors, il se pose un problème translationnel entre un comportement que présenterait un animal et son correspondant humain (Richter-Levin et al., 2019 ; Deslauriers et al., 2018 ; Schöner et al., 2017).

3.3.3. Validité prédictive

La validité prédictive est plus complexe que la validité apparente. Elle est évaluée par la capacité d'un modèle animale à reproduire la réponse thérapeutique dans le traitement du TSPT (Aspesi et Pinna, 2019 ; Richter-Levin et al., 2019 ; Schöner et al., 2017 ; Borghans et Homberg, 2015 ; Goswami et al., 2013). La validité pharmacologique est très intéressante en ce qu'elle offre la possibilité d'évaluer l'efficacité des médicaments utilisés dans l'arsenal des thérapies pour soigner le TSPT. Elle permet aussi de tester des médicaments candidats pour soigner le TSPT. Néanmoins l'inefficacité des traitements contre le TSPT, estimée entre 30 et 60% des cas, réduit la portée de la validité prédictive (Aspesi et Pinna, 2019 ; Richter-Levin et al., 2019 ; Deslauriers et al., 2018 ; Schöner et al., 2017).

3.3.4. Validité constructive

Beaucoup plus complexe est la validité constructive. Elle évalue la capacité du modèle à reproduire les différents troubles neurocognitifs du TSPT. Autrement dit, la validité constructive évalue l'exactitude neurobiologique du modèle animal du TSPT (Richter-Levin et al., 2019 ; Schöner et al., 2017 ; Borghans et Homberg, 2015 ; Goswami et al., 2013). Cette validité est confrontée à une limite. Le TSPT est une affection dont les mécanismes physiopathologiques sont très peu connus chez l'homme (Richter-Levin et al., 2019 ; Schöner et al., 2017). Il est ainsi difficile d'élaborer un modèle animal qui prenne en compte les mécanismes du TSPT. Une meilleure connaissance du TSPT améliorera donc la validité constructive.

3.3.5. Validité discriminatoire

Enfin la validité discriminatoire évalue la capacité du modèle à identifier un animal exprimant un TSPT d'un animal n'exprimant pas le TSPT. À ce jour aucun modèle animal du TSPT n'est arrivé à l'atteindre. Toutefois, ces dernières années, des auteurs proposent des critères pour pouvoir distinguer des animaux bons répondeurs des animaux mauvais répondeurs (Schöner et al., 2017).

3.3.6. Autres critères d'évaluation des modèles animaux du TSPT

Plutôt que d'utiliser formellement des critères de validité, certains auteurs proposent des critères alternatifs. Ces critères alternatifs présentent l'intérêt de faciliter le choix de modèles animaux en fonction des objectifs d'étude poursuivis (Deslauriers et al., 20018). Afin de faciliter l'évaluation de la validité des modèles animaux du TSPT, deux chercheurs, Yehuda et Antelman (Borghans et Homberg, 2015 ; Yehuda et Antelman, 1993) ont proposé une liste de 5 critères. Le stresser doit pouvoir reproduire les caractéristiques comportementales ou biologiques du TSPT. La réponse à l'action doit être positivement corrélée à l'intensité du stresser. Les modifications biologiques induites par le stresser doivent perdurer dans le temps ou augmenter au fil du temps. Les altérations biologiques doivent induire des changements comportementaux. Enfin la réponse à l'effet du stresser doit montrer une variabilité entre individus. Dans le même ordre d'idées, Deslauriers et al. (2018) proposent quatre critères pour un modèle animal de TSPT. Les effets induits par le stresser doivent perdurer au moins une semaine. Au moins deux registres comportementaux doivent être modifiés à la suite de l'exposition au stresser. Un bon modèle animal de TSPT doit pouvoir être reproduit par différents laboratoires. Ce modèle doit permettre de modifier la durée d'application ou l'intensité du stresser.

Outre ces critères de validité, d'autres caractéristiques de ces modèles animaux de TSPT peuvent guider leur choix. Il s'agit entre autres des perturbations de l'axe HHS (Deslauriers et al., 2018). Les modèles animaux du TSPT devraient pouvoir mimer l'augmentation de la sensibilité des récepteurs aux glucocorticoïdes et du feedback négatif de l'axe HHS. Ils devraient aussi pouvoir induire des altérations structurelles comme l'hypertrophie de l'amygdale, du cortex préfrontal et ou de l'hippocampe (Deslauriers et al., 2018). D'autres perturbations variées, telle que les troubles du sommeil et de la socialisation, pourraient aussi être retrouvées (Deslauriers et al., 2018). En plus de

ces perturbations de l'axe HHS, certaines autres caractéristiques sont tout aussi déterminantes dans le choix d'un bon modèle animal de TSPT. En effet, le stressor d'un bon modèle animal de TSPT doit être inévitable, imprédictible et incontrôlable par le rongeur (Logrip et al., 2012).

3.4. Modèles animaux du TSPT

Le TSPT est un trouble psychiatrique pour lequel plusieurs modèles animaux ont été développés (Aspesi et Pinna, 2019 ; Borghans et Homberg, 2015). Dans le présent travail, seront décrits les modèles les plus utilisés dans les études sur la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux substances d'abus. La grande diversité des différents protocoles est utile afin d'appréhender les différentes facettes qu'offre la diversité des facteurs étiologiques du TSPT (Aspesi et Pinna, 2019 ; Deslauriers et al., 2018). En effet, l'expression du TSPT et ses modifications neurobiologiques sont variables selon les types de traumatisme (Aspesi et Pinna, 2019 ; Edwards et al., 2013). Tous ces modèles, à l'exception du premier, présenté pour des raisons historiques, sont considérés comme des modèles animaux valides du TSPT (Deslauriers et al., 2018 ; Borghans et Homberg, 2015). Les autres modèles, tels que l'isolement, le trauma précoce et la séparation maternelle, qui ne sont pas vraiment des modèles animaux de TSPT, ne seront pas présentés (Logrip et al., 2012).

3.4.1. Le « learned helplessness »

Bien qu'il ne soit quasiment jamais utilisé pour étudier la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues, le paradigme du « learned helplessness » ou de l'impuissance acquise est historiquement important. En effet, c'est le premier modèle animal du TSPT (Schöner et al., 2017). En 1960, ses concepteurs l'ont démontré sur des chiens soumis à des chocs électriques inévitables. Par la suite, ces animaux n'exprimaient aucun comportement d'évitement lorsqu'ils étaient soumis à des chocs électriques dans un contexte où ils pouvaient s'échapper (Seligman, 1972). Ce nouveau comportement a été assimilé à une détresse psychologique. Bien que conçu au départ pour la dépression, ce modèle présentait aussi des similitudes avec le TSPT (Schöner et al., 2017). Par la suite il a été appliqué aux rongeurs (Van Dijken et al., 1992 ; Seligman et Beagley, 1975).

3.4.2. Choc électrique

Le choc électrique est l'un des stressseurs les plus fréquemment utilisés comme modèle animal de TSPT (Aspesi et Pinna, 2019 ; Deslauriers et al., 2018 ; Borghans et Homberg, 2015 ; Logrip et al., 2012). Il peut être utilisé pour induire un stress aigu, une peur conditionnée ou une dépression (Aspesi et Pinna, 2019 ; Deslauriers et al., 2018). Les modèles animaux du TSPT utilisant le choc électrique se basent sur le paradigme du conditionnement à la peur (Borghans et Homberg, 2015). L'animal est soumis à un choc électrique unique ou une série de plusieurs chocs électriques (figure 3.2). Le choc électrique, administré aux pattes ou à la queue, constitue le stimulus inconditionnel. Un stimulus sonore ou l'environnement dans lequel l'animal a été choqué constituent le stimulus conditionnel (Borghans et Homberg, 2015). Les animaux sont ultérieurement replacés dans le contexte du choc pour évaluer leur peur conditionnée. La peur conditionnée, mémoire associative, est assimilée aux symptômes de reviviscence de l'évènement traumatique. Les modèles animaux du TSPT utilisant le choc électrique induisent en outre des comportements d'hyperréactivité et d'évitement (Deslauriers et al., 2018 ; Borghans et Homberg, 2015). Une équipe de chercheurs a utilisé ces caractéristiques pour présenter l'un des rares modèles animaux du TSPT qui propose un test pour évaluer chacun des clusters diagnostiques du TSPT (Siegmund et al., 2007 ; Siegmund et Wotjak, 2007a ; Siegmund et Wotjak, 2007). Ce protocole expliqué au chapitre sept est le modèle animal du TSPT choisi dans le présent travail. Les modèles animaux du TSPT utilisant le choc électrique induisent aussi d'autres perturbations fonctionnelles, telle qu'une hyperactivité de l'amygdale et du cortex préfrontal, et structurelles, telle qu'une hypotrophie de l'hippocampe (Deslauriers et al., 2018). Comme chez l'homme, certains de ces changements apparaissent immédiatement alors que d'autres s'expriment plusieurs jours ou semaines après l'administration du choc électrique (Deslauriers et al., 2018). Cette période durant laquelle certains symptômes, particulièrement ceux de l'hyperréactivité, ne sont pas observés définit la période d'incubation (Pajser et al., 2019).

Le choc électrique est un stressseur suffisamment robuste pour qu'un seul choc électrique suffise à induire un TSPT de longue durée (de Lange et al., 2008). Les modifications comportementales qu'il induit peuvent perdurer jusqu'à 56 jours (Deslauriers et al., 2018). Outre le nombre de chocs électriques, ces modèles peuvent faire varier aussi bien la durée d'exposition du choc que l'intensité du choc (Blacktop et al., 2016). Les variations de l'intensité du choc sont intéressantes en ce qu'ils permettent d'analyser les effets liés au degré de sévérité de l'évènement traumatique. La durée de

l'exposition et la répétition des chocs peuvent permettre d'analyser, entre autre, les effets de la durée du traumatisme.

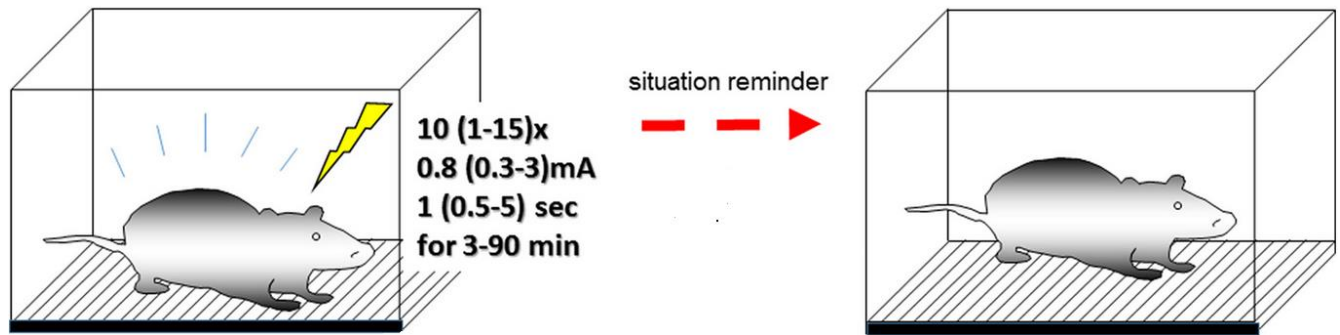


Figure 3.2. Modèle animal du TSPT induit par un choc électrique (Török et al., 2019)

Le choc électrique est donc un excellent stresser pour induire des comportements animaux du TSPT. Outre la durée de persistance des effets induits, les modèles animaux utilisant le choc électrique sont caractérisés par un grand contrôle des paramètres expérimentaux (Deslauriers et al., 2018). Ils permettent de contrôler la prédictibilité et le caractère évitable du choc électrique (Logrip et al., 2012). Ces deux paramètres jouent un rôle important dans la survenue ou la prévention de l'habituation. Néanmoins, il est souvent fait deux grands reproches à ce stresser. Le choc électrique est l'un des stressers les moins écologiques. Paraphrasant les propos de Robinson et Berridge (1993) sur les modèles d'addiction aux drogues, un bon modèle de TSPT chez l'animal est celui qui reproduit les comportements et les altérations neurobiologiques du TSPT. Plusieurs auteurs ont reproché aux paradigmes utilisant le choc électrique de ne pas reproduire les altérations de l'axe HHS, un des marqueurs du TSPT (Borghans et Homberg, 2015). L'exposition à un choc électrique s'accompagne d'une augmentation de corticostérone dans le sang (Matthews et al., 2008 ; Moffitt et Goeders, 2005). Ce reproche ne fait pas l'unanimité des auteurs (Deslauriers et al., 2018). En réalité, ce reproche vient surtout du fait que le paradigme du choc électrique est souvent utilisé comme modèle de stress aigu (Deslauriers et al., 2018 ; Pizzimenti et al., 2017). Dans de nombreuses publications, le dosage de la corticostérone est réalisé dans les suites immédiates ou dans les heures qui suivent un choc électrique. De sorte que les modifications observées sont celles d'un stress aigu et non pas du TSPT. Toutefois, il a été démontré, notamment sur des rats femelles, que les modèles animaux du TSPT par le choc électrique reproduisent les altérations de l'axe HHS observées dans le TSPT (Borghans et Homberg, 2015). Un dernier reproche fait aux modèles animaux du TSPT qui utilisent le choc électrique porte sur la validité discriminatoire. En effet, ce modèle ne permet pas de distinguer les animaux vulnérables des animaux résilients. Depuis peu, des auteurs proposent des critères pour identifier les deux groupes

d'animaux (Reznikov et al., 2015). Il faudra néanmoins attendre d'autres études sur le sujet pour apprécier de la pertinence et de l'exactitude de pareilles classifications.

3.4.3. Le « single prolonged stress »

Le modèle du « single prolonged stress » (SPS) ou du stress unique prolongé est un modèle du TSPT proche du modèle du test de la contention non décrit dans le présent travail (Schöner et al., 2017 ; Borghans et Homberg, 2015). Quoique considéré comme modèle de stress physique (Borghans et Homberg, 2015) il correspond beaucoup mieux à un modèle complexe. Ainsi, certains auteurs le classe dans la catégorie des modèles psychologiques (Schöner et al., 2017). En effet, contrairement à ce que laisse supposer son appellation, ce test comporte 3 stressseurs appliqués successivement (figure 3.3). Le rongeur, le plus souvent un rat (Borghans et Homberg, 2015), est soumis à une immobilisation de 2 heures. Ensuite les animaux sont soumis au test de la nage forcée. Les animaux sont placés dans l'eau durant 20 minutes ou jusqu'au moment où ils arrêtent de nager. Et puis, les animaux sont séchés et environ 15 minutes après ils sont exposés à l'éther gazeux jusqu'à ce qu'ils perdent conscience. Il existe une variante pour les souris. Celles-ci ne sont placées dans l'eau que durant 10 minutes et, après avoir été séchées, sont exposées à l'odeur des rats (Matchynski-Franks et al., 2016). Certains auteurs refont une session de rétention quelques jours après (Schöner et al., 2017). Le « single prolonged stress » est le premier modèle animal du TSPT à avoir démontré des perturbations de l'axe HHS similaires à ceux qui sont observées chez l'homme (Schöner et al., 2017 ; Borghans et Homberg, 2015). Il augmente le feedback négatif au niveau de l'axe HHS (Deslauriers et al., 2018). Il induit une surexpression des récepteurs aux glucocorticoïdes au niveau de l'hippocampe et du cortex préfrontal (Deslauriers et al., 2018). Ce modèle réduit la plasticité synaptique de l'hippocampe qui chez l'homme est responsable de l'hypofonctionnement de cette structure (Borghans et Homberg, 2015). Ce dysfonctionnement de l'hippocampe est en lien avec l'augmentation des réactions de sursaut induites par des sons qui est considéré comme l'équivalent de l'hyperréactivité du système nerveux autonome (Borghans et Homberg, 2015). En outre, il entraîne une réduction de l'extinction de la peur (Schöner et al., 2017 ; Borghans et Homberg, 2015) ainsi qu'une élévation de l'anxiété au test du labyrinthe en croix surélevé (Schöner et al., 2017).

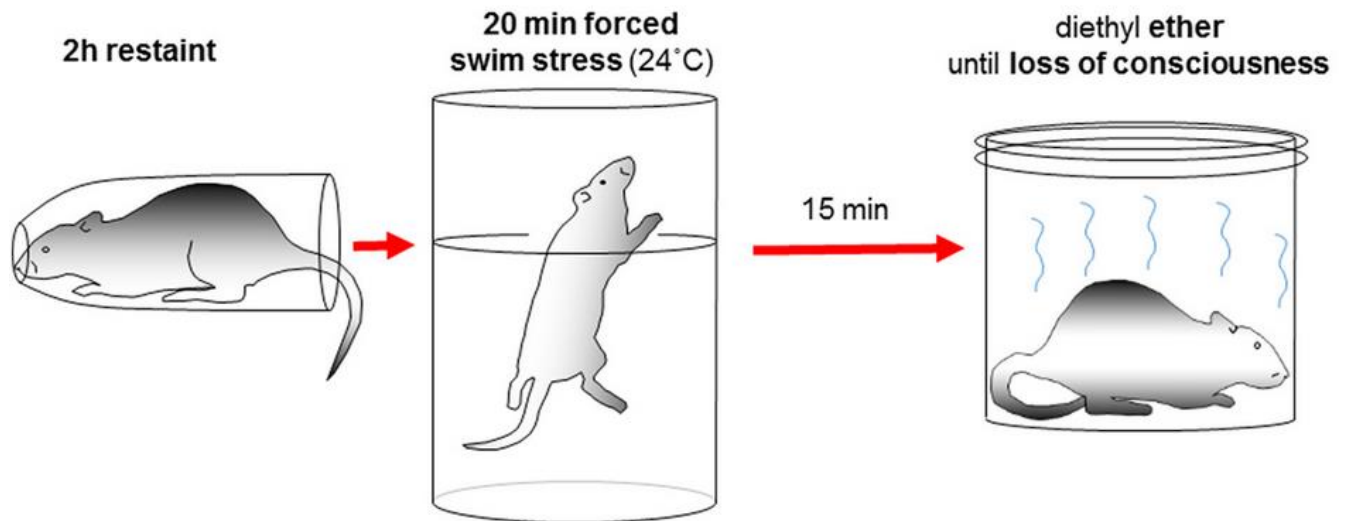


Figure 3.3. Schéma des phases du protocole du stress unique prolongé (Török et al., 2019)

Le modèle du stress unique prolongé est particulièrement intéressant en ce qu'il est l'un des modèles animaux qui présente un large éventail des symptômes du TSPT (Deslauriers et al., 2018). Plusieurs de ces symptômes s'expriment après une période d'incubation allant jusqu'à une semaine (Deslauriers et al., 2018). Cette période d'incubation est en adéquation avec la définition du TSPT. Ce modèle présente également une bonne validité prédictive. L'utilisation des antidépresseurs, particulièrement les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (SSRI), entraîne une réduction des symptômes induits par le stress unique prolongé (Deslauriers et al., 2018). Son protocole suffisamment bien standardisé permet une grande concordance entre les résultats présentés par différents laboratoires (Deslauriers et al., 2018). Néanmoins, il n'est pas exempt de quelques reproches malgré sa robustesse et sa grande validité comme modèle animal du TSPT. Ce modèle est associé à une élévation de l'activité de l'axe HHS et du taux de corticostérone alors que le TSPT est caractérisé par un niveau normal ou bas de cortisol (Deslauriers et al., 2018). D'autre part, le mécanisme par lequel agit ce modèle n'est très clair (Deslauriers et al., 2018) : s'agit-il d'une action additive ou synergique des trois stressseurs ? En outre, il y a une grande carence de données sur les comportements d'évitement des animaux en présence d'indices liés au stressseur (Deslauriers et al., 2018).

3.4.4. Le « predator-based stress »

Les modèles de stress psychosociaux induit par un prédateur sont des modèles de stress psychologique qui n'infligent aux animaux ni souffrance ni contrainte physique (Deslauriers et al., 2018 ; Schöner et al., 2017 ; Borghans et Homberg, 2015). Durant quelques minutes, un rongeur est exposé à la présence ou à l'odeur d'un prédateur naturel, chat, renard ou rat, dont il est séparé par une barrière ou pas (Deslauriers et al., 2018 ; Schöner et al., 2017 ; Figure 3.4). Certains auteurs différencient ces deux stressseurs. Ainsi les modèles qui utilisent le prédateur sont parfois appelé stress psychosocial des prédateurs (Borghans et Homberg, 2015) ou stress des prédateurs (Goswami et al., 2013). L'utilisation de l'odeur du prédateur est quant à elle dénommée le stress odorant des prédateurs (Borghans et Homberg, 2015) ou la menace des prédateurs (Goswami et al., 2013). Dans le présent travail nous ne tiendrons pas compte de cette subdivision (Schöner et al., 2017).

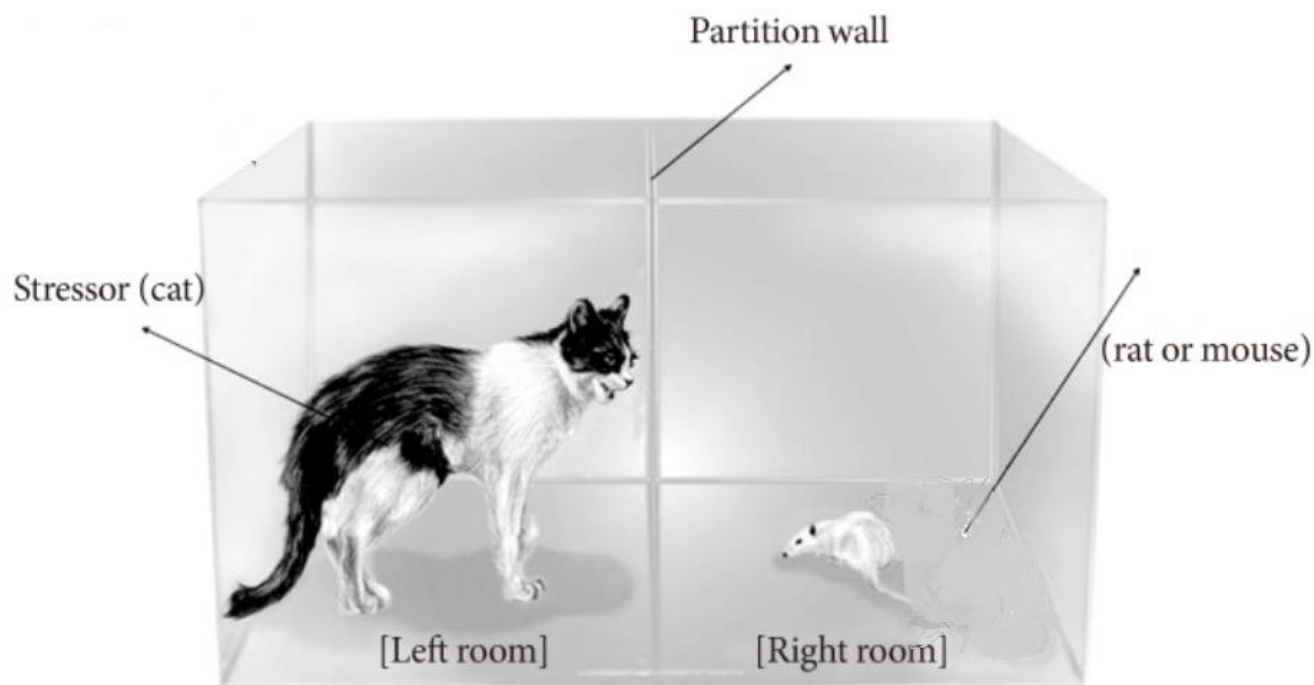


Figure 3.4. Stress des prédateurs (adaptée de Chang et al. 2013)

L'exposition au prédateur induit un stress suffisamment intense pour produire, sur une longue période, jusqu'à 3 mois, des symptômes d'anxiété dans le test du labyrinthe en croix surélevé et des perturbations de l'axe HHS (Deslauriers et al., 2018 ; Schöner et al., 2017 ; Ferland et al., 2016). En effet, ce modèle entraîne une augmentation du feedback négatif de l'axe HHS après une période d'incubation (Deslauriers et al., 2018). Les symptômes induits comprennent, entre autres, un

comportement d'évitement et une réaction d'hyperréactivité (Deslauriers et al., 2018). Ce modèle reproduit la baisse de cortisol observé dans le TSPT (Schwendt et al., 2018 ; Borghans et Homberg, 2015). Il présente aussi une bonne validité prédictive. Pour cette raison, il est utilisé pour prédire l'effet des candidats médicaments contre le TSPT (Borghans et Homberg, 2015). L'utilisation de l'odeur du prédateur présente une particularité intéressante. Sur base des critères proposés par Cohen et Zohar (2004), il est possible d'identifier des animaux vulnérables des animaux résilients (Deslauriers et al., 2018 ; Schwendt et al., 2018 ; Edwards et al., 2013). Ces critères de classification sont basés sur la réduction des comportements d'exploration et de réactivité des animaux. Sur base de ces critères, seuls 25% de rongeurs développent des changements comportementaux francs du TSPT (Borghans et Homberg, 2015). Ceci mime la variabilité observée chez les hommes dont seulement 10 à 25% environ des personnes soumises à un traumatisme présenteront un TSPT (Deslauriers et al., 2018 ; Schwendt et al., 2018 ; Edwards et al., 2013). C'est l'un des rares modèles à proposer une validité discriminatoire. Néanmoins, les critères de classification de Cohen et Zohar (2004) doivent encore être confirmées. En effet, les animaux vulnérables de cette classification présentent des taux élevés de corticostérone. Ainsi, d'autres auteurs proposent d'autres critères de classifications (Deslauriers et al., 2018).

Le modèle de stress des prédateurs est un modèle robuste (Deslauriers et al., 2018). C'est aussi l'un des meilleurs modèles écologiques du TSPT (Deslauriers et al., 2018). Il a aussi une bonne validité prédictive. L'utilisation d'antidépresseurs, notamment les tricycliques et les SSRI, réduisent les symptômes induits par le stress du prédateur (Deslauriers et al., 2018). Le principal reproche fait à ce modèle est la grande variabilité des prédateurs et donc des protocoles selon les laboratoires (Deslauriers et al., 2018). Ceci rend difficile la comparaison de résultats (Deslauriers et al., 2018).

3.4.5. Défaite sociale

Le modèle de la défaite sociale est un modèle de stress social et d'agression (Deslauriers et al., 2018). Il a été élaboré afin de modéliser le TSPT ayant pour événement traumatique un stress social, une agression physique ou un viol (Deslauriers et al., 2018 ; Macedo et al., 2018 ; Logrip et al., 2012). Il consiste à placer un animal mâle en présence d'un congénère agressif, dans le territoire de ce dernier, jusqu'à l'obtention d'un comportement de soumission de l'intrus (Deslauriers et al., 2018 ; Macedo et al., 2018 ; Schöner et al., 2017 ; Figure 3.5). Il suscite un comportement d'évitement social

(Deslauriers et al., 2018). Une seule séance est parfois suffisante pour obtenir un comportement animal de TSPT. Néanmoins, beaucoup de protocoles soumettent les animaux au même stress durant plusieurs jours ou semaines afin d'induire des changements comportementaux et neurobiologiques durables (Deslauriers et al., 2018 ; Macedo et al., 2018 ; Stelly et al., 2016). La répétition de confrontations augmente la durée de persistance des comportements induits (Stelly et al., 2016). Une répétition de 10 confrontations induit une persistance de ces comportements durant plus de 4 semaines (Macedo et al., 2018 ; Stelly et al., 2016). Les animaux exposés à ce modèle, aussi bien l'intrus que le résident, présentent un comportement d'hyperréactivité et d'anxiété (Deslauriers et al., 2018 ; Krishnan et al., 2007). Ce modèle est responsable d'une augmentation des taux de corticostérone chez les animaux protagonistes (Macedo et al., 2018 ; Krishnan et al., 2007 ; Covington et Miczek, 2005). Les taux de corticostérone diminuent au fil des sessions de confrontations mais demeurent plus élevés que leurs niveaux avant la première confrontation (Macedo et al., 2018). Certains auteurs observent cette augmentation chez les animaux résilients alors que les animaux vulnérables présentent des taux bas de corticostérone (Borghans et Homberg, 2015). Les taux de corticostérone reviennent à leur niveau basal 7 à 10 jours après la première confrontation (Macedo et al., 2018 ; Covington et Miczek, 2005). Les animaux soumis à ce modèle présentent aussi une augmentation de l'activité de l'amygdale probablement due à la réduction du contrôle exercé par le cortex préfrontal (Deslauriers et al., 2018).

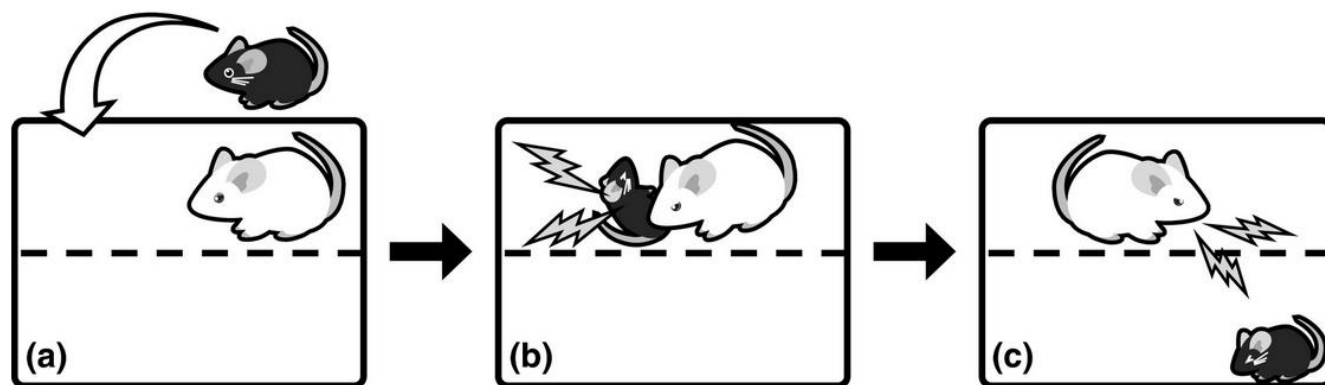


Figure 3.5. Schémas des phases du protocole de défaite sociale : (a) entrée de l'animal intrus ; (b) soumission par le résident ; (c) et séparation des animaux par une barrière transparente (Toyoda, 2017).

Le modèle de défaite sociale permet de différencier les animaux vulnérables des animaux résilients (Deslauriers et al., 2018 ; Stelly et al., 2016). Comme pour le modèle de stress des prédateurs, les animaux vulnérables sont ceux qui présentent une faible activité locomotrice dans un nouveau contexte (Logrip et al., 2012). Ce modèle animal du TSPT présente une bonne validité prédictive lors de l'utilisation des antidépresseurs notamment les SSRI (Deslauriers et al., 2018). Bien que largement

utilisé, le modèle de défaite sociale présente de nombreux inconvénients et limites. Il existe plusieurs protocoles différents, ce qui ne permet pas toujours la comparaison entre les résultats (Macedo et al., 2018). Ce modèle peut occasionner des blessures conséquentes chez les animaux (Deslauriers et al., 2018 ; Stelly et al., 2016). Il est aussi caractérisé par une diminution ou une suppression du feedback négatif de l'axe HHS (Deslauriers et al., 2018). Ceci serait la conséquence d'une habitude à la répétition d'un stress prévisible, phénomène prévenu ou atténué par le changement régulier de protagonistes (Deslauriers et al., 2018 ; Macedo et al., 2018 ; Covington et Miczek, 2005). L'exposition répétitive à un stress est aussi responsable de perturbations cognitives et de l'apprentissage (Stelly et al., 2016). Ceci rendrait compte de l'inconsistance des résultats sur l'apprentissage de la peur des études utilisant le modèle de défaite sociale (Deslauriers et al., 2018). En effet, certaines études montrent une réduction, une augmentation ou une absence d'apprentissage à la peur chez les animaux (Deslauriers et al., 2018). En outre, ce modèle animal de TSPT est plus adapté aux rongeurs mâles qu'aux femelles et aux rats plutôt qu'aux souris (Deslauriers et al., 2018). En effet, les souris ont une hiérarchisation sociale beaucoup moins marquée que celle des rats (Schöner et al., 2017).

3.4.6. Stress variables imprévisibles ou stress variables chroniques

Le modèle chronique des stress variables est certainement le plus traumatisant des modèles animaux du TSPT. Les animaux subissent, durant 2 à 9 semaines, plusieurs stressseurs différents chaque jour et/ou au fil des jours (Aspesi et Pinna, 2019 ; Schöner et al., 2017 ; Taylor et al., 2016). Sa violence n'a d'égale que les pires situations d'atrocités vécues par les personnes en zones de combats ou séquestrées dans des conditions atroces (Aspesi et Pinna, 2019 ; Deslauriers et al., 2018 ; Schöner et al., 2017). Ce modèle peut comporter une succession de privation de sommeil, de nage forcée parfois dans une eau à 4°C, de contention physique, de privation de nourriture et d'eau jusqu'à 40 heures, d'un pincement de la queue, des chocs électriques répétés, d'un hébergement dans des conditions sales, d'un hébergement dans une cage chauffée à 40°C, d'un hébergement surpeuplé ou d'une isolation. Certains auteurs proposent des allègements de ce modèle animal de TSPT (Schöner et al., 2017). Le modèle des stress variables imprévisibles reproduit les principaux critères diagnostiques du TSPT à l'exception des comportements d'évitement induits par les indices associés au traumatisme (Aspesi et Pinna, 2019 ; Deslauriers et al., 2018). Habituellement, l'acquisition du stress est évaluée par la perte

de poids, ou un faible gain pondéral des animaux qui ont subi la procédure comparativement aux animaux témoins (Taylor et al., 2016).

Outre pour les validités apparente et étiologique, particulièrement des traumatismes en situation de guerres, ce modèle permet la distinction d'animaux vulnérables et résilients (Deslauriers et al., 2018). Son principal défaut est qu'il est quasi impossible d'identifier quel stresser induit quel changement (Aspesi et Pinna, 2019 ; Deslauriers et al., 2018). D'autre part, les stressers sont variables d'une étude à une autre, ce qui rend difficiles les comparaisons.

3.5. Limites des modèles animaux du TSPT

Outre l'évidente problématique translationnelle, il sied de se pencher sur quelques limites que posent les modèles animaux de TSPT. La première limite qui peut être relevée est liée à la validité étiologique. En effet, l'évènement traumatique de certains protocoles sont difficiles à concilier avec la compréhension de l'évènement traumatique tel que proposé par le DSM 5 (APA, 2013). Chez les sujets souffrant de TSPT, l'évènement traumatique est le plus souvent intense et bref (Schöner et al., 2017). Ainsi, par exemple pour les modèles du « single prolonged stress » ou des stress variables imprévisibles, il est difficile d'analyser la part de chacun des stressers appliqués dans le changement comportemental. Dans ces circonstances il est difficile de savoir quels stressers sont nécessaires et/ou suffisants pour induire les effets comportementaux observés.

Les validités apparente, prédictive et constructive du TSPT révèlent un autre problème. Le TSPT est une condition difficile à distinguer de la dépression majeure. Certains modèles de TSPT, tel que celui de l'impuissance acquise, ont été conçus au départ comme modèle de dépression (Schöner et al., 2017). La grande majorité de ces tests, si pas tous, peut être utilisée comme modèle de dépression (Deslauriers et al., 2018 ; Macedo et al., 2018). De surcroît l'utilisation d'antidépresseurs permet d'atténuer les symptômes induits par tous ces différents protocoles de TSPT. La dépression majeure et le TSPT partagent en commun tellement de facteurs étiologiques qu'il est difficile de développer un modèle de TSPT qui ne soit pas utilisable pour la dépression. Ces différents protocoles pourraient donc ne pas être spécifiques au seul TSPT. Mais cette problématique est également retrouvée chez l'homme. En effet, certains de leurs symptômes indiquent un chevauchement de ces deux affections (Aspesi et Pinna, 2019 ; Edwards et al., 2013). La dépression majeure est une des plus fréquentes

comorbidités du TSPT (Aspesi et Pinna, 2019 ; Quadir et al., 2017). Plus de la moitié des sujets souffrant de TSPT présentent une dépression majeure. À ce jour, il n'existe aucun marqueur biologique pour départager les deux affections (Schöner et al., 2017). De ce point de vue, les modèles animaux de TSPT reproduisent une caractéristique du TSPT chez l'homme.

Certains des modèles de TSPT présentés dans ce travail proposent des critères pour différencier les animaux vulnérables des animaux résilients. Il n'est pas certain que les critères utilisés conduisent à identifier réellement des sujets vulnérables ou résilients (Deslauriers et al., 2018). Les modèles animaux du TSPT ne tiennent pas non plus compte des facteurs de risque du TSPT (Borghans et Homberg, 2015). Pourtant, le TSPT n'est pas que la conséquence de l'exposition à un événement traumatique mais survient aussi en fonction de l'histoire individuelle des personnes qui en souffrent. Néanmoins, certains auteurs combinent un protocole de stress, comme facteur de risque, avec une procédure de modèles animaux du TSPT. Ainsi, par exemple, de nombreux protocoles de TSPT débutent par un isolement des animaux (Eagle et Perrine, 2013 ; Covington et Miczek, 2005 ; Siegmund et Wotjak, 2007). L'isolation est une procédure qui vulnérabilise les rongeurs (Hofford et al., 2018).

Néanmoins, malgré les difficultés translationnelles et les problèmes de validité des modèles animaux du TSPT, certains items des différents critères diagnostiques du TSPT seraient plus ou moins transposables chez l'animal (Richter-Levin et al., 2019). De nombreux modèles animaux proposent des tests qui ont montré leur pertinence pour évaluer certains symptômes du TSPT. Ainsi par exemple, le test de la peur conditionnée, de la préférence sociale et des réactions de sursaut chez la souris peuvent être comparables ou assez proches, respectivement, des symptômes d'intrusion, de comportement d'évitement et d'hyperréactivité du TSPT (Richter-Levin et al., 2019). Il semble tout aussi évident que la persistance pendant plusieurs jours ou semaines des changements comportementaux induits par un traumatisme chez les rongeurs pourrait faire écho à la longue persistance du TSPT chez l'homme (Richter-Levin et al., 2019). Finalement, malgré leurs limites, les modèles animaux, en accord avec les résultats observés dans les études chez l'homme, sont pertinents pour comprendre le TSPT.

3.6. Conclusion

Le TSPT est une condition chronique. Elle se manifeste par une mémoire traumatique associée à un évènement traumatique mais aussi combinée à une mémoire traumatique non associée qui traduit une généralisation de la peur. Le TSPT est l'expression des dérèglements neurobiologiques induits par l'évènement traumatique. Ces perturbations neuronales impliquent certaines structures dont l'amygdale, l'hippocampe et le cortex préfrontal principalement. Outre ces structures, le TSPT s'accompagne des altérations dans le fonctionnement de nombreux neurotransmetteurs et hormones dont la corticolibérine, le cortisol et la norépinephrine. Malgré la problématique des validités, plusieurs modèles animaux tentent de mimer les modifications comportementales et neurobiologiques induites par le TSPT. Un résumé synthétique de ces modèles animaux de TSPT est présenté dans le tableau 3.1. Parmi ces différents modèles, le choc électrique sera utilisé comme le stresser physique pour induire un TSPT dans le présent travail. Ce modèle est basé sur le conditionnement à la peur qui transforme un stimulus neutre en stimulus aversif responsable d'un comportement conditionné. Malgré leurs nombreuses limites, les modèles animaux du TSPT ont permis d'importantes avancées dans la compréhension du TSPT.

Tablau 3.1. Comparaison des principaux modèles animaux du trouble de stress posttraumatique

Modèle animal	Phénotype comportemental		Rétrocontrôle négatif de l'axe HHS	Anomalie de l'amygdale	Corticotérostérone sérique de base	ISRS
Choc électrique	- Anxiété générale	Oui	<u>Oui*</u>	Oui	<u>Elevé</u>	Oui
	- Anxiété contextuelle	Oui				
	- Hyperréactivité	Oui				
Unique stress prolongé	- Anxiété générale	Oui	Oui	Oui	<u>Elevé</u>	Oui
	- Anxiété contextuelle	<u>?</u>				
	- Hyperréactivité	Oui				
Stress des prédateurs	- Anxiété générale	Oui	Oui	Oui	<u>Elevé</u>	Oui
	- Anxiété contextuelle	Oui				
	- Hyperréactivité	Oui				
Défaite sociale	- Anxiété générale	Oui	<u>?</u>	Oui	<u>Elevé</u>	Oui
	- Anxiété contextuelle	Oui				
	- Hyperréactivité	Oui				
Stress variables imprévisibles	- Anxiété générale	Oui	Oui	Oui	<u>Elevé</u>	Oui
	- Anxiété contextuelle	<u>Non</u>				
	- Hyperréactivité	Oui				

ISRS : Inhibiteur Sélectif de la Recapture de la Sérotonine. HHS : Hypothalamo-Hypophyso-Surrénalien. * : Démontré chez des rats femelles.

Chapitre 4

Modèles animaux de l'interaction entre l'addiction aux drogues et le trouble du stress posttraumatique

Ayant passé en revue les modèles animaux de l'addiction aux drogues ainsi que ceux du TSPT, il est temps de passer en revue les données des études animales sur les relations entre ces deux conditions.

4.1. Introduction

La comorbidité entre l'addiction aux drogues et le TSPT fait actuellement l'objet d'un intérêt grandissant des études précliniques. Jusque dans un passé récent, il n'y avait que très peu d'études animales sur la relation entre ces deux conditions (Gilpin et Wainer, 2017 ; Lisieski et Perrine, 2017). Ceci est lié, entre autres, aux nombreux défis qui se posent à la réalisation d'études animales modélisant cette comorbidité (Gilpin et Wainer, 2017). À ce jour il n'existe aucun modèle animal validé de comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues (Logrip et al., 2012). Les différentes études sur cette comorbidité combinent séquentiellement des modèles validés de ces deux conditions (Seo et al., 2018 ; Lisieski et Perrine, 2017 ; Matchynski-Franks et al., 2016 ; Eagle et al., 2015 ; Eagle et Perrine, 2013). Néanmoins ces procédures séquentielles constituent le premier maillon de l'élaboration d'un protocole animal de cette comorbidité.

Comme pour les études cliniques, la majorité des études animales sur la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues est basée sur la théorie de l'automédication. Ces études se sont principalement focalisées sur l'influence du TSPT sur l'addiction aux drogues. Rares sont les d'études précliniques qui ont analysé l'influence de l'addiction aux drogues sur le TSPT. Dans le présent travail, cet ordre sera suivi. Ainsi ce chapitre s'intéressera d'abord aux données des études de l'influence des modèles animaux du TSPT sur les modèles animaux de l'addiction aux drogues. Ensuite seront présentés les

résultats de l'influence des modèles animaux de l'addiction aux drogues sur des modèles animaux du TSPT. Afin d'alléger le texte, le qualificatif TSPT sera attribué aux animaux qui auront subi une procédure de modèle animal de TSPT.

4.2. Influence du TSPT sur l'addiction aux drogues

Il existe une abondante littérature consacrée aux modèles animaux des relations entre le TSPT et l'addiction aux drogues chez les rongeurs. Néanmoins la majorité de ces études utilisent soit des procédures de stress aigu soit des procédures valides de TSPT mais en période aiguë (Hofford et al., 2018 ; Pizzimenti et al., 2017 ; Logrip et al., 2012). Afin de ne pas faire des amalgames, les résultats qui se rapportent au stress aigu seront présentés séparément de ceux qui se rapportent à des modèles valides du TSPT.

4.2.1. Stress aigu et addiction aux drogues

Le stress est un puissant facteur qui induit la consommation de drogues chez l'homme (Taylor et al., 2016). Les études précliniques reproduisent cette relation entre le stress et la consommation de drogues. À l'instar de ce qui est observé chez l'homme, le stress, et ce quel que soit le type (choc électrique, stress du prédateur, etc.), est susceptible d'induire ou d'amplifier un comportement d'auto-administration, un conditionnement de préférence de place ou une sensibilisation locomotrice à une drogue chez les rongeurs (Mukhara et al., 2018 ; Koob et Volkow, 2016 ; Kreibich et al., 2009 ; Pastor et al., 2012). Cet effet du stress est même observé chez des rongeurs témoins de l'exposition à un événement traumatique de leurs congénères. En effet, des rats qui ont vu leurs congénères recevoir un choc électrique présentent une vulnérabilité plus grande à un comportement d'auto-administration à la cocaïne que des rats contrôles (Logrip et al., 2012). L'activation hormonale ou neuronale de l'axe HHS conduit à des résultats similaires. L'administration de corticostérone augmente l'auto-administration d'éthanol chez les rongeurs (Matthews et al., 2008 ; Moffett et Goeders, 2005).

L'effet du stress sur les comportements d'addictions est influencé par de nombreux facteurs parmi lesquels il y a les caractéristiques liées au stresser, à la drogue, à l'animal et à l'environnement. Des études ont montré que l'effet du stress est dépendant de son intensité. Plus l'intensité du stress

augmente plus grande est la probabilité d'acquisition d'un comportement d'addiction (Mukhara et al., 2018). Ainsi l'utilisation d'un choc électrique de faible intensité ne conduit pas à l'augmentation d'une auto-administration d'éthanol (Matthews et al., 2008). À l'inverse, l'augmentation de l'intensité d'un stress, par exemple par le nombre de séances de confrontation lors d'une procédure de défaite sociale, stimule une auto-administration d'éthanol chez les rats (Logrip et al., 2012). Le caractère prédictible ou non d'un stress influence aussi son efficacité à induire un comportement d'addiction. Un stress imprévisible conduit à l'observation d'un comportement d'auto-administration ou de sensibilisation locomotrice à la cocaïne plus important que celui provoqué par un stress prévisible (Logrip et al., 2012 ; Covington et Miczek, 2005). La dose de la substance d'abus joue aussi un rôle important en majorant l'effet du stress. En effet, l'effet du stress est plus important sur le comportement d'auto-administration chez les rongeurs qui ont bénéficié d'un long accès plutôt que d'un court accès à une drogue (Quadros et Miczek, 2009). De plus, la rechute à un comportement d'auto-administration de cocaïne induit par un stress d'intensité donnée est proportionnelle aux doses de la drogue antérieurement auto-administrée (Blacktop et al., 2016 ; Mantsch et al., 2008). Le rôle du type de souche est tout aussi primordial. Les souches résistantes dans un modèle animal de l'addiction ne deviennent pas vulnérables à la suite d'une exposition à un facteur de stress. Ainsi les souris DBA/2J, réfractaires à l'auto-administration de l'éthanol, ou les souris C57BL/6J, réfractaires à la sensibilisation locomotrice à l'éthanol, n'acquièrent pas ces comportements après une exposition à un choc électrique (Matthews et al., 2008). Les différences individuelles au sein d'une même souche de rongeurs constituent un élément à prendre en compte. Pour une même souche, les groupes vulnérables au stress exhibent une vulnérabilité à la sensibilisation locomotrice et à l'auto-administration des substances d'abus plus grande que leurs congénères (Taylor et al., 2016 ; Edwards et al., 2013). Le contexte d'exposition au stress influence aussi l'acquisition du comportement d'addiction. Par exemple, les rongeurs hébergés dans le contexte du choc électrique n'acquièrent pas un comportement d'auto-administration de l'alcool (Logrip et al., 2012). Ainsi les effets aigus du stress sur les substances d'abus sont modulés par de nombreux facteurs.

L'un des faits remarquables de la relation entre le stress et l'addiction aux drogues est l'existence d'une sensibilisation croisée entre ces deux troubles (Santos-Rocha et al., 2018 ; Holly et al., 2016). La sensibilisation croisée stress - addiction consiste en ce qu'un stress augmente la réactivité comportementale ou neuronale à une drogue (Quadros et Miczek, 2009). De nombreux modèles animaux de stress conduisent à une sensibilisation comportementale des effets stimulants des drogues

(Santos-Rocha et al., 2018 ; Covington and Miczek, 2001 ; Kalivas and Duffy, 1989 ; Sorg and Kalivas, 1991), au conditionnement de préférence de place (Kreibich et al., 2009 ; Rozeske et al., 2009 ; McLaughlin et al., 2006) et à l'auto-administration (Beck and O'Brien, 1980 ; Goeders et Guerin, 1996 ; Haney et al. 1995 ; Tidey and Miczek, 1997). Les animaux stressés exhibent un conditionnement de préférence de place à la cocaïne d'une amplitude plus élevée que celle des animaux contrôles (Kreibich et al., 2009). Cette sensibilisation croisée peut réduire le seuil nécessaire à l'acquisition d'un comportement d'addiction aux drogues. Les rats et les souris stressés peuvent acquérir le conditionnement de préférence de place ou un comportement d'auto-administration des substances d'abus à des doses qui ne permettent pas leur acquisition chez leurs contrôles (Kreibich et al., 2009 ; Moffet et Goeders, 2005 ; Goeders et Guerin, 1994). La sensibilisation croisée explique aussi la survenue de rechutes induites par le stress (Santos-Rocha et al., 2018). En effet, l'exposition à un stresser réinstalle un comportement de recherche de drogues préalablement éteint (Matthews et al., 2008). Il faut noter que la sensibilisation croisée ne concerne pas que le stress et l'addiction aux drogues. Il avait déjà été fait mention dans le premier chapitre, sans pour autant la nommer, de l'existence d'une sensibilisation croisée entre les différentes drogues. Ainsi par exemple les rongeurs sensibilisés à la morphine ou à l'amphétamine expriment une sensibilisation locomotrice à la cocaïne (Valjent et al., 2010 ; Quadros et Miczek, 2009). Cette sensibilisation croisée entre différentes molécules souligne, une fois de plus, l'existence de mécanismes communs à l'addiction. Ces mécanismes pourraient sous-tendre la théorie de la « gateway » qui explique, entre autres, le passage d'une addiction à une drogue vers une autre. Similairement, la sensibilisation croisée entre le stress et l'addiction pourrait résulter de l'existence de mécanismes communs mais pas forcément les mêmes que ceux impliqués dans la sensibilisation croisée entre deux drogues (Quadros et Miczek, 2009).

Néanmoins les résultats des études des effets du stress sur l'addiction aux drogues soulèvent de nombreuses controverses (Matthews et al., 2008). L'exposition à un stresser dans un modèle animal de l'addiction aux drogues ne conduit pas toujours à l'observation d'un effet significatif. En effet, plusieurs études ont conclu à une absence d'effet ou même à un effet inhibiteur du stress sur un comportement d'auto-administration, de sensibilisation locomotrice ou de conditionnement de préférence de place à la cocaïne, à l'éthanol, à l'amphétamine ou à la méthamphétamine (Seo et al., 2018 ; Logrip et al., 2012). Similairement, une administration de corticostérone immédiatement avant une procédure d'auto-administration de méthamphétamine peut ne pas induire un comportement d'auto-administration (Lewis et al., 2016 ; Taylor et al., 2016 ; Moffett et Goeders, 2005).

Il est intéressant de noter que l'existence d'un intervalle libre après l'exposition à un stresseur majore les comportements d'auto-administration de drogues. Cet effet s'observe déjà quelques heures à quelques jours après l'exposition au stress (Logrip et al., 2012 ; Doremus-Fitzwater et Spear, 2010 ; Mathews et al. 2008). Cette donnée préfigure l'effet des modèles animaux du TSPT car ceux-ci sont caractérisés, entre autres, par l'existence d'un intervalle libre après l'exposition à un stresseur.

4.2.2. TSPT et addiction aux drogues

4.2.2.1. TSPT et addiction en général

Le TSPT est une condition chronique différente du stress aigu. Des taux plasmatiques normaux ou bas de cortisol, contrairement à ce qui est observé au cours d'un stress aigu, en sont l'une de ses principales caractéristiques. Le TSPT est un trouble associé à une réponse inadaptée du cortisol. Une administration de corticostérone préalablement à l'exposition à un stresseur réduit les « symptômes » du TSPT chez les rongeurs (Malikowska-Racia et Salat, 2019). Toutefois, la corticostérone n'est pas un marqueur spécifique au stress. Les taux de corticostérone plasmatique s'élèvent dans nombreuses situations non stressantes, comme lors de l'alimentation ou de l'acte sexuel (Mukhara et al., 2018). De plus, son élévation ne porte pas toujours à conséquence sur des comportements d'addiction (Kreibich et al., 2009 ; Covington et Miczek, 2005). Ainsi par exemple, bien que les rats résidents et intrus présentent une élévation de corticostérone lors des confrontations dans une procédure de défaite sociale, seuls les rats intrus acquièrent un comportement d'auto-administration de cocaïne (Covington et Miczek, 2005). Néanmoins, à défaut d'un marqueur plus spécifique, la différence entre un stress aigu et un stress chronique est basée sur la pharmacocinétique de la corticostérone. Ainsi, un intervalle libre d'une semaine après l'exposition à un stresseur semble faire consensus pour caractériser une condition non aiguë (Deslauriers et al., 2018). Cette période est caractérisée par un retour à la normale ou à des valeurs plus basses de corticostérone plasmatique.

Comme pour le stress aigu, les procédures du TSPT qui respectent un intervalle libre de quelques jours observent une sensibilisation croisée avec les drogues. Ainsi par exemple, les rats qui ont subi une défaite sociale peuvent exprimer une réponse motrice induite par une administration d'amphétamine à des faibles doses qui ne modifient pas l'activité locomotrice de leurs contrôles (Covington et Miczek,

2005). Toutefois, au-delà de ces similitudes il y a des différences notables entre les résultats observés avec des stress aigus et les modèles animaux du TSPT.

Les différents modèles animaux de l'addiction couvrant des facettes différentes de l'addiction, les effets du TSPT sur chacun d'eux donne des renseignements spécifiques mais complémentaires sur la relation entre le TSPT et l'addiction aux drogues.

4.2.2.2. TSPT et comportement d'auto-administration

Les études des effets du TSPT sur l'addiction aux drogues ont été majoritairement réalisées sur des comportements d'auto-administration. Malgré cela, les effets à long terme du TSPT dans les modèles animaux d'addiction aux drogues demeurent mal connus (Pizzimenti et al., 2017 ; Logrip et al., 2012 ; Kreibich et al., 2009). Ce que l'on sait de la relation entre ces deux conditions provient surtout des études qui utilisent les modèles animaux du TSPT comme modèles de stress aigu (Hooford et al., 2018 ; Pizzimenti et al., 2017 ; Logrip et al., 2012). Néanmoins il semble bien que le stress aigu et le TSPT ne produisent pas les mêmes effets sur les comportements addictifs. Ainsi, une période d'incubation après l'exposition à un stress facilite l'expression d'un comportement d'auto-administration (Logrip et al., 2012). Toutefois, la période d'incubation du TSPT ne suffit pas à elle seule à expliquer la réponse du comportement d'auto-administration d'une drogue (Schwendt et al., 2018 ; Eagle et al., 2015 ; Quadros et Miczek, 2009). En effet, les rats TSPT s'auto-administrent autant de cocaïne que les rats non stressés aussi bien lors des protocoles à accès limité que ceux à accès étendu. Les différences entre les deux groupes apparaissent lors des procédures de renforcement. Comparés aux rats non TSPT, les rats ayant subi une défaite sociale présentent, lors du renforcement progressif, un point d'arrêt plus élevé à l'auto-administration à la cocaïne (Holly et al., 2016 ; Quadros et Miczek, 2009 ; Covington et Miczek, 2005). De plus, lors des protocoles d'accès étendu à 24 heures, les rats défaits s'auto-administrent de plus grandes quantités de cocaïne que les rats non TSPT (Holly et al., 2016 ; Quadros et Miczek, 2009 ; Covington et Miczek, 2005). Ceci est dû au fait que les rats TSPT s'auto-administrent la cocaïne plus longtemps que les rats non TSPT (Quadros et Miczek, 2009 ; Covington et Miczek, 2005). En effet, la majorité de ces animaux arrêtent de s'auto-administrer la cocaïne après 10 à 16 heures alors que la majorité des rats TSPT continuent à le faire (Covington et Miczek, 2005). Les rats TSPT montrent donc une persévérance plus élevée à s'auto-administrer la

cocaïne. Les effets du TSPT semblent donc mieux s'observer dans les procédures de renforcement et au-delà des mécanismes d'arrêt du comportement d'auto-administration.

4.2.2.3. TSPT et conditionnement de préférence de place

Les rares résultats disponibles de l'influence des modèles animaux du TSPT sur le conditionnement de préférence de place sont assez contradictoires. Certaines études concluent que le TSPT n'influence pas le conditionnement de préférence de place alors que d'autres auteurs observent que le TSPT majore le conditionnement de préférence de place. Burke et collaborateurs (2011) ont observé une augmentation de conditionnement de préférence de place à l'amphétamine chez des rats adultes qui avaient subi une défaite sociale dans la période adolescente (Burke et al., 2011). De même, la défaite sociale induit une expression de conditionnement de préférence de place pour l'alcool ou la cocaïne plus élevée chez les animaux TSPT comparativement aux animaux contrôles (Macedo et al., 2018 ; Stelly et al., 2016). À ce jour il n'est pas connu si cet effet pourrait être influencé par la dose de la substance d'abus. En effet, il a été observé que la défaite sociale augmentait le conditionnement de préférence de place de la même manière pour des doses différentes d'alcool pouvant induire un conditionnement de préférence de place (Macedo et al., 2018). Contrairement aux études de l'effet du stress aigu qui montrent une augmentation de l'expression du conditionnement de préférence de place avec des faibles doses ne l'induisant pas chez les animaux contrôles, il n'y a aucune donnée sur un effet similaire du TSPT sur le conditionnement de préférence de place.

4.2.2.4. TSPT et sensibilisation locomotrice aux effets stimulants des drogues

La plupart des études consacrées aux effets du TSPT sur la sensibilisation locomotrice se contentent d'analyser la réponse à la première exposition à une drogue (Macedo et al., 2018 ; Pastor et al., 2012 ; Quadros et Miczek, 2009). Ces études évaluent en réalité l'influence du TSPT sur les effets aigus des drogues (Eagle et al., 2015 ; Eagle et Perrine, 2013). Effectivement, comme il a été expliqué au chapitre deux, les mécanismes qui sous-tendent la réponse à la première exposition à une drogue diffèrent, tout au moins en partie, de ceux qui sous-tendent les réponses à une exposition répétée. Les résultats obtenus des effets du TSPT sur la première exposition à une drogue sont beaucoup plus mitigés que ceux observés avec les effets du stress aigu. Les quelques rares études sur l'influence du

TSPT ne permettent pas dégager une tendance sur l'existence d'un phénomène de « sensibilisation croisée » à la première exposition à une drogue. Certains auteurs observent une augmentation de l'activité locomotrice induite par la cocaïne ou l'amphétamine chez des rats ayant subi une défaite sociale comparativement aux animaux contrôles (Quadros et Miczek, 2009 ; Covington and Miczek, 2005). À l'inverse, d'autres auteurs n'observent pas un effet modulateur du TSPT sur l'activité locomotrice (Eagle et Perrine, 2013). Pire, d'autres auteurs encore observent une réduction de l'activité locomotrice induite par une première administration d'éthanol, de cocaïne ou de méthamphétamine chez des rongeurs ayant subi une défaite sociale ou un stress unique prolongé comparativement à leurs contrôles ou à l'activité basale (Le Dorze et al., 2019 ; Macedo et al., 2018 ; Eagl et al., 2015). Toutefois, la réalité est plus complexe que ne laissent voir ces observations.

Globalement, on pourrait penser que le TSPT ne modifie pas l'activité locomotrice induite par une drogue. Il faut toutefois tenir compte de certains facteurs. Le premier facteur à prendre en compte est la faible mobilité des rongeurs TSPT dans un nouveau contexte. En effet, les animaux TSPT sont caractérisés par une faible activité locomotrice comparativement aux animaux contrôles (Macedo et al., 2018 ; Schwendt et al., 2018 ; Taylor et al., 2016 ; de Lange et al., 2008). De nombreux auteurs ont observé que les rongeurs TSPT placés dans l'open field, la chambre claire-obscur ou le labyrinthe en croix surélevé, expriment une activité locomotrice inférieure à celle des animaux contrôles. Pourtant, les résultats d'une étude de Eagle et Perrine (2013) tempèrent ce constat. Ces auteurs, au cours de sessions de trente minutes dans un open field, ont observé que l'activité locomotrice induite par la méthamphétamine des animaux TPST augmentait progressivement au fur et à mesure du déroulement de la session pour finalement devenir supérieure à celle de leurs contrôles. Ce phénomène se poursuit d'ailleurs avec la répétition de sessions. Cela pourrait expliquer pourquoi les animaux TSPT expriment une activité locomotrice induite par les drogues inférieure ou identique à celle de leurs contrôles lors des sessions de courtes durées (Eagle et al., 2015). Il se peut que les animaux TSPT, débarrassés du stress lié à l'effet du nouveau contexte, expriment une activité locomotrice supérieure à celle des animaux contrôles en réponse à la première exposition à une drogue. Cette hypothèse pourrait être testée par l'utilisation, entre autres, d'une procédure d'habituation dont il est connu qu'elle annule l'effet de la nouveauté du contexte sans annihiler le stress des animaux (Covington et Miczek, 2005). L'effet du TPST pourrait alors être évalué en testant l'effet du TSPT sur des sessions de plus longues durées que celles habituellement utilisées par les différentes études sur le sujet.

Les données de l'influence du TSPT sur l'expression de la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de drogues sont rares. Les données disponibles proviennent essentiellement d'un groupe de chercheurs américains. Ces chercheurs ont publié trois articles de l'influence de l'unique stress prolongé sur la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de la méthamphétamine, de la cocaïne et de l'alcool. De leurs trois articles nous ne discuterons pas de l'étude portant sur la sensibilisation locomotrice induite par l'éthanol qui a été menée sur des souris C57BL/6, une souche peu ou pas sensible à la sensibilisation locomotrice à cette substance (Matchynski-Franks et al., 2017). Les études de ces chercheurs sur la méthamphétamine et la cocaïne fournissent des résultats contradictoires entre les deux études et même au sein de chacune de ces études. En effet, ces chercheurs ont observé que le « single prolonged stress » test augmentait la mesure intra-sujet de l'expression de la sensibilisation locomotrice à la cocaïne, mesure évaluée par l'augmentation de l'activité à la dernière administration comparativement à l'activité à la première administration (Perrine et al., 2015). Toutefois, cet effet était lié à la faible activité locomotrice des rats TSPT exprimée en réponse à l'effet aigu de la cocaïne. Cette explication est soutenue par l'observation d'un comportement sensibilisé identique entre les rats TSPT et leurs contrôles. Rappelons que le comportement sensibilisé est une mesure intergroupes de l'expression de la sensibilisation locomotrice. D'autre part, la mesure intergroupes de la sensibilisation aux effets stimulants de la méthamphétamine a conduit à un résultat contradictoire (Eagle et Perrine, 2013). En effet, les rats TSPT avaient exprimé une sensibilisation locomotrice plus élevée pour le comportement sensibilisé alors que le test des effets chroniques n'avait montré aucune différence entre les groupes. Il faut toutefois noter que pour l'étude sur la méthamphétamine le groupe contrôle, recevant la même dose que les rats TSPT, avait exprimé une sensibilisation locomotrice plus faible. Les auteurs de cette étude ont démontré, de manière très élégante, que ce résultat surprenant était lié à des stéréotypies plus fréquentes dans le groupe contrôle que dans le groupe TSPT. Rappelons que ces mouvements anormaux et non linéaires, bien qu'étant l'expression d'une forte sensibilisation neuronale, masquent la sensibilisation locomotrice qui est évaluée par des déplacements linéaires (Brabant et al., 20014 ; Robinson et Berridge, 2008). Ces résultats contradictoires et parcellaires ne permettent donc pas des conclusions sur l'influence du TSPT sur la sensibilisation locomotrice induite par les drogues. Visiblement la carence de données sur l'influence du TSPT sur la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de drogues ne permet pas une avancée significative dans compréhension de cette relation. Néanmoins ces études fournissent quelques renseignements for intéressants.

Au-delà de la nature des substances étudiées, la différence de durées de session entre les études, cinq minutes pour la cocaïne et trente minutes pour la méthamphétamine, constitue l'une des explications de la divergence entre ces deux études. Pour autant les trois études de cette équipe de chercheurs fournissent d'autres informations pertinentes particulièrement sur le rôle de la dose de la drogue. La dose des drogues étudiées, particulièrement les faibles doses et les doses élevées, est l'un des paramètres à tenir en compte dans l'influence du TSPT sur l'addiction aux drogues. Il a été démontré que les rats TSPT sont plus susceptibles aux faibles doses de méthamphétamine que les rats non TSPT (Eagle et Perrine, 2013). Tout se passe comme si que le TSPT réduisait le seuil nécessaire pour induire une activité locomotrice en réponse à une drogue. Un phénomène similaire a été décrit plus haut sur l'influence du stress aigu sur le conditionnement de préférence de place. À ce jour aucune étude n'a été réalisée pour reproduire ce résultat. Et nul ne sait si cette observation est particulière à la méthamphétamine ou si elle est généralisable aux autres drogues. Personne non plus n'a utilisé un autre stressor que le « single prolonged stress » pour reproduire ce résultat. Pour les doses élevées, l'observation d'un effet préventif du TSPT contre les stéréotypies pour les doses élevées mérite d'être explorée. Cet effet pour le moins inattendu semble en contradiction avec les études antérieures qui montrent que la corticolibérine, dont la concentration est élevée dans le TSPT, module l'expression des stéréotypies. En effet les antagonistes spécifiques et non spécifiques des récepteurs CRF1 réduisent les stéréotypies induites par les drogues (Lu et al., 2003). De plus, la confirmation de ce résultat ouvrirait la porte à la problématique de la mesure de la sensibilisation locomotrice chez les animaux TSPT. Outre la dose, la souche des rongeurs joue aussi un rôle considérable. Dans l'une des rares études sur le TSPT et la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de l'éthanol, Matchynski-Franks et collaborateurs (2017) ont observé que le « single prolonged stress » empêchait l'acquisition et l'expression de la sensibilisation locomotrice. Mais cette équipe reconnaissait avoir travaillé sur une souche de souris reconnue comme n'exprimant pas ou très peu une sensibilisation locomotrice à l'éthanol. Des études supplémentaires sont donc nécessaires afin d'améliorer la compréhension de l'influence du TSPT sur la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants des drogues.

4.3. Influence de l'addiction aux drogues sur le TSPT

4.3.1. Introduction

L'influence d'une exposition chronique aux drogues sur l'expression du TSPT est une préoccupation rencontrée aussi bien dans les études cliniques que précliniques (Quiñones-Laracuente et al., 2015). Le précédent chapitre de ce travail montre que l'exposition chronique aux drogues active le système de stress (Taylor et al., 2016 ; Koob et al., 2014). Le TSPT étant par essence une affection associée à un dysfonctionnement de ce système, cela soulève la question d'une éventuelle vulnérabilité au TSPT induite par une addiction aux drogues (Covington et al., 2005). À l'instar des études chez l'homme, il existe une carence criante des études sur l'influence de l'addiction aux drogues sur le TSPT, et encore moins sur l'expression des symptômes du TSPT. À côté de ces rares études existent d'autres études ayant analysé l'effet des drogues sur des comportements isolés du TSPT, particulièrement la peur conditionnée. Le TSPT étant une condition définie par une constellation de symptômes regroupés dans quatre groupes de critères, il convient plutôt d'analyser les effets de l'addiction aux drogues sur chacune de ses caractéristiques.

4.3.2. Influence de l'addiction sur l'évènement traumatique

Le traumatisme est le « primum movens » d'une cascade d'évènements qui conduisent à l'installation du TSPT. Naturellement, une première préoccupation porte sur les effets de l'addiction aux drogues sur la perception de l'évènement traumatique (Gulick et Gould, 2007 ; Wood et al., 2007). En effet, il est raisonnable de se demander si la vulnérabilité au TSPT proviendrait d'une sensibilité plus élevée à l'évènement traumatique chez les sujets souffrant d'addiction aux drogues. Les études précliniques s'accordent sur le fait que l'exposition aiguë ou répétée aux drogues n'entraîne pas une sensibilité plus importante à un évènement traumatique. En effet, la réaction au moment du choc électrique n'est pas modifiée par une exposition à l'éthanol ou la cocaïne administrés aux animaux quelques minutes plutôt (Gulick et Gould, 2007 ; Wood et al., 2007). De la même façon, l'auto-administration en accès limité de l'éthanol vingt-quatre heures avant n'influence pas non plus le stress induit par l'odeur d'un prédateur (Edwards et al., 2013).

4.3.3. Influence de l'addiction sur les symptômes d'intrusion

La peur conditionnée reflète les symptômes d'intrusion du TSPT. De tous les comportements des modèles animaux du TSPT, elle constitue le premier changement observable à la suite d'une exposition à un événement traumatique. Elle apparaît d'emblée après la session d'acquisition de la peur conditionnée (Gulick et Gould, 2007 ; Siegmund et Wotjak, 2007). Elle est d'emblée maximale et son intensité demeure inchangée durant plusieurs semaines (Siegmund et Wotjak, 2007).

L'influence de drogues sur la peur conditionnée peut s'analyser sur deux niveaux, d'une part du caractère chronique ou non de l'exposition à la drogue, et d'autre part en fonction du moment de l'exposition à la substance d'abus. L'analyse du moment de l'exposition à la drogue est particulièrement importante en ce qu'il permet d'étudier l'influence de drogues aussi bien sur l'acquisition que sur l'expression de la peur conditionnée : l'acquisition est analysée par une exposition préalable des drogues alors que l'expression est analysée par une exposition préalable de l'événement traumatique. L'acquisition de la peur conditionnée est influencée par une exposition aiguë aux substances d'abus. En effet, l'administration de l'éthanol ou de la cocaïne quelques minutes avant l'exposition à un choc électrique modifie l'expression de la peur conditionnée (Gulick et Gould, 2007 ; Wood et al., 2007). Certaines études montrent un effet inverse sur la peur conditionnée en fonction de la dose de la drogue administrée. En effet, des auteurs ont observé que des faibles doses de cocaïne ou d'éthanol augmentent le freezing des animaux alors que l'augmentation de doses conduit à la réduction du freezing (Gulick et Gould, 2007 ; Wood et al., 2007). En revanche, l'exposition aiguë à une drogue après la survenue d'un choc électrique ne modifie pas l'expression de la peur conditionnée (Gulick et Gould, 2007). Une autre observation soutient ce constat. En effet, une administration d'une dose d'éthanol le lendemain de la survenue de chocs électriques ne modifie pas non plus l'extinction de la peur conditionnée évaluée plusieurs jours après (Quiñones-Laracunte et al., 2015). À l'inverse, une répétition d'expositions à une drogue à la suite d'une exposition à un événement traumatique modifie l'expression de la peur conditionnée. Une administration répétée d'éthanol débutant dès le lendemain du choc électrique augmente le freezing des rats dont la peur conditionnée est testée plusieurs jours après le traumatisme (Quiñones-Laracunte et al., 2015). Cette exposition répétée réduit aussi leur extinction de la peur conditionnée lorsqu'elle est testée plus d'une semaine après la survenue d'un choc électrique (Quiñones-Laracunte et al., 2015). Cette modulation de l'éthanol sur la peur conditionnée disparaît quelques jours après la dernière administration

d'éthanol (Quiñones-Laracuate et al., 2015). Cet effet sur la peur conditionnée ne semble pas être lié à un éventuel sevrage. En effet, chez les rongeurs, le sevrage à l'éthanol ne s'observe pas au-delà de 48 heures après la dernière injection (Quiñones-Laracuate et al., 2015). Ainsi l'exposition aiguë et répétée des substances d'abus modulent différemment la peur conditionnée

4.3.4. Influence de l'addiction sur la peur sensibilisée

La peur sensibilisée mime l'hyperréactivité du système nerveux autonome du TSPT. Comme chez l'homme, son expression nécessite une période d'incubation de quelques jours (Siegmund et Wotjak, 2007). Contrairement à la peur conditionnée, son évolution est progressive pour atteindre une intensité maximale plusieurs semaines après l'exposition à un événement traumatique (Siegmund et Wotjak, 2007). L'interprétation de l'influence de drogues sur la peur sensibilisée doit tenir compte aussi bien de leur effet sur l'acquisition de la peur conditionnée que de la durée d'incubation nécessaire à l'éclosion de la peur sensibilisée. Une administration aiguë de méthamphétamine la veille d'une exposition à un événement traumatique n'influence pas la peur sensibilisée testée le lendemain de l'exposition à l'événement traumatique (Luikinga et al., 2019). À l'inverse l'existence d'une période d'incubation conduit à l'observation d'un effet des drogues sur la peur sensibilisée. Et comme pour la peur conditionnée, les faibles doses d'éthanol et de cocaïne augmentent le freezing alors que des doses plus élevées réduisent le freezing des animaux TSPT (Gulick et Gould, 2007 ; Wood et al., 2007). L'exposition répétée de substance d'abus conduit à la même conclusion. Lisieski et Perrine (2017) ont observé que la sensibilisation locomotrice à la cocaïne entraînait une augmentation de l'hyperréactivité.

4.3.5. Influence de l'addiction sur les comportements d'évitement

Cette composante ne semble pas avoir fait l'objet d'une étude. Cela est dû notamment par la carence d'études sur l'influence de l'addiction sur les symptômes du TSPT. Mais aussi en l'absence de consensus sur le test approprié pour évaluer les comportements d'évitement. En effet, les tests le plus souvent utilisés, le labyrinthe en croix surélevé, la chambre claire-obscur et l'open field, ne font pas l'objet d'un consensus sur leur capacité à évaluer les comportements d'évitement.

4.4. Neurobiologie de la comorbidité entre l'addiction aux drogues et le TSPT

La neurobiologie de l'influence réciproque du TSPT et de l'addiction aux drogues n'est pas bien connue notamment à cause de la rareté des études précliniques (Gilpin et Wainer, 2017 ; Kreibich et al., 2009). De plus, cette neurobiologie est essentiellement basée sur la relation entre le stress aigu, plutôt que le TSPT, et l'addiction aux drogues. La relation entre le TSPT et l'addiction aux drogues est caractérisée par une auto-activation mutuelle des systèmes de récompense et de stress (Uhl et al., 2019 ; Mukhara et al., 2018 ; Santos-Rocha et al., 2018 ; Koob et Volkow, 2016). La compréhension des mécanismes neurobiologiques sous-tendant cette comorbidité est essentielle pour le développement de traitements efficaces (Blacktop et al., 2016). Certains éléments de la relation entre l'addiction aux drogues et le TSPT ont été ébauchés dans les chapitres deux et trois. Afin de ne pas faire une redite de ces chapitres, cette section se limitera à donner un bref aperçu de la neurobiologie de la relation entre le TSPT et l'addiction aux drogues. Et ce d'autant plus que les données disponibles sont fournies par des études sur la relation entre le stress et l'addiction aux drogues.

4.4.1. Corticolibérine et axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien

Les nombreuses études sur le système de stress sont celles qui apportent la plus grande contribution à la compréhension de la neurobiologie de l'addiction et du TSPT. L'activation de l'axe HHS, particulièrement de la corticolibérine, constitue la pierre angulaire de la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues (Pastor et al., 2008). En effet, la corticolibérine, joue un rôle majeur dans le TSPT tout comme dans l'addiction aux drogues (Roberto et al., 2017 ; Logrip et al., 2012 ; Kreibich et al., 2009). Ceci démontre l'interconnexion du circuit de stress avec le système de récompense (Mukhara et al., 2018). Néanmoins le rôle de la corticolibérine dans la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues demeure encore flou. En effet les antagonistes de la corticolibérine réduisent le comportement d'auto-administration de la cocaïne aussi bien chez des rats stressés que non stressés (Mukhari et al., 2018). Plus encore, l'utilisation des antagonistes des récepteurs de la corticolibérine ne réduisent ni des comportements d'auto-administration de la cocaïne chez des primates non humain (Mukhari et al., 2018 ; Mello et al., 2006) ni le craving chez d'anxieuses femmes alcooliques (Mukhari et al., 2018 ; Schwandt et al., 2016).

Le cortisol aussi joue un rôle dans l'influence du TSPT sur l'addiction aux drogues. Néanmoins, il a été observé que l'administration de méthamphétamine s'accompagne d'une augmentation de corticostérone de même ampleur chez les rats contrôles et les rats choqués par un courant électrique alors que ces derniers présentent déjà des taux plus élevés de corticostérone (Moffett et Goeders, 2005). Ainsi, si le rôle de la corticostérone dans les modèles animaux d'addiction ne souffre d'aucune contestation, il est de plus en plus évident que son élévation n'est pas une cause suffisante pour expliquer l'acquisition et ou l'expression d'un comportement d'auto-administration, de conditionnement de préférence de place ou de sensibilisation locomotrice (Kreibich et al., 2009 ; Moffett et Goeders, 2005). Le rôle du cortisol dans la relation entre le TSPT et l'addiction aux drogues reste à préciser.

4.4.2. Voies dopaminergiques

La sensibilisation méso-cortico-limbique est un des éléments clés de la sensibilisation croisée entre le TSPT et l'addiction aux drogues (Garcia-Keller et al. 2013). Le stress influe sur l'augmentation de la sensibilité dopaminergique du noyau accumbens. Comme cela a été dit dans le précédent chapitre, une augmentation de libération de la dopamine est observée avec différents modèles animaux de stress. Le stress et les drogues augmentent la plasticité glutamatergique au niveau de l'ATV (Mukhari et al., 2018). Cette augmentation de la neuroplasticité glutamatergique au niveau de l'ATV induite par le stress augmente les effets des drogues (Mukhari et al., 2018). Il a été observé, sur des rats soumis à un paradigme de défaite sociale, une augmentation de la potentialisation à longue durée des récepteurs NMDA des neurones dopaminergiques de l'ATV (Mukhari et al., 2018; Stelly et al., 2016). Cette augmentation de la potentialisation à longue durée, à son tour, accroît la décharge des neurones dopaminergiques de l'ATV en réponse aux stimuli associé aux drogues.

4.4.3. Autres

Les perturbations des systèmes de récompense et du stress ne suffisent pas à elles seules à expliquer la comorbidité entre l'addiction aux drogues et le TSPT. Plusieurs autres neuromédiateurs sont incriminés dans la relation entre ces deux conditions. Le rôle des récepteurs GABAergiques dans la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues n'est pas très bien connu. Un comportement de recherche de cocaïne induit par le stress est associé à une perturbation de la transmission synaptique

GABAergique dans l'ATV (Blacktop et al., 2016 ; Graziane et al., 2013). Le rôle du glutamate dans la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues est tout aussi certain que celui des autres substances décrites ci-haut. Comme expliqué plus haut, la corticolibérine agit, entre autres, sur l'ATV en augmentant la libération du glutamate (Blacktop et al., 2016). Les effets du glutamate sur l'addiction aux drogues ont déjà été plusieurs fois soulignés. Le rôle du système sérotoninergique est tout aussi important dans la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues. Son rôle est surtout mis en évidence par son influence dans le traitement thérapeutique du TSPT. Les études animales montrent que les ISRS, les agonistes sérotoninergiques et certains antagonistes sérotoninergiques réduisent l'acquisition et la reprise d'un comportement d'auto-administration de l'éthanol induit par le stress (Logrip et al., 2012). Toutefois, leur action pourrait ne se porter que sur le TSPT ou la dépression associée au TSPT. Le système adrénargique est aussi impliqué dans les relations entre le TSPT et l'addiction aux drogues. Les récepteurs adrénargiques $\alpha 1$, activés par un événement stressant, entraînent la libération de dopamine par l'ATV (Stelly et al., 2016). L'utilisation des agonistes des récepteurs adrénargiques $\alpha 2$ empêche la réinstallation, par le stress, d'un comportement d'auto-administration de l'alcool, de la cocaïne, de l'héroïne et de la nicotine (Logrip et al., 2012). À l'inverse, l'utilisation de la yohimbine, un antagoniste des récepteurs $\alpha 2$ ayant des propriétés anxiogènes, induit la réinitialisation d'un comportement de recherche de l'éthanol, des psychostimulants et des opiacés (Logrip et al., 2012).

De nombreux autres systèmes et substances jouent un rôle dans la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues (Ferland et al., 2016). Il s'agit entre autres des récepteurs aux opioïdes, de l'ocytocine, de la vasopressine, de l'orexine, du neuropeptide Y, et de tant d'autres molécules. Les rares études sur ces substances indiquent qu'ils modulent au moins l'une des conditions de la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues (Logrip et al., 2012). Néanmoins, le présent travail ne s'appesantira pas sur ces diverses substances dont le rôle ne fait pas encore l'objet d'une abondante littérature.

4.5. Conclusion

Les relations entre le TSPT et l'addiction aux drogues font l'objet de nombreuses recherches. La grande majorité des travaux porte sur le stress aigu et non pas sur le TSPT. Cependant, les résultats des études qui utilisent des modèles animaux du TSPT se démarquent nettement de ceux utilisant une

procédure de stress aigu. Malheureusement, les données des études précliniques des relations réciproques entre le TSPT et l'addiction sont encore rares, parcellaires et essentiellement basées sur l'utilisation de stress aigu. Ces études ne permettent donc pas de dégager des tendances sur les relations entre le TSPT et l'addiction aux drogues. Ceci est particulièrement vrai pour l'influence de l'addiction sur le TSPT. C'est un nouveau champ d'investigation à défricher. Il y a donc une vraie nécessité des études dans ce domaine afin de caractériser les relations entre le TSPT et l'addiction aux drogues mais aussi pour en comprendre la neurobiologie. Ce n'est qu'à ce prix que des thérapeutiques efficaces pourront être mises au point afin de prendre en charge les personnes qui souffrent de cette comorbidité.

Partie expérimentale

Chapitre 5

Synthèse et objectifs de la recherche

Ce chapitre, intermédiaire entre les parties théorique et empirique, retrace les points abordés lors des précédents chapitres et dessine le contour des chapitres à venir. Il trace le fil conducteur expliquant la succession des différents chapitres. La base théorique sous-tendant la présente thèse a été décrite dans les quatre premiers chapitres. Le premier chapitre a décrit la problématique de la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues chez l'homme. Les deuxième et troisième chapitres ont disséqué chacune de ces deux problématiques chez l'animal. Le quatrième chapitre, sur base des deux chapitres précédents, a décrit les problématiques de la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues chez l'animal. Le sixième chapitre décrira la méthodologie exploitée dans les études des chapitres septième à neuvième. Le chapitre dixième clôturera le présent travail par une discussion générale et des perspectives pour le futur.

Le chapitre 1 a présenté une revue de littérature de la comorbidité entre l'addiction aux drogues et le TSPT. Ce chapitre définissait brièvement ces deux concepts et décrivait les aspects épidémiologiques, théoriques et physiopathologiques de la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues. Au-delà des considérations étiologiques, ce chapitre exposait les préoccupations actuelles sur l'influence réciproque de ces deux conditions, d'une part l'influence du TSPT sur l'addiction aux drogues, et d'autre part la spécificité de l'addiction aux substances d'abus sur l'expression des symptômes du TSPT. Les limites méthodologiques et éthiques des études de la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues justifient la nécessité de l'utilisation des modèles précliniques, particulièrement les études animales.

Le chapitre 2 s'est focalisé sur les modèles animaux de l'addiction aux drogues. Il présentait les principales théories classiques de l'addiction aux drogues. Ces théories ne permettent pas une pleine compréhension d'un phénomène aussi complexe que l'addiction aux drogues. La théorie de la sensibilisation motivationnelle est l'une des théories récentes conçues pour permettre une meilleure compréhension de l'addiction aux drogues. Cette théorie décrit l'addiction aux drogues comme une

pathologie de la motivation à consommer des substances d'abus. C'est le socle sur lequel repose le modèle animal de la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants des drogues. Ce modèle, décrit avec les principaux modèles animaux d'addiction aux drogues, est celui qui a été choisi comme modèle animal d'addiction pour la présente thèse.

Le chapitre 3 s'est consacré aux modèles animaux du TSPT. Il s'employait à décrire la théorie du conditionnement à la peur, théorie prévalente du TSPT, ainsi que les mécanismes neurobiologiques sous-jacents à ce phénomène. Le TSPT étant une affection essentiellement subjective, reposant sur le récit des personnes qui en souffrent, les modèles animaux posent l'épineuse question de leur validité. Une bonne partie de ce chapitre a donc été consacrée à la problématique de la validité des modèles animaux du TSPT. Parmi les modèles présentés, le présent travail a utilisé un protocole avec un choc électrique comme stresser. Ce protocole présente une des meilleures validités apparentes sans pour autant perdre sur les autres validités comparativement aux autres modèles animaux du TSPT. Le présent travail s'intéressant à l'influence de l'addiction aux drogues sur les symptômes du TSPT, il était primordial de choisir un modèle permettant de couvrir tous les symptômes du TSPT.

Le chapitre 4 s'est focalisé sur les données des études animales de la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues. L'absence de modèle animal valide de la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues a rendu nécessaire une transition décrivant ces deux problématiques. En effet, les études animales de cette comorbidité se basent sur une succession de protocoles de ces deux problématiques. La revue de la littérature montre que la grande majorité de ces études analyse les effets du stress aigu sur l'auto-administration de drogues. Les études sur l'influence d'un modèle valide de TSPT sur la sensibilisation aux effets stimulants de drogues sont rares. Sont encore plus rares, les études de l'influence de l'addiction aux drogues sur les symptômes du TSPT.

Le chapitre 6 exposera la méthodologie générale de la présente recherche. Il s'emploiera à décrire les animaux, le matériel et les tests utilisés. Il décrira dans les détails les motivations des choix des modèles utilisés. En effet, l'innovation de ce travail ne réside pas dans l'élaboration d'un protocole original. Mais plutôt dans l'originalité du choix des modèles animaux préalablement validés. En effet, aucune étude antérieure à celle-ci n'a utilisé un protocole animal de TSPT présentant une aussi grande validité apparente sans perdre sur les autres validités comparativement aux autres modèles animaux du TSPT. D'autre part, très peu d'études ont utilisé la sensibilisation locomotrice pour analyser la

comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues. De plus, rares sont les études qui ont essayé d'analyser l'influence de la sensibilisation aux effets stimulants des drogues sur l'expression des comportements induits par le TSPT. Au final, le protocole utilisé dans cette recherche peut s'avérer utile pour élaborer un modèle animal de la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues.

Les chapitres 7 à 9 présenteront les résultats obtenus en utilisant la méthodologie décrite dans le chapitre 6. Le chapitre 7 s'attellera à répondre à deux questions. La première se rapporte à l'influence du TSPT sur la sensibilisation locomotrice à l'éthanol. Il s'agira de vérifier un possible mécanisme par lequel le TSPT induirait une vulnérabilité à la sensibilisation locomotrice des effets stimulants de l'éthanol. Les données de la littérature laissent supposer que le TSPT induit une vulnérabilité à la sensibilisation locomotrice des effets stimulants de l'éthanol. En effet, le stress induit une activation du système de récompense, principalement via l'activation de l'axe HHS mais aussi par l'activation du système dopaminergique. Il est donc plausible que l'acquisition et ou l'expression de la sensibilisation locomotrice à l'éthanol nécessite une dose moindre d'éthanol chez les souris stressées comparativement à des souris d'un groupe contrôle. C'est la première hypothèse qui sera testée dans cette étude. D'autre part, l'addiction aux drogues modifie l'expression des symptômes du TSPT. Néanmoins, les études chez l'homme ne permettent pas d'isoler l'effet spécifique d'une seule drogue. La deuxième hypothèse testée dans ce chapitre consistera à évaluer l'effet d'une sensibilisation aux effets stimulant de l'éthanol sur l'expression des symptômes du TSPT. Il s'agit de vérifier l'hypothèse exploratoire plus générale selon laquelle l'addiction à l'éthanol modifierait l'expression des symptômes du TPST.

Le chapitre 8 sera consacré aux relations entre le TSPT et la sensibilisation aux effets stimulants de la cocaïne. D'une part, il s'intéressera à l'influence d'un TSPT sur la sensibilisation aux effets stimulants de la cocaïne. La première hypothèse de cette étude sera de vérifier que le TSPT renforcerait la sensibilisation locomotrice à la cocaïne. La précédente étude sur l'éthanol ayant montré un probable effet préventif des manipulations préalables des animaux, cette étude testera un éventuel effet préventif contre la sensibilisation locomotrice à la cocaïne que conférerait une fréquente manipulation des animaux. D'autre part, dans la recherche de la compréhension de l'effet spécifique de drogues sur le TSPT, le présent chapitre cherchera à évaluer l'influence de la sensibilisation locomotrice à la cocaïne sur les symptômes du TPST. La troisième hypothèse de cette étude vérifiera si la

sensibilisation locomotrice à la cocaïne modifierait l'expression des symptômes du TSPT en fonction des doses de cocaïne.

Le chapitre 9 présentera la dernière série d'expériences menées dans le cadre de la présente thèse. Il sera bâti à la suite des résultats observés dans le chapitre 7. En effet les résultats décrits dans le chapitre 7 ont permis d'observer un effet de la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de l'éthanol sur l'expression de l'hyperréactivité du TSPT. Cette hyperréactivité majorée par la sensibilisation locomotrice à l'éthanol a été observée 36 jours après la dernière exposition à l'éthanol. D'une part, l'observation de pareil effet après un aussi long délai a posé question. En effet, il existe dans la littérature une controverse sur la durée de la sensibilisation locomotrice à l'éthanol. Sa durée est évaluée entre 14 jours et 63 jours selon les études. D'autre part, utilisant une longue procédure dans un modèle animal de TSPT, la dynamique d'évolution de l'effet de la sensibilisation locomotrice à l'éthanol sur le TSPT n'est pas connue. Le chapitre 9 a donc cherché à confirmer l'influence de la sensibilisation locomotrice à l'éthanol sur l'expression des symptômes du TSPT en l'analysant au cours du temps. L'observation de l'effet de la sensibilisation sur le TSPT 36 jours après la dernière exposition à l'éthanol a soulevé un autre problème. Écologiquement, les personnes souffrant de TSPT consomment souvent de l'éthanol pendant la période d'incubation du TSPT, c'est à dire entre la survenue de l'évènement traumatique et l'expression des symptômes du TSPT. Une expérience a donc été conduite en intercalant une procédure de sensibilisation locomotrice à l'éthanol entre l'évènement traumatique et l'expression de symptômes du TSPT. L'objectif était d'évaluer les modifications dose-dépendantes de l'expression du TPST induite par une sensibilisation locomotrice à l'éthanol durant la période d'incubation du TPST. Enfin, profitant de la procédure de sensibilisation locomotrice à l'éthanol lancée à proximité de l'évènement traumatique, le présent chapitre a voulu évaluer l'effet de l'évènement traumatique sur la sensibilisation locomotrice durant la période d'incubation du TSPT. Notamment en vérifiant si l'évènement traumatique pouvait réduire la dose nécessaire pour l'acquisition de la sensibilisation locomotrice à l'éthanol.

Enfin le chapitre 10 présente une discussion transversale des résultats observés dans les 3 précédents chapitres. Il discute aussi des résultats obtenus dans le présent travail avec ceux présentés dans la littérature. Sont aussi exposées des propositions pour d'éventuelles études ultérieures et pour améliorer le protocole utilisé.

Chapitre 6

Méthodologie générale

Ce chapitre décrit en détail la méthodologie qui a guidé la réalisation de toutes les expériences. Sauf autrement explicité, les expériences ont été conduites telles qu'elles seront expliquées dans les lignes suivantes.

6.1. Animaux et conditions d'hébergement

L'ensemble des études a été réalisé sur des souris femelles DBA/2J. Ces souris étaient âgées de 8 semaines au début des expérimentations. Elles ont été acquises auprès des laboratoires Janvier en France (Le Genest-Saint-Isle, France). Cette souche est l'une des souches le plus fréquemment utilisées pour le paradigme de la sensibilisation locomotrice des effets stimulants de nombreuses drogues, dont la cocaïne (Didone et al., 2016a ; Eisener-Dorman et al., 2011) et l'éthanol (Didone et al., 2016a ; Boehm II et al., 2008 ; Lessov et al., 2001a), mais aussi du modèle animal de TSPT choisi dans ce travail. Quant au choix des femelles, d'une part, il est généralement admis que les rongeurs femelles sont plus vulnérables à la sensibilisation locomotrice que leurs congénères mâles (Didone et al., 2016a ; Boehm II et al., 2008). D'autre part, notre laboratoire a une longue expérience dans la sensibilisation locomotrice des souris femelles (Didone et al., 2016b). La sensibilisation locomotrice induite chez cette souche s'acquiert rapidement et perdure dans le temps. L'acquisition de la sensibilisation locomotrice à l'éthanol s'observe entre 1 et 3 jours (Lessov et al., 2001a). Elle perdure de quelques semaines à plusieurs mois pour la cocaïne et de 14 jours à 68 jours pour l'éthanol (Boehm II et al., 2008 ; Stevenson et al., 2008 ; Fish et al., 2002 ; Lessov et al., 2001a). Et pour le TSPT induit par un choc électrique, il a été démontré que les altérations de l'axe HHS sont mieux observées chez les femelles (Borghans et Homberg, 2015). Une semaine avant le début des expériences, les souris étaient hébergées seules ou par paires, selon les expériences, dans une cage transparente en plexiglas de 33,2 cm de long, 15 cm de large et 13 cm de hauteur. La litière était faite de sciures de bois. Les souris avaient accès à la nourriture et à l'eau en permanence excepté durant les testings. La température du laboratoire était maintenue constante dans des limites de températures variant entre 20

et 22°C. Les animaux étaient maintenus dans un cycle lumière-obscurité de 12H:12H (lumière à 6H00 et obscurité à 18H00). Toutes les expérimentations se déroulaient durant la phase de lumière, entre 8h00 et 16h00.

6.2. Équipements

6.2.1. Chambre de conditionnement à la peur

Le conditionnement à la peur a été réalisé dans deux chambres en plexiglas transparent de 62,5 cm de long, 40 cm de large et 42 cm de haut (MED Associates Inc., St. Albans, VT, USA, ENV-307W-TH ; Figure 6.1). Chacune de ces chambres contient un ventilateur qui produit un bruit de 69 décibels et qui sert aussi bien à renouveler l'air qu'à réduire le bruit extérieur. Un haut-parleur, pouvant produire un son jusqu'à 100 dB, est incorporé dans chaque chambre. En regard du haut-parleur se trouve une ampoule diffusant une lumière blanche. Dans sa partie inférieure, chaque chambre comporte une pièce amovible comprenant 23 barreaux métalliques de 3 mm de diamètre séparés les uns des autres par 8 mm de distance. Cette grille métallique sert aussi bien d'enregistreur de l'activité motrice que de conducteur de courant électrique.

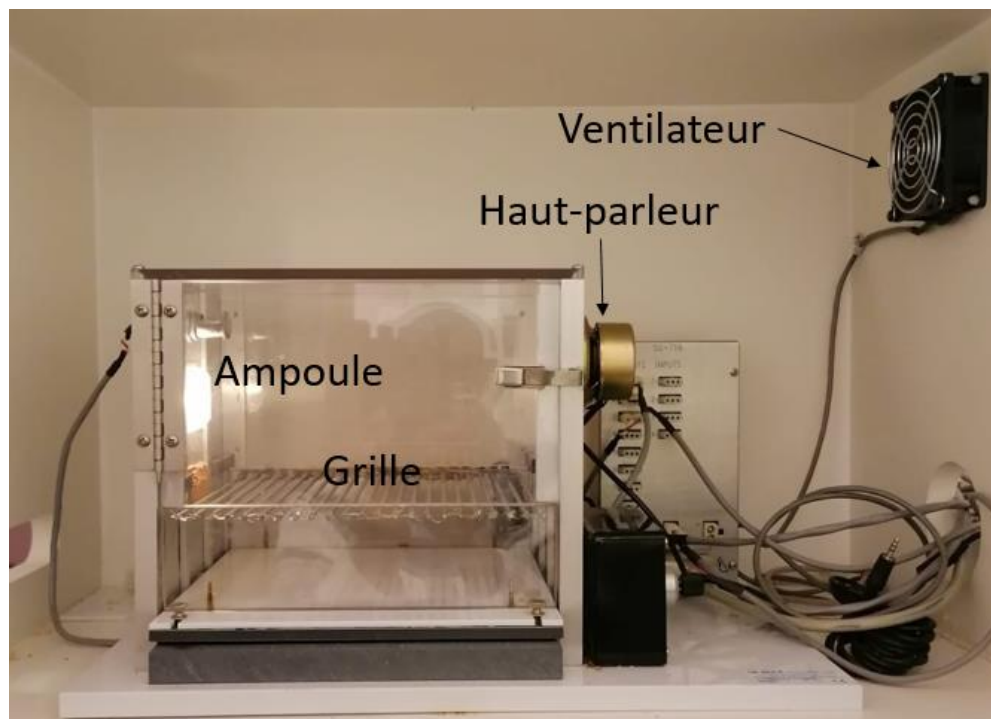


Figure 6.1. Chambre de conditionnement à la peur.

6.2.2. Le labyrinthe en croix surélevé

L'anxiété a été évaluée à l'aide du labyrinthe en croix surélevé ou l'« elevated plus maze » (EPM) en anglais (figure 6.2). C'est un appareil en forme de croix comprenant quatre bras, deux ouverts et deux fermés. Les procédures de son utilisation et de cotation ainsi que ses dimensions peuvent varier avec les études. Par exemple, il est évident que l'EPM utilisé pour les rats sera plus grand que celui utilisé pour les souris (Taylor et al., 2016 ; Walf et Frye, 2007). L'EPM utilisé dans le présent travail a des bras qui mesurent 30 cm de long sur 5 cm de large et qui se trouvent à 80 cm du sol. Les rebords des bras fermés ont une hauteur de 15 cm. Les bras ouverts ont un rebord de 2,5 cm de hauteur. Les souris étaient placées à l'intersection des quatre bras le museau pointant toujours dans la direction du même bras ouvert (Macedo et al., 2018 ; Taylor et al., 2016). Pour la cotation, une souris était considérée comme étant dans un bras lorsque ses quatre pattes s'y trouvaient. Chaque session était enregistrée avec une durée standard de 5 minutes (Macedo et al., 2018 ; Taylor et al., 2016). Les souris étaient ensuite directement ramenées dans l'animalerie. Entre deux sessions, le labyrinthe en croix surélevé était nettoyé avec du savon.

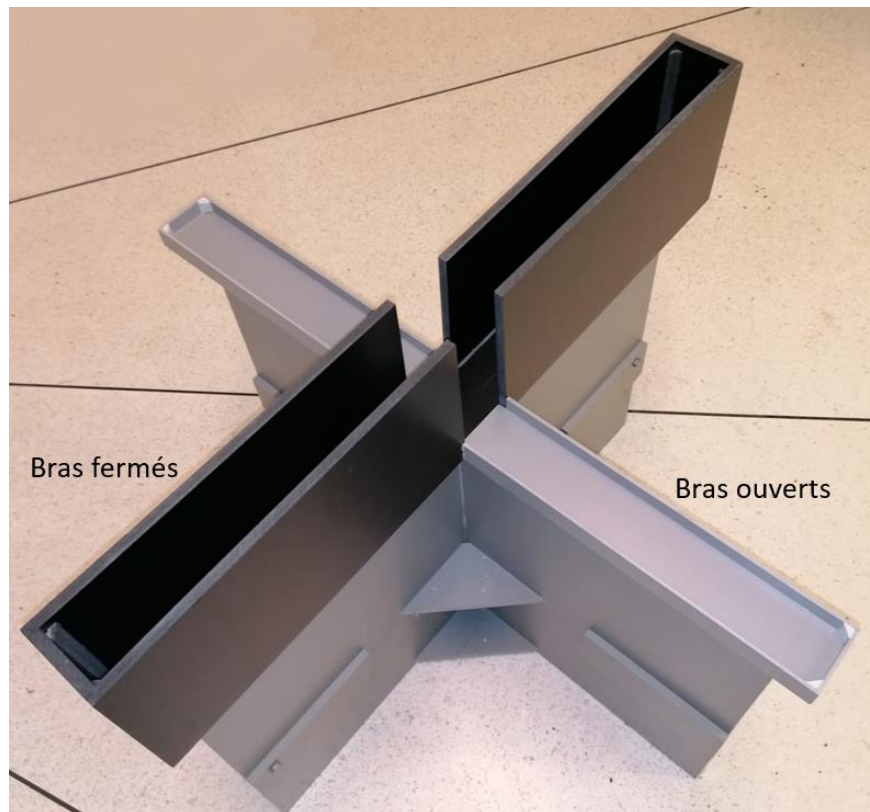


Figure 6.2. Labyrinthe en croix surélevé.

6.2.3. La chambre claire et obscure

La chambre claire et obscure, « black and white box » ou « light and dark box » en anglais, utilisée dans la présente étude est un appareil constitué d'un petit compartiment noir et d'un grand compartiment blanc (figure 6.3). Le grand compartiment blanc mesure 24×24 cm alors que le petit compartiment noir mesure 16×16 cm. Les deux compartiments communiquent par une petite ouverture. Au début du test, les souris étaient placées au centre de la chambre claire museau pointé vers la chambre obscure (Corral-Frias et al., 2013). Pour la cotation, une souris se trouve dans un compartiment lorsque ses quatre pattes s'y trouvent. Chaque séance était enregistrée et durait 10 minutes (Morena et al., 2019). À la fin de la session les souris étaient directement ramenées dans l'animalerie. La chambre claire et obscure était nettoyée avec du savon avant chaque session.

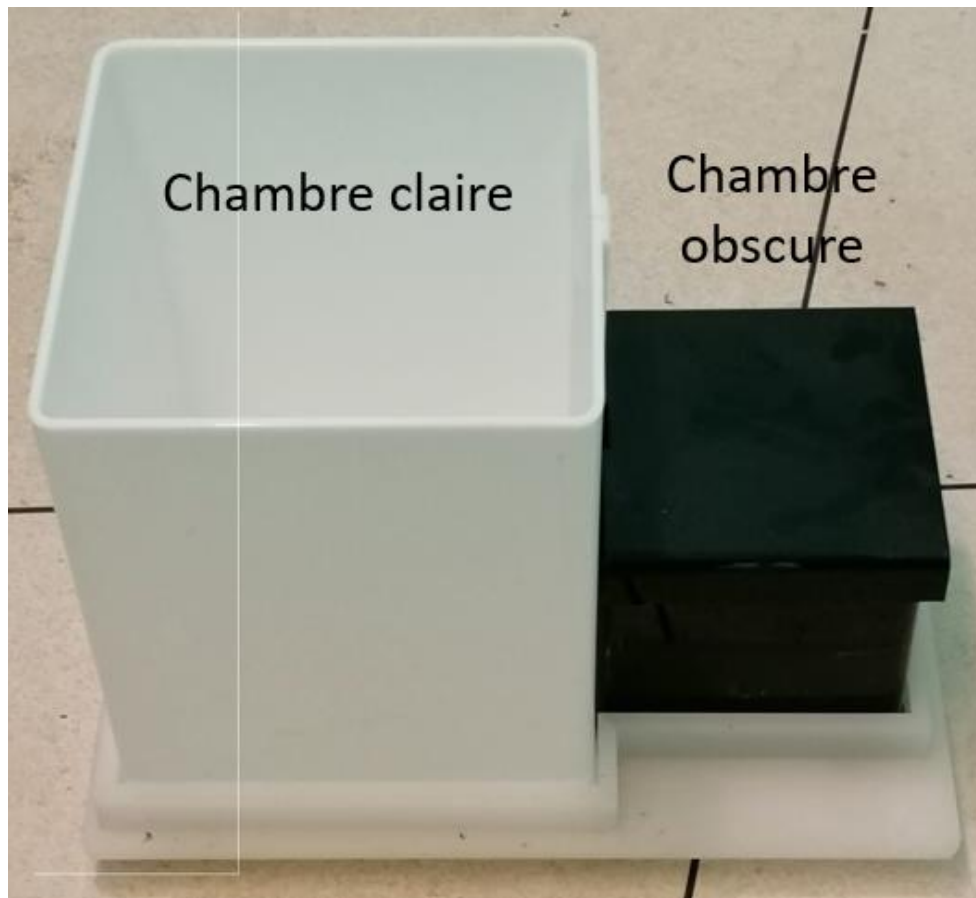


Figure 6.3. Chambre claire-obscure.

6.2.4. Le test en champ ouvert (« Open field »)

L'activité locomotrice était évaluée dans deux « open fields » de 0,8 X 0,8 m divisés chacun en quatre compartiments de 0,4 × 0,4 m (figure 6.4). Les planchers et les murs des deux open fields étaient de couleur blanche afin de permettre un meilleur contraste avec les souris DBA/2J (Forex, View Point, Lyon, France). Les souris étaient placées au centre de l'appareil au début du test. Une caméra placée au-dessus des deux open field permettait l'enregistrement de l'activité motrice des souris (Bosch, View Point, Lyon, France). Un système de video-tracking enregistrait automatiquement l'activité motrice des souris (View point, Lyon, France). Chaque séance durait 20 minutes pour la procédure de sensibilisation aux effets stimulants de la cocaïne (Didone et al., 2016a). Pour la procédure de la sensibilisation aux effets stimulants de l'éthanol, l'habituation et toute la phase d'acquisition duraient 5 minutes (Didone et al., 2016b). La session du test à l'éthanol par contre durait 20 minutes (Didone et al., 2016a). L'activité locomotrice était définie par la distance horizontale parcourue par les souris. Bien que ces usages n'aient pas été utilisés dans le présent travail, l'open field peut aussi être utilisé pour évaluer l'activité exploratoire et dans une certaine mesure l'anxiété des rongeurs (Aspesi et Pinna, 2019 ; Luikinga et al., 2019 ; Madruga et al., 2006).

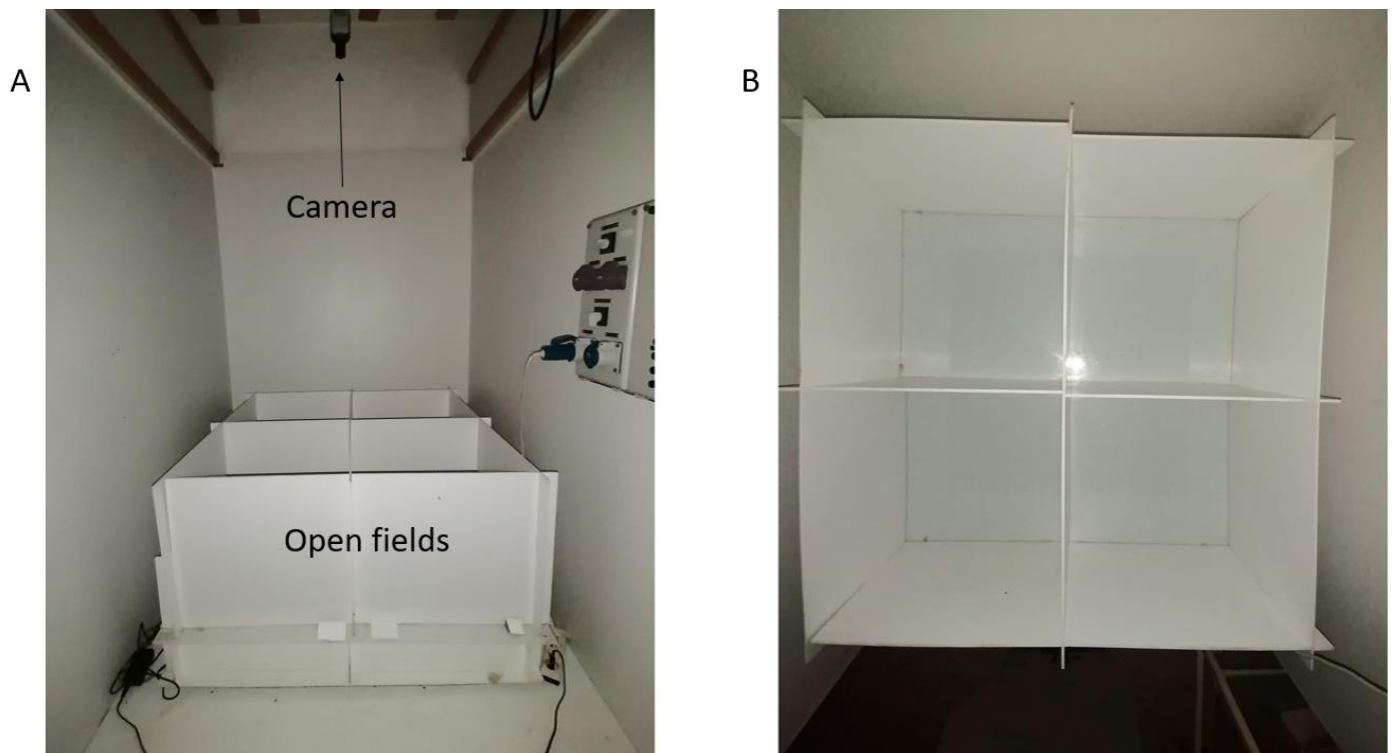


Figure 6.4. Open fields vus de face (A) et d'en haut (B).

6.3. Drogues

La cocaïne et l'alcool ont été les seules drogues utilisées pour induire la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de drogues. De l'alcool ultra-pur (99,99%) a été acheté à la firme VWR International (Louvain, Belgique). Il était dilué avec du sérum salin à 0,9% pour obtenir une solution concentrée à 20%. En fonction des expériences, les souris recevaient 1 g/kg ou 2 g/kg d'éthanol. La dose de 2 g/kg était utilisée pour induire une sensibilisation locomotrice à l'éthanol. La dose de 1 g/kg était utilisée comme dose n'induisant pas une sensibilisation locomotrice. En effet, la littérature montre que la sensibilisation locomotrice à l'éthanol requiert des doses d'éthanol entre 1,5 g/kg et 4 g/kg (Didone et al., 2008 ; Stevenson et al., 2008). En deçà, les souris ne développent ni n'expriment une sensibilisation locomotrice à l'éthanol.

De l'hydrochloride de cocaïne a aussi été acheté à la firme VWR International (Belgopia, Louvain-La-Neuve, Belgium). La cocaïne était diluée avec une solution saline de 0,9% pour obtenir un volume de 0,01 ml/g. Selon l'expérience, les souris recevaient une dose de 15 mg/kg ou de 7,5 mg/kg de cocaïne.

Aussi bien la cocaïne que l'éthanol étaient administrés par voie intrapéritonéale. Les souris des groupes contrôles recevaient des volumes comparables de sérum salin 0,9%.

6.4. Calendrier des expérimentations

6.4.1. Procédure du TSPT

Le paradigme du choc électrique élaboré par une équipe allemande (Siegmund et al., 2009 ; Siegmund et Wotjak, 2007a ; Siegmund et Wotjak, 2007b) a été utilisé comme modèle animal du TSPT. Plusieurs raisons ont motivé ce choix. Les modèles animaux du TSPT qui utilisent le choc électrique comme stressor sont parmi les plus valides, robustes et faciles d'utilisation (Deslauriers et al., 2018). Un protocole similaire a été utilisé antérieurement dans notre laboratoire (Charlier et Tirelli, 2011). C'est l'un des rares protocoles à avoir été conçu pour proposer une correspondance translationnelle avec

tous les critères cliniques du TSPT tel qu'ils étaient définis dans le DSM IV. Ce paradigme est brièvement présenté dans les lignes suivantes.

6.4.1.1. Acquisition de la peur conditionnée

Après 7 jours d'hébergement dans une cage en solitaire, les souris étaient conduites dans la salle de conditionnement à la peur. Les souris étaient placées dans la cage de conditionnement à la peur pour une durée totale de 260 secondes. Chaque session débutait avec l'éclairage de la cage. Après 198 secondes, les souris recevaient, durant 2 secondes, un choc électrique de 0 mA (groupe témoin) ou de 1,5 mA. Des études indiquent qu'une durée minimum de 3 minutes est nécessaire pour permettre une mémorisation du contexte et l'acquisition de la mémoire traumatique. Si les durées des séances étaient constantes dans l'élaboration de ce paradigme, Wotjak et ses collaborateurs ont utilisé plusieurs intensités de choc électrique. Ces auteurs utilisant le plus souvent l'intensité de 1,5 mA, notamment à cause de la robustesse des effets observés, c'est cette intensité qui a été retenue pour ce travail. Après le choc électrique, les souris restaient encore 60 secondes dans la chambre de conditionnement à la peur. Ensuite, les souris étaient directement ramenées dans leur lieu d'hébergement. Le comportement de peur était évalué par une mesure de « freezing » avant et après le choc électrique.

Plusieurs arguments soutiennent le choix de ce protocole avec un seul choc. Les études montrent que l'exposition à un seul choc électrique est suffisamment robuste pour induire des changements comportementaux et neurobiologiques durables dans le temps. L'administration d'un seul choc électrique prévient l'habituation que peut induire la répétition d'un événement traumatique (Deslauriers et al., 2018). En effet, il faut se rappeler que l'exposition répétée à un événement stressant conduit à une adaptation (habituation) et à des perturbations cognitives et des apprentissages (Deslauriers et al., 2018 ; Stelly et al., 2016).

6.4.1.2. Expression de la peur sensibilisée

Le 28ème jour après le choc électrique, les souris étaient testées pour leur peur sensibilisée dans un nouveau contexte. Il a été démontré sur des souris C57BL/6N que la peur sensibilisée augmentait avec le temps pour atteindre son maximum 28 jours après le choc électrique (Siegmund and Wotjak 2007b).

L'expression d'une peur intense dans un nouveau contexte est l'une des principales caractéristiques d'un bon modèle animal de TSPT (Logrip et al., 2012). La peur sensibilisée, autrement dit la peur généralisée, est caractérisée par la capacité qu'acquièrent un grand nombre de stimuli neutres ou peu aversifs de provoquer un comportement de peur (Black et al., 2000). La peur sensibilisée est une mémoire traumatique non associative. Elle n'est pas liée au contexte dans lequel les souris ont été choquées. C'est le résultat, entre autres, de l'activation de l'axe HHS en réponse à la nouveauté (de Lange et al., 2008). Cette hypersensibilité s'observe plusieurs semaines ou mois après un choc électrique (de Lange et al., 2008).

La peur sensibilisée était évaluée dans les chambres de conditionnement à la peur. Une structure en forme de toit était rajoutée afin de créer un nouvel environnement (figure 6.5). Cette structure réduisait la luminosité et modifiait la forme du contexte. Chaque session débutait par l'éclairage de la chambre de conditionnement à la peur. Après 180 secondes, un son d'une intensité de 80 décibels et d'une fréquence de 9 kHz retentissait dans la cage durant 180 secondes. À l'arrêt du son, les souris restaient encore 60 secondes dans la cage avant d'être directement ramenées dans leur lieu d'hébergement. Chaque chambre était nettoyée avec du savon parfumé avant chaque session. Cela contribuait à apporter de la nouveauté au contexte par une senteur différente de celle du contexte du choc électrique.

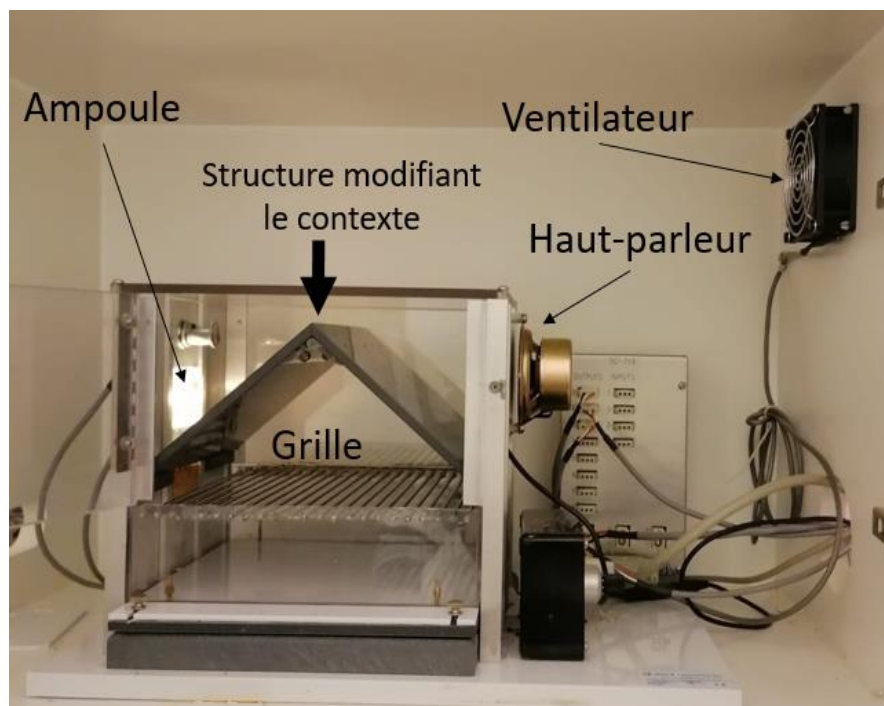


Figure 6.5. Chambre de conditionnement à la peur modifiée pour évaluer la peur sensibilisée.

La peur sensibilisée était évaluée par une mesure de freezing avant et durant l'émission du son neutre. En effet, certaines souches de rongeurs expriment une peur sensibilisée à tout nouveau contexte alors que d'autres ne l'expriment que lors de l'émission du son neutre (Siegmund et Wotjak, 2007a). La peur sensibilisée mime les symptômes d'hyperréactivité du TSPT.

6.4.1.3. Expression de la peur conditionnée

Le 29^{ème} jour après le choc électrique, les souris étaient testées sur leur rétention de l'évènement traumatique dans le contexte dans lequel elles avaient reçu le choc électrique. Il a été démontré sur des souris C57BL/6N que la peur conditionnée est d'emblée à son maximum après le choc électrique et reste stable durant plusieurs semaines (Siegmund et Wotjak 2007b ; Kamprath et Wotjak, 2004). La longue persistance de la peur conditionnée est l'une des caractéristiques clés d'un bon modèle animal de TSPT (Logrip et al., 2012). La peur conditionnée est une mémoire traumatique associative. En effet, elle est liée au contexte dans lequel les souris ont été choquées. Elle mime les symptômes d'intrusion du TSPT.

La peur conditionnée était évaluée dans la chambre de conditionnement à la peur. Les chambres présentaient les mêmes caractéristiques (forme, luminosité et senteur) que lors de la session du choc électrique. Chaque session débutait avec l'éclairage de la cage. Les souris restaient durant 180 secondes dans ce contexte sans recevoir de choc électrique. Puis elles étaient ramenées dans leur lieu d'hébergement. La peur conditionnée était évaluée par une mesure du freezing sur l'ensemble de la session.

6.4.1.4. Comportements anxieux

Les comportements d'évitement ont été évalués à l'aide deux tests d'anxiété, l'EPM et le test de la chambre claire et obscure. Sur le labyrinthe en croix surélevé, les souris étaient placées au centre du labyrinthe, à l'intersection des bras ouverts et fermés. Les souris étaient déposées le museau pointant vers le même bras ouvert. Chaque session était filmée et avait une durée standard de 5 minutes (Macedo et al., 2018 ; Taylor et al., 2016). Au cours de ce test, les souris sont exposées à un conflit entre leur comportement naturel d'exploration et leur crainte des espaces ouverts. Leur anxiété est

mesurée par le temps que les animaux passent dans les bras ouverts. L'anxiété est en relation inverse avec le temps passé dans les bras ouverts. Plus un animal est stressé moins il passera du temps dans les bras ouverts (Macedo et al., 2018 ; Schwendt et al., 2018 ; Taylor et al., 2016). En plus de cette mesure d'anxiété, deux autres mesures ont été ajoutées. La première mesure est le temps passé avant la première entrée dans un bras des quatre bras, c'est la latence. La seconde mesure est l'activité motrice des souris dans le labyrinthe en croix surélevé. Cette activité motrice était évaluée par le nombre de transition entre les différents bras. Les études des modèles animaux du TSPT indiquent que les souris stressées exhibent une activité motrice réduite (Macedo et al., 2018 ; Schwendt et al., 2018 ; Taylor et al., 2016).

Dans la chambre claire et obscure, les souris étaient placées au centre du compartiment éclairé, le museau dirigé vers l'ouverture du compartiment sombre. Chaque session était filmée et durait 10 minutes (Morena et al., 2019). Le test de la chambre claire et obscure évalue le comportement anxieux des animaux. Le temps passé dans la chambre claire était mesuré (Morena et al., 2019 ; Corral-Frias et al., 2013). Plus une souris est anxieuse moins elle passe de temps dans le compartiment éclairé. À côté de cette mesure de l'anxiété, deux autres mesures ont été prélevées. Premièrement, le nombre de transitions entre les deux compartiments (Morena et al., 2019 ; Corral-Frias et al., 2013). Les transitions entre les deux compartiments sont le reflet du comportement exploratoire des animaux. Le nombre de transitions est généralement plus petit chez les rongeurs qui subissent un modèle de TSPT. En effet, il a été observé que les animaux stressés sont moins mobiles que ceux qui ne sont pas stressés (de Lange et al., 2008). Secondairement, le temps avant la première entrée dans la chambre sombre, la latence, a aussi été mesuré (Morena et al., 2019 ; Corral-Frias et al., 2013). Les rongeurs stressés, comparativement aux non stressés, mettent plus de temps pour quitter la chambre claire (Corral-Frias et al., 2013 ; de Lange et al., 2008).

6.4.2. Procédure de la sensibilisation locomotrice

La procédure de sensibilisation locomotrice utilisée dans cette recherche est la procédure standard dans notre laboratoire (Didone et al., 2016a ; Didone et al., 2016b ; Didone et al., 2008). Elle sera brièvement explicitée dans les lignes suivantes.

6.4.2.1. Habituation

Les souris étaient hébergées par paires durant une période allant de 7 jours avant le début jusqu'au dernier jour de la procédure de la sensibilisation locomotrice. Cette procédure débutait par une session d'habituation au contexte. Toute les souris recevaient une injection de sérum salin 0,9% et étaient immédiatement placées dans l'open field. Leur activité locomotrice de base était automatiquement enregistrée durant 5 minutes, pour l'alcool, ou 20 minutes, pour la cocaïne, par une technique de vidéo tracking (figure 6.6). L'activité locomotrice était définie par la distance horizontale parcourue par chaque souris. Ensuite, les souris étaient ramenées dans l'animalerie. L'activité locomotrice enregistrée au cours de cette session permettait une répartition homogène des souris dans les groupes.

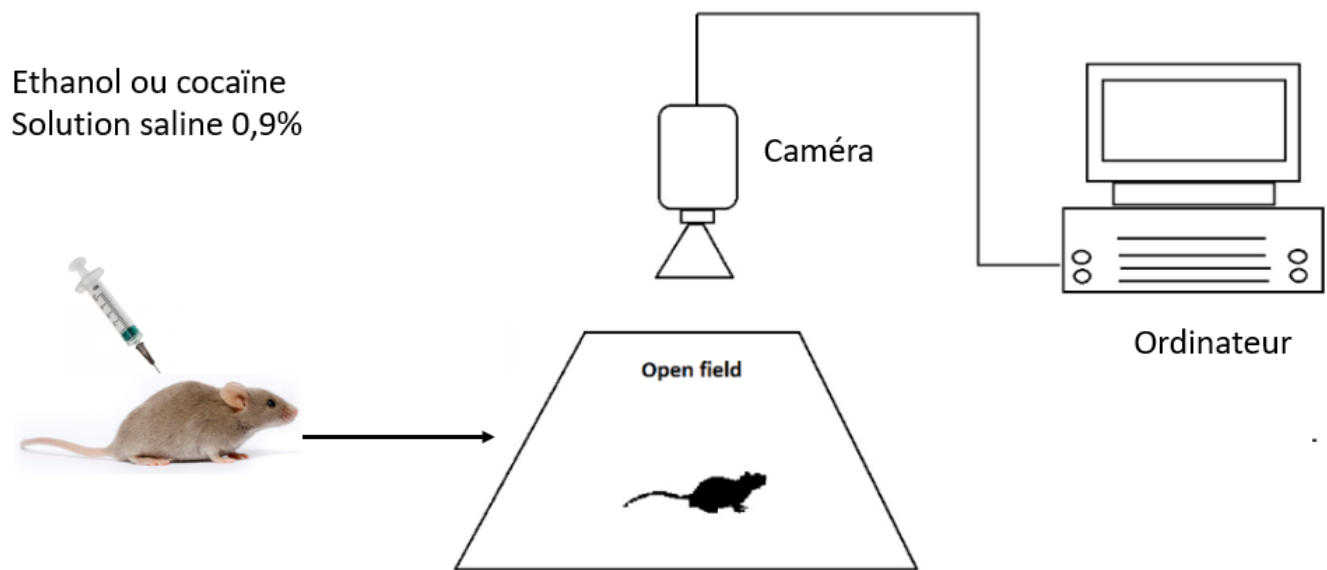


Figure 6.6. Schéma du système d'enregistrement de l'activité locomotrice (adaptée de Kardesler et al., 2016)

6.4.2.2. Acquisition de la sensibilisation locomotrice

L'acquisition de la sensibilisation locomotrice se déroulait sur 8 jours successifs. Durant toute cette phase chaque souris recevait la même substance à la même dose (Didone et al., 2016a). Les souris contrôles recevaient du sérum salin 0,9%. Les souris étaient ensuite immédiatement placées dans l'open field. Les sessions duraient 5 minutes pour l'éthanol et 20 minutes pour la cocaïne. Concernant l'éthanol, cette durée a été choisie pour enregistrer l'activité locomotrice durant la phase ascendante de l'alcoolémie (Didone et al., 2016b). Au lendemain de la session d'habituation, les souris étaient testées pour les effets aigus des drogues. L'activité locomotrice de la dernière session de

sensibilisation locomotrice correspondait au comportement locomoteur sensibilisé. La différence entre l'activité locomotrice du premier jour et du dernier jour de l'acquisition de la sensibilisation locomotrice est dénommée delta score. Le delta score évalue l'augmentation ou non de l'activité locomotrice en intra-sujet (Didone et al., 2016a ; Didone et al., 2016b). C'est l'une des mesures de l'expression de la sensibilisation.

Pour la cocaïne, toute cette phase d'acquisition de la sensibilisation locomotrice se déroulait dans la salle de testing. La sensibilisation locomotrice à la cocaïne est dépendante du contexte. Elle s'acquiert et s'exprime si elle se déroule dans le même contexte (Didone et al., 2016a). Toutefois, les souris DBA/2J peuvent parfois acquérir et exprimer la sensibilisation locomotrice à la cocaïne indépendamment du contexte (Eisener-Dorman et al., 2001). Selon l'objectif, la phase d'acquisition de la sensibilisation locomotrice à l'éthanol se déroulait soit dans la chambre de testing soit dans l'animalerie. Lorsque la question de recherche se rapportait à la sensibilisation locomotrice, tout le processus de la sensibilisation était réalisé dans la chambre de testing. L'objectif était de pouvoir observer l'intégralité du processus. Lorsque l'objectif de l'étude se rapportait au TSPT, les souris n'étaient placées dans l'open field que le premier jour pour les effets aigus de l'éthanol et le dernier jour pour l'expression de la sensibilisation locomotrice. Tous les autres jours, l'éthanol était administré aux souris dans leur lieu d'hébergement. La sensibilisation aux effets stimulants de l'éthanol n'est pas dépendante du contexte dans lequel les souris, notamment les souris DBA/2J, sont injectées (Didone et al., 2016a ; Matchynski-Franks et al., 2016 ; Pastor et al., 2012 ; Stevenson et al., 2008). Dans notre laboratoire, comme ailleurs (Boehm et al., 2008), Didone et collaborateurs ont montré que les souris injectées dans leur lieu d'hébergement exprimaient, dans le lieu du test, la même activité locomotrice que les souris injectées dans la chambre de test (Didone et al., 2016a).

6.4.2.3. L'expression de la sensibilisation locomotrice

Après un jour sans manipulation, l'expression de la sensibilité locomotrice était testée le 10^{ème} jour de la procédure de la sensibilisation locomotrice. Les séances duraient 20 minutes quelle que soit la substance. Pour l'éthanol, cette durée a été choisie pour capturer les éventuels effets retardés de l'éthanol (Didone et al., 2016b). Les souris testées recevaient leurs doses habituelles. Les souris des groupes témoins recevaient pour la première fois une dose d'une substance d'abus. L'expression de la sensibilisation locomotrice correspondait à la différence entre l'activité locomotrice des souris

chroniquement traitées comparativement aux souris témoins qui recevaient la substance test pour la première fois. C'est une mesure inter-sujet de l'expression de la sensibilisation locomotrice (Didone et al., 2016a ; Didone et al., 2016b).

Ce protocole connaissait une variante lors des expériences pour lesquelles la sensibilisation locomotrice précédait le TSPT. Durant le test, chaque souris recevait sa dose habituelle et les souris contrôles continuaient à recevoir du sérum salin 0,9%. Ceci permettait de garder un groupe contrôle pour la procédure du TSPT (Didone et al., 2016b). Pour les expériences avec l'éthanol dont l'acquisition s'était déroulée dans l'animalerie, l'activité locomotrice des 5 premières minutes du test permettait de mesurer le comportement locomoteur sensibilisé. Le delta score de ces expériences était obtenu par la différence de l'activité locomotrice entre ces 5 premières minutes et l'activité locomotrice du premier jour.

6.5. Considérations éthiques

Le protocole de l'ensemble de la recherche a été validé par la commission d'éthique de l'Université de Liège sous le numéro 1646. Toutes les expériences ont été réalisées en respectant les lois belges (Arrêté Royal relatif à la protection des animaux d'expérience du 23 mai 2013) et européennes (Directive 2010/63/EU du Parlement européen et du Conseil européen du 22 Septembre 2010) sur la protection des animaux de laboratoire. Tout a été fait pour réduire au strict minimum le nombre de souris utilisées.

6.6. Analyses statistiques de données

Les variables dépendantes de toutes les expériences étaient quantitatives. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées avec des tests paramétriques. L'homoscédasticité et la normalité des données étaient vérifiées avant toute analyse. En cas de violation des conditions d'application, une transformation non linéaire, logarithmique ou racine carrée, était réalisée afin d'atteindre au minimum l'équivalence de variances. La normalité des données n'était pas la principale préoccupation de la violation des conditions d'application. En effet, en absence d'une importante asymétrie, le nombre suffisamment grand de souris utilisées permettaient de ne pas se préoccuper de la normalité de distribution de nos données. En effet, le théorème central limite stipule que lorsque l'échantillon est

de grande taille, la distribution d'échantillonnage tend vers une distribution normale. Les tests paramétriques sont robustes et résistent aux écarts minimes de normalité. De plus, la grande majorité de nos tests statistiques ont été réalisés sur des plans équilibrés. Selon Howel, dans les conditions des plans équilibrés et d'égalité des variances entre les groupes, la normalité est une préoccupation secondaire (Howell, 2008).

Globalement, toutes les expériences consistaient en une succession de la procédure de sensibilisation locomotrice suivie de la procédure du TSPT ou l'inverse. Le test t de Student ou l'ANOVA simple étaient systématiquement utilisés pour la première procédure. Lors de la seconde procédure, les données étaient analysées avec une ANOVA à deux facteurs. L'utilisation d'une ANOVA à trois facteurs n'a été utilisée que pour une seule expérience. Le test post-hoc de Student-Newman-Kheuls était utilisé à chaque fois que le test omnibus décelait une différence entre au moins deux moyennes.

Les graphiques ont été réalisées à l'aide du logiciel R (R Core Team, 2020). Les données sont représentées sous forme de moyennes plus ou moins l'erreur type de la moyenne.

Chapitre 7

Investigating the reciprocal relationships between locomotor sensitization to ethanol and PTSD-like clusters in DBA/2J mice

Thierry Matonda-ma-Nzuzi^{1,2,3*}, Vincent Didone^{1,*}, Vincent Seutin², Ezio Tirelli¹, Étienne Quertemont¹

¹Psychology & Neuroscience of Cognition – PsyNCogn, ULiège, Belgium

²Laboratory of Neurophysiology, GIGA Neurosciences, all at Liège University, B-4000 Sart Tilman, Liège

³Département de psychiatrie, Faculté de médecine, Université de Kinshasa, Democratic Republic of the Congo

*These authors contributed equally to the work.

Published in Behav Brain Res (2019). DOI: 10.1016/j.bbr.2019.111909.

Abstract

Background: Post-traumatic stress disorder (PTSD) and alcohol use disorder (AUD) are two conditions that co-occur frequently. The mechanistic explanations of this co-morbidity are still unclear. The goal of this study was twofold. First to investigate whether PTSD reduces the threshold for the acquisition of ethanol sensitization in an animal model of PTSD. Then to investigate whether ethanol sensitization modulates the expression of PTSD.

Methods: 152 female inbred DBA/2J mice were submitted to an inescapable footshock paradigm to induce a PTSD-like condition (PTSDLC) and to a paradigm of locomotor sensitization to ethanol. In a first experiment, mice were submitted to the PTSDLC and then repeatedly injected with either saline, 1 g/kg ethanol or 2 g/kg ethanol. Their sensitization to the locomotor stimulant effects of ethanol was then tested in an open field. In a second experiment, mice were first sensitized to the locomotor stimulant effects of ethanol and then tested for their behavioral response to PTSDLC.

Results: In the first experiment, PTSDLC failed to induce a significant locomotor sensitization at the subthreshold dose of 1g/kg ethanol. However, with 2 g/kg ethanol, a stronger ethanol sensitization was observed in mice submitted to the footshock relative to the control group. In the second experiment, ethanol sensitization increased only some of the behavioral clusters of PTSDLC, namely the fear generalization in a new context.

Conclusion: PTSDLC did not reduce the dose threshold for the acquisition of ethanol sensitization but strengthened the development of ethanol sensitization with effective doses. This suggests that PTSD might interact with one of the mechanisms underlying the development of alcohol sensitization. When the relationship between ethanol sensitization and PTSDLC is tested in the reverse direction, the present study only shows a significant effect of ethanol administration on the “sensitized fear” PTSD cluster.

Key words: post-traumatic stress disorder; sensitization to ethanol; mice

7.1. Introduction

Post-traumatic stress disorder (PTSD) and substance use disorder (SUD), particularly alcohol use disorder (AUD), are two psychiatric conditions that frequently co-exist in patients. Nearly half of the persons who suffer from PTSD have SUD [1] and conversely PTSD occurs in up to 42.5% persons who suffer from SUD [2]. The relationships between PTSD and AUD still remain unclear, although it is known that each condition worsens the other [3,4]. Human studies on reciprocal relationships between PTSD and SUD are usually based on self-reported histories [3] and are therefore limited by memory biases and possibly by impaired cognitive functions [5]. Also, most human studies include subjects with two or more SUD [3,6- 8] which can sensitize each other (cross-sensitization) and make the interpretation of results difficult. This is why animal studies can help to better understand this comorbidity.

The incentive sensitization theory [9] is one of the leading paradigms used to explain findings in animal models of SUD. It states that drugs of abuse have the capacity to induce brain changes. These cerebral alterations disrupt the brain motivational processes that in turn give salience to these substances. This phenomenon is called sensitization. In practice, sensitization to a substance of abuse can be measured, inter alia, by the enhancement of the locomotor activity induced by repeated administration of the drug at the same dose. However, acting concomitantly with others factors (e.g. administration pattern, rodent strain, age, context, etc.), a drug's ability to induce locomotor sensitization is dose-dependent [10-12]. In mice, the sensitizing ethanol dose is usually equal or above 1.5 g/kg [13,14]. In rodent studies, drug-induced locomotor sensitization is considered as homologous to the intensification of drug craving in addicts and the paradigm is therefore used to model various features of drug addiction, including its brain bases. For example, several studies reported correlations between ethanol locomotor sensitization and activation of the reward system, among others through dopaminergic and glutamatergic neurons, with an increased release of dopamine [11,15,16].

In humans, PTSD is defined by the occurrence of four symptom clusters that occur in the aftermath of an extreme stress: (1) intrusion defined as re-experiencing of the traumatic event in the form of spontaneous flashback memories or recurrent vivid dreams, (2) hyperarousal characterized by difficulties sleeping and concentrating and hypervigilance, (3) avoidance of trauma reminders and (4) numbing of affects [17]. In animal studies, fear conditioning, a pavlovian conditioning, is the main

paradigm used to model human PTSD especially in rodents. One of the most used stressors is a brief inescapable and unpredictable electric footshock. Although clearly far from perfect, this model of PTSD has shown face and predictive validity [18]. In previous studies, the fear conditioning procedure was also used to mimic the symptom clusters of PTSD in rodents [18]. Rodents are tested for conditioned fear long after the electrical footshock in the same environment. The persistence of fear reactions (freezing and increased startle) is used to mimic the intrusion cluster of PTSD. Generalization of fear reactions in a new context, i.e. sensitized fear, is used to mimic the hyperarousal cluster of PTSD. A neutral tone is used in the new context in order to test for the generalization of sensitized fear to a new stimulus. However in the present study, freezing is recorded both before and during the neutral tone because previous studies reported that some strains of mice are more reactive to the stimulus, whereas other strains show higher levels of freezing in the new context before the tone [19]. Finally, conditioned fear is often paired with procedures used to measure anxiety-like behaviors, such as the elevated plus-maze or the black and white box. They are used to mimic the avoidance cluster of the PTSD [18,20]. From here on, we will use the term “PTSD-like condition” (PTSDLC) to describe findings in rodents.

Several animal studies have shown that stress and/or PTSDLC increase both locomotor sensitization to ethanol and alcohol consumption in rodents [21-23]. However, the mechanisms of this relationship remain poorly understood. One hypothesis to explain this modulation by PTSDLC could be by the reduction of the dose necessary to induce a transition to AUD. The first aim of the present study is to test this hypothesis using the “locomotor sensitization” paradigm. We will evaluate whether PTSDLC can elicit ethanol-induced locomotor sensitization with a dose that is unable to induce locomotor sensitization to ethanol in control conditions.

Most of the studies on the PTSD-AUD comorbidity are based on the self-medication theory [3,4]. Therefore, they have focused on the influence of PTSD on the subsequent development of AUD. Few studies have focused on the inverse relationship and even fewer have focused on how SUD affects the PTSD clusters [3,6-8]. In general it is observed that SUD worsens the PTSD clusters [3,4,6-8]. But results often are controversial. For example, hyperarousal and avoidance are overexpressed in patients with AUD according to some studies [6,8] but not to others [7]. One of the few animal studies assessing the effects of prior drug administration on the later development of PTSD symptoms, shows that chronic administration of cocaine increases the hyperarousal induced by single prolonged stress

in rats [24]. The reason for these discrepancies is unclear, but may involve a variable interference of the drug withdrawal syndrome. To our knowledge no animal studies have focused on the influence of locomotor sensitization to ethanol on the subsequent development of PTSDLC.

The goals of the present study were twofold: (i) to assess whether PTSDLC modulates the later development of ethanol-induced locomotor sensitization; (ii) to assess whether ethanol-induced locomotor sensitization modulates the subsequent development of PTSDLC. We hypothesized that PTSDLC can reduce the threshold of acquisition and expression of ethanol-induced locomotor sensitization. Secondly, we postulated that ethanol-induced locomotor sensitization would modulate the subsequent development of a PTSDLC.

7.2. Methods

7.2.1. Animals

Overall, this study used 152 female inbred DBA/2J mice. Female mice were used in order to be consistent with the majority of ethanol sensitization studies and because female rodents generally show greater susceptibility to drug-induced sensitization. The mice were purchased from Janvier Laboratories (Le Genest-Saint-Isle, France) at 5-6 weeks of age. They spent 2-3 weeks of acclimatization to the colony room environment. The mice were 8 weeks old at the beginning of the experiments. Depending on the study phase, mice were singly housed or housed in pairs (see procedures section below) in transparent Plexiglas cages of 33 cm long, 15 cm wide and 13 cm high. The litter consisted of pine sawdust bedding. Mice had permanently access to food and water (standard pellets; Carfil Quality BVDA, Oud-Turnhout, Belgium). The laboratory temperature was maintained constant between 20 and 22°C. The animals were kept in a 12h:12h light-dark cycle (lights on at 6:00). All experiments were conducted during the light phase, between 8:00 and 16:00. All experimental treatments and animal maintenance were reviewed by the University of Liege Animal Care and Experimentation Committee (application 1646), which gave its approval according to the Belgian implementation of the animal welfare guidelines laid down by Belgium and the European Union (“Arrêté Royal relatif à la protection des animaux d’expérience” released on 23 May 2013 and “Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes”).

7.2.2. Drugs

Ultra-pure (99.99%) ethanol, purchased from VWR International (Leuven, Belgium), was diluted in an isotonic 0.9% NaCl solution to a final concentration of 20%. Both the ethanol and the control saline solution were administered through the intraperitoneal route (i.p.).

7.2.3. Apparatus

7.2.3.1. Open field

Locomotor activity was recorded in two white open fields (0.8×0.8 m) trays each divided into four compartments (0.4×0.4 m). A camera placed above each tray recorded mouse behaviors in the different compartments. Data were automatically recorded on a computer. Mouse behaviors were analyzed using a videotracking system (View point, Lyon, France). The locomotor activity was expressed as the horizontal distance travelled in cm.

7.2.3.2. Fear conditioning chambers

Fear conditioning was performed in two plexiglass boxes of 62.5 cm long, 40 cm wide and 42 cm high (MED Associates Inc., St. Albans, VT, USA, ENV-307W-TH). A loudspeaker that could produce sounds up to 100 dB was present in each room. Each room had a light bulb which diffused a white light. In its lower part, each chamber comprised a removable part made of 23 metal bars of 3 mm in diameter separated from each other by a distance of 8 mm. This metal grid allowed to automatically record locomotor activity and to produce an electric shock. Conditioning chambers were used to mimic the traumatic event of the PTSD with the electric footshock and to assess the conditioned fear. They were also used to assess the sensitized fear in a new context. In order to create this new context, a structure having the form of roofing and reducing the chamber light was used together with a new odor of soap. Sensitized fear and conditioned fear were used to mimic, respectively, the hyperarousal and the intrusion clusters of the PTSD. Before each session, chambers were wiped with a different product according to the experimental phase: chloroxylénol 4.8% twenty fold diluted for the context of the electric shock, or with soap for the new context.

7.2.3.3. Elevated plus maze (EPM)

An EPM was used to assess anxiety-like behaviors to mimic the avoidance cluster of the PTSD. It was a cross-shaped device with four arms, two open and two closed. The arms were 30 cm long and 5 cm wide and were located 80 cm above the ground. The edges of the closed arms were 15 cm high whereas the edges of the open arms were 2.5 cm high. Mouse behaviors were recorded by a camera for later analysis.

7.2.3.4. The black and white box test

The light and dark test or black and white box (BWB) test was also used to assess anxiety-like behaviors to mimic the avoidance cluster of the PTSD. It consisted of one white chamber, which was illuminated, and one small dark chamber, which was not illuminated. The two chambers were connected by a small opening. At the start of a session, mice were placed in the center of the white box facing the opening of the black box. Mouse behaviors were recorded by a camera for later analysis.

7.2.4. Procedures

7.2.4.1. Ethanol-induced locomotor sensitization

A protocol developed in our laboratory [13] was used to sensitize the mice to the psychostimulant effects of ethanol. Briefly, the mice were housed in pairs 7 days before the start of the locomotor sensitization protocol. The 1st day after this period of acclimation, the procedure started with a habituation session during which all mice were i.p. injected with saline and immediately placed for 5 minutes in the open fields. Mice were then randomly assigned to three groups according to the ethanol dose used for the sensitization procedure (0 g/kg, i.e. saline, 1 g/kg or 2 g/kg). During the sensitization procedure, mice were daily injected with their assigned ethanol dose (or saline) for 8 days and their locomotor activity was recorded for the first 5 minutes after the injection. The first sensitization session was also used to assess the acute stimulant effects of ethanol. Two days after the last sensitization session, mice were submitted to a 20 minutes challenge test session. In the first experiment, in order to test for between-groups ethanol sensitization, all mice including the control

groups were injected with either 1 or 2 g/kg ethanol on the challenge test. In the second experiment, mice were injected daily in their home cages, except for the habituation session, the acute session and the challenge test. On the challenge test session, mice from the second experiment received the same injection as during the sensitization procedure, including saline for the control group. This latter procedure was adopted in order to keep the control group “ethanol free” before the induction of PTSDLC.

7.2.4.2. PTSD-like clusters

The protocol used by Siegmund and Wotjak [18,25] was used to induce PTSDLC.

7.2.4.2.1. Electric footshock

Briefly, mice were single housed 7 days before the conditioned fear procedure. On the first day of the procedure, the mice were placed into the fear conditioning box for a total duration of 260 seconds. Each session began with the illumination of the cage. After 198 seconds, the mice received an inescapable electric footshock of 1.5 mA during 2 seconds. The mice remained 60 seconds in the cage before being directly returned to their home cages. The control groups underwent the same procedure without receiving the electric shock. The fear behavior in mice was automatically recorded by the percentage time spent freezing before and after the electric shock. Freezing is defined by the cessation of any activity other than respiratory movements.

7.2.4.2.2. Sensitized fear

Twenty-eight days after the inescapable footshock, mice were tested for fear generalization in a new context. Each session began with the illumination of the cage. After 180 seconds, a neutral sound of 80 db and of 9 kHz sine wave resounded in the cage for 180 seconds in order to test the generalization of sensitized fear to a new stimulus. At the end of the sound, mice remained 60 seconds in the cage before being directly returned to their home cages. The percentage time spent freezing before and during the emission of the neutral sound was recorded.

7.2.4.2.3. Conditioned fear

Twenty-nine days after the inescapable footshock, mice were tested for their conditioned fear in the same context where they received the electric shock. Each session began with the illumination of the cage. The mice remained for 180 seconds in this context without receiving an electric shock. Then they returned to their home cages. The percentage time spent freezing during the 180 seconds was recorded.

7.2.4.2.4. Anxiety-like behaviors

The anxiety-like behaviors were assessed with the EPM and the BWB respectively 35 and 41 days after the footshock. On the EPM, mice were placed into the center of the maze at the intersection of the open and closed arms. All mice were positioned muzzle pointing towards the same open arm. Each session was recorded by a videocamera and lasted 5 minutes.

In the BWB, the mice were placed into the center of the white box, muzzle directed towards the opening of the black box. Each session was recorded by a videocamera and lasted 10 minutes. Videotapes were later scored by a trained observer blind to the experimental treatment. The time spent in the open arms of the EPM and in the white compartment of the BWB, the time spent before the first entry (latency) into an arm of the EPM and into the black compartment of the BWB, and the total number of entries into the arms of the EPM and in the black compartment of the BWB were recorded for each mouse. An arm entry in the EPM or a compartment entry in the BWB was recorded when a mouse had all four paws in the arm or the compartment.

7.2.4.3. Experiment 1 procedure: PTSDLC followed by ethanol sensitization

Mice were ($n = 72$) randomly assigned to two groups of 36. One group was submitted to the PTSDLC protocol described above, whereas the second group (control group) underwent the same procedure without the footshock (figure 1). The ethanol sensitization procedure started 49 days after the footshock. After the habituation session of the sensitization procedure, each group (shocked and non-shocked) was subdivided into three subgroups receiving either saline ($n = 18$), 1 g/kg ethanol ($n = 9$) or 2 g/kg ethanol ($n = 9$). Mice were then injected with their respective treatment for the duration of the sensitization procedure (day 50 to 57). On the challenge test (day 59), in order to test for between-

groups ethanol sensitization, mice of the ethanol groups were again injected with their respective ethanol dose (1 g/kg or 2 g/kg). The saline control groups were further subdivided into two subgroups of 9 mice injected with either 1 g/kg or 2 g/kg ethanol.

7.2.4.4. Experiment 2 procedure: Ethanol sensitization followed by PTSDLC

After the habituation session, the mice ($n = 80$) were divided into three groups receiving ethanol 1 g/kg ($n=28$), ethanol 2 g/kg ($n=28$) or saline ($n=24$). The mice underwent the ethanol locomotor sensitization procedure as described above (figure 2). Mice were injected daily in their home cages, except for the habituation session (day 0), the acute session (day 1) and the challenge test (day 10). On the challenge test session, mice received the same injection as during the sensitization procedure with saline solution for the control group. Then, each group of mice was subdivided into two subgroups, with half of the mice receiving an electric footshock and the other half serving as control. The mice underwent the PTSDLC as described above.

7.2.5. Statistical analysis

7.2.5.1. Experiment 1

For the conditioned fear procedure, the differences in the mean percentage freezing times between the two groups (shocked and non-shocked mice) were tested with independent Student t tests before the shock, after the shock, before the neutral sound, during the neutral sound and in the conditioned context. For the EPM, independent Student t tests were used to compare the two groups (shocked and non-shocked mice) for the time spent in the open arms of the EPM, the latency before the first entry into an arm and the total number of entries into the arms. For the BWB, shocked and non-shocked mice were compared for the latency before the first entry into the black compartment, the time spent in the white compartment and the total number of entries into the black compartment by independent Student t tests.

For the habituation session before the sensitization procedure, the mean locomotor activity of mice from the shocked and non-shocked groups were compared using a Student t test for independent groups. A two-way ANOVA (shock treatment x ethanol dose) was performed to test for the acute

effects of ethanol on locomotor activity. To test for intra-subject ethanol sensitization, scores of differences (delta scores) were computed for each mice between the locomotor score on D8 and the locomotor score on D1. Mean delta scores were then analyzed with a factorial two-way ANOVA using shock treatment (shock vs. non-shock) and ethanol dose (saline, 1 or 2 g/kg) as independent variables. Additionally, mean locomotor activity on D8 (sensitized locomotor scores) was analyzed with a factorial two-way ANOVA using shock treatment and ethanol dose as independent variables. In order to test for between-groups ethanol sensitization, mean locomotor activity on the 20 min challenge test was analyzed with two-way ANOVAs separately for each ethanol test dose using shock treatment (shock vs. non-shock) and chronic drug treatment (saline vs ethanol) as independent variables.

7.2.5.2. Experiment 2

One-way ANOVAs were computed to test for differences in the mean locomotor activity of the groups on the habituation session (day 0), on the acute session (day 1) and on the 20 min challenge test session (day 10). Additionally, to test for intra-subject ethanol sensitization, delta scores were calculated as the difference between the mean locomotor scores from the first 5 minutes of the challenge test session and from the acute session. Delta scores were then analyzed with a one-way ANOVA to test for differences between groups.

For the conditioned fear procedure, the EPM and the BWB, results were analyzed with factorial two-way ANOVAs using shock treatment (shock vs. non-shock) and ethanol dose (saline, 1 or 2 g/kg) as independent variables.

Where necessary logarithmic or square root transformations were used more to meet the homoscedasticity assumption. Newman-Keuls post hoc tests were performed for significant means differences either on the main effect or on the interaction, depending on which one was statistically significant.

7.3. Results

7.3.1. Experiment 1: PTSD-like condition followed by ethanol sensitization

7.3.1.1. PTSD-like clusters

Before the electric footshock, the shocked and non-shocked mice did not differ in terms of baseline freezing ($t = 1.52$, $df = 70$, $p = 0.13$; see supplementary materials). After the electric footshock (figure 3A), the shocked mice froze more than the control group ($t = 6.82$, $df = 70$, $p < 0.000001$). In the new context, twenty-eight days after the electric footshock (figures 3B and 3C), mice were tested for their sensitized fear. The shocked mice froze more than the control group both before ($t = 3.19$; $df = 70$, $p = 0.0021$) and during the emission of a neutral sound ($t = 3.39$, $df = 70$, $p = 0.0012$). Twenty-nine days after the electric footshock, mice were tested for their conditioned fear in the shock context chamber without electric shock (figure 3D). The mice of the shocked group froze more than the mice of the control group ($t = 3.68$, $df = 70$, $p = 0.00045$).

In the EPM (figure 3E), the shocked mice spent more time than the non-shocked mice in the open arms ($t = 1.51$, $df = 70$, $p = 0.016$). There was no statistically significant difference (see supplementary materials) between shocked and non-shocked mice for the latency ($t = 0.87$, $df = 70$, $p = 0.38$) and for the total number of entries into the arms ($t = 1.26$, $df = 70$, $p = 0.21$). In the BWB (figure 3F), longer latencies to enter into the black box were observed for shocked mice relative to non-shocked mice ($t = 2.28$, $df = 69$, $p = 0.025$). There was no difference (see supplementary materials) between the two groups for the time spent in the white box ($t = 0.47$, $df = 69$, $p = 0.64$) and for the total number of entries into the black box ($t = 0.97$, $df = 69$, $p = 0.33$).

7.3.1.2. Ethanol-induced locomotor sensitization

On the habituation session (figure 4A), there was no difference in the mean baseline locomotor activity between the shocked and the non-shocked mice ($t = 0.01$, $df = 69$, $p = 0.99$). On the first ethanol injection (figure 4B), the acute stimulant effects of ethanol were tested with a two-way ANOVA (shock treatment x ethanol dose). The results show a significant main effect for the ethanol dose ($F(2,63) = 17.29$, $p < 0.000001$), whereas there were no significant main effect of the shock treatment ($F(1,63) =$

2.02, $p = 0.16$) and no significant interaction ($F(2,63) = 0.38$, $p = 0.68$). The Newman-Keuls post hoc tests on the ethanol main effect showed that the mean locomotor activity was lower in the saline group compared to both the ethanol 2g/kg group ($p < 0.00012$) and the ethanol 1g/kg group ($p = 0.0021$). There was also a statistically significant difference between the two ethanol groups ($p = 0.027$). The ethanol 2g/kg group expressed higher locomotor activity than the ethanol 1g/kg group.

On the 8th day of the sensitization procedure (figure 4C), the two-way ANOVA (shock treatment x ethanol dose) revealed a significant main effect of the ethanol dose ($F(2,66) = 8.52$, $p = 0.00051$) and a significant interaction between the ethanol dose and the shock condition ($F(2,66) = 5.01$, $p = 0.0094$). However, the main effect of the shock treatment was not statistically significant ($F(2,66) = 2.1$, $p = 0.15$). The Newman-Keuls post hoc tests on the interaction showed that the shocked ethanol-2g/kg group had a higher mean locomotor activity than all the other groups ($p < 0.01$). The two-way ANOVA computed on the delta scores (figure 4D) showed a significant main effect of the shock treatment ($F(1,63) = 7.53$, $p = 0.0079$) and a significant interaction between the ethanol dose and the shock condition ($F(2,63) = 6.94$, $p = 0.0019$). The main effect of the ethanol dose was not statistically significant ($F(2,63) = 0.93$, $p = 0.4$). The Newman-Keuls post-hoc tests on the interaction showed higher mean delta scores in the shocked 2g/kg ethanol group relative to all the other groups ($p < 0.05$ for all comparisons).

On the challenge test session, two-way ANOVAs were computed separately for each ethanol dose. For the 1 g/kg ethanol dose, none of the main effects or interaction were statistically significant (figure 4E). For the 2g/kg ethanol dose, there was a significant main effect of the chronic drug treatment ($F(1,33) = 10.94$, $p = 0.0023$), with mice repeatedly injected with 2 g/kg ethanol showing a higher mean locomotor activity than mice repeatedly injected with saline (figure 4F). However, there was no statistically significant main effect of the shock treatment ($F(1,33) = 3.12$, $p = 0.087$) and no significant interaction ($F(1,33) = 0.64$, $p = 0.43$).

7.3.2. Experiment 2: Ethanol sensitization followed by PTSD-like condition

7.3.2.1. Ethanol-induced locomotor sensitization

As shown in figure 5A, at the habituation session the three groups expressed similar locomotor activity ($F(2,77) = 0.46$, $p = 0.63$). The next day (Day 1), the mice were tested for the acute effects of ethanol (figure 5B). The one-way ANOVA revealed a significant effect of the ethanol dose ($F(2,77) = 18.19$, $p < 0.000001$). Newman-Keuls post-hoc tests showed higher locomotor activity in the two ethanol groups relative to the saline control group ($p = 0.00011$ for 2 g/kg ethanol and $p = 0.0008$ for 1 g/kg ethanol). Additionally, mice injected with 2 g/kg ethanol had higher mean locomotor activity relative to mice injected with 1 g/kg ethanol ($p = 0.012$). On the challenge test session, the mice were tested for the chronic effect of ethanol (figure 5C). There was a significant difference between groups (one-way ANOVA, $F(2,77) = 100.9$, $p < 0.000001$). Newman-Keuls post-hoc tests showed that ethanol-2g/kg mice had higher locomotor activity than both the ethanol-1g/kg group ($p = 0.00011$) and the saline control group ($p = 0.00011$). The ethanol-1g/kg group also had higher locomotor activity than the saline group ($p = 0.00011$). The one-way ANOVA computed on the delta scores showed a significant difference between groups ($F(2,77) = 44.2$, $p < 0.000001$; figure 5D). The Newman-Keuls post-hoc tests revealed higher delta scores in both ethanol groups relative to the saline group ($p = 0.00011$ for 2 g/kg ethanol and $p = 0.0038$ for 1 g/kg ethanol) and higher delta scores in the ethanol-2g/kg group relative to the ethanol-1g/kg group ($p = 0.00011$).

7.3.2.2. PTSD-like clusters

Before the electric shock, the one-way ANOVA revealed no differences between the three groups of mice ($F(2,77) = 1.96$; $p = 0.15$; see supplementary materials). After the electric shock (figure 6A), the two-way ANOVA (ethanol dose x shock treatment) showed a significant main effect of the shock ($F(1,74) = 57.23$, $p < 0.000001$). The shocked mice froze more than the non-shocked mice. However, there were no significant main effect of the ethanol dose ($F(2,74) = 1.87$, $p = 0.16$) and no significant interaction ($F(2,74) = 0.02$, $p = 0.98$). Twenty-eight days after the electric footshock, mice were tested for their sensitized fear in a new context. Before the neutral tone emission (figure 6B), the two-way ANOVA (ethanol dose x shock treatment) showed a significant main effect of the shock ($F(1,74) = 56.87$, $p < 0.000001$) and a significant interaction ($F(2,74) = 3.64$, $p = 0.031$). However, the main

effect of the ethanol dose ($F(2,74) = 3.09$, $p = 0.051$) did not reach statistical significance. The Newman-Keuls post-hoc tests revealed that all shocked groups froze significantly more than their non-shocked counterparts ($p < 0.05$). Additionally, the shocked ethanol-2g/kg group froze more than all the other groups ($p < 0.05$). During the neutral tone emission (figure 6C), the two-way ANOVA (ethanol dose x shock treatment) showed a significant main effect of the electric shock ($F(1,74) = 23.90$, $p = 0.000006$) and a significant interaction ($F(2,74) = 3.58$, $p = 0.033$). However, there was no significant main effect of the ethanol dose ($F(2,74) = 0.42$, $p = 0.66$). The Newman-Keuls post-hoc tests showed significant differences between the shocked 2 g/kg ethanol group and all the non-shocked mice ($p < 0.05$) and also between the shocked 1 g/kg ethanol group and all the non-shocked ethanol groups ($p < 0.05$). On the 29th day after the electric footshock, the mice were tested for their conditioned fear in the context shock chamber (figure 6D). The two-way ANOVA (ethanol dose x shock treatment) revealed a significant main effect of the electric footshock ($F(1,74) = 39.41$, $p < 0.000001$) resulting from higher freezing time in shocked mice compared to non-shocked mice. However, there were no significant main effect of the ethanol dose ($F(2,74) = 1.67$, $p = 0.24$) and no significant interaction ($F(2,74) = 0.01$, $p = 0.099$).

In the EPM, the two-way ANOVAs (ethanol dose x shock treatment) showed no significant main effects for the ethanol dose (all $ps > 0.05$) or the shock treatment (all $ps > 0.05$) and no significant interactions (all $ps > 0.05$) for the total number of entries in the arms, the latency for the first arm entry and the time spent in the open arm (see supplementary materials).

Figures 6E and 6F show that in the BWB, there was a significant main effect of the shock both on the latency to enter into the black box ($F(1,74) = 5.77$, $p = 0.019$) and on the time spent in the white box ($F(1,74) = 4.82$, $p = 0.031$). The shocked mice, compared to the non-shocked mice, had a higher latency before first entrance into the black box and spent more time in the white box. In contrast, for the total number entries in the BWB, there was no significant main effect of the shock ($F(1,74) = 2.26$, $p = 0.14$; see supplementary materials). For all measures in the BWB, there were no significant main effects of the ethanol dose (all $ps > 0.05$) and no significant interaction (all $ps > 0.05$).

7.4. Discussion

Our main results show that PTSDLC did not reduce the threshold for the acquisition of ethanol-induced locomotor sensitization. In contrast to our hypothesis, a significant locomotor sensitization to

1 g/kg ethanol was not observed after PTSDLC. However, PTSDLC had a consolidator effect on the acquisition of locomotor sensitization with 2 g/kg ethanol. On the other side, repeated ethanol administrations modulated the expression of some clusters of the PTSDLC. To our knowledge this is the first time that an animal model of PTSD using an inescapable brief electric footshock is combined with the sensitization to psychostimulant effects of drugs of abuse to study the bases of PTSD-AUD comorbidity. Before the present study, only three articles were devoted to the effects of PTSDLC on the sensitization to the psychostimulant effects of drugs of abuse. However, they used a different procedure of stress exposure: a single prolonged stress. This procedure is a protocol including the sequential exposure to three different stressors (for a review: Lisieski et al., 2018 [26]). Using this single prolonged stress protocol, they assessed the modulator effects of PTSDLC on locomotor sensitization to methamphetamine [27], cocaine [28] and ethanol [29].

Overall, the present study confirms the face validity of the rodent model of PTSD proposed by Siegmund and Wotjak [18,25]. In experiments 1 and 2, shocked mice showed significant sensitized fear in a new context and conditioned fear in the shock chamber respectively 28 days and 29 days after the electrical footshock. In the present study, fear reactions were so strong that significant differences in freezing were already observable before the emission of the neutral tone in agreement with the results of a previous study [19]. These results show the long term consequences of the exposition to a single stressor and mimic the increased reactivity to the cues associated with a traumatic stressor and the overgeneralization of learned fear observed in human PTSD. In contrast, the EPM and BWB tests provided less robust results. In animal models of PTSD, such experimental paradigms are used to test the increase anxiety as mimicking PTSD avoidance symptoms often reported by individuals suffering from PTSD [18,20,30-34]. Reduced time spent in the open arms of the EPM [31,34] and in the white box of the BWB [31] was therefore expected in shocked mice relative to non-shocked mice. The results of the present study did not confirm this hypothesis. Previous studies also reported inconsistencies in the results obtained with the EPM and BWB in rodent models of PTSD [20,31-35]. Clearly additional studies are needed to clarify the role of anxiety in animal models of PTSD. Although increased anxiety is often reported in human PTSD, many studies fail to find enhanced anxiety-like behaviors in rodent model of PTSD (for a review: Lisieski et al., 2018 [26]). It is possible that the EPM and BWB are not suitable paradigms to test for increased anxiety after a stress procedure. Indeed, these paradigms are based on conflicts between the motivation to avoid potentially dangerous open spaces and the motivation to explore a new environment. In shocked

mice, the motivation to explore the EPM and BWB might be increased by the need to escape a new environment made more frightening by the overgeneralization of fear. This would explain why inconsistent results are often obtained with these paradigms in animal models of PTSD.

7.4.1. Effects of PTSDLC on ethanol sensitization

The aim of the first experiment was to test the assumption that a PTSDLC reduces the threshold for the acquisition and expression of ethanol-induced locomotor activity. In contrast to our hypothesis, the shock stress did not reduce the ethanol dose threshold neither for the acquisition, nor for the expression of locomotor sensitization. In the present study, the PTSDLC did not allow the acquisition or expression of locomotor sensitization to 1 g/kg ethanol. This result is in agreement with a previous study in which a single prolonged stress paradigm failed to elicit locomotor sensitization to cocaine at a sub-threshold sensitization dose [28]. The hypothesis that PTSD reduces the dose threshold for the development of alcohol addiction is therefore not confirmed with the present animal model of ethanol sensitization.

Surprisingly, in the present study, the non-shocked mice repeatedly injected with 2 g/kg ethanol did not express a significant sensitization to the locomotor stimulant effects of ethanol in contrast to previous studies in our laboratory [13]. Such results are unlikely to be explained by the specific sensitization procedure in which ethanol was injected in the home cage. Indeed, we have repeatedly shown that similar levels of ethanol sensitization are obtained when ethanol is injected either in the home cages or in the test boxes [13,36]. A possible explanation is that the repeated handling and testing of non-shocked mice prevented the expression of ethanol sensitization. Indeed, a previous study in our laboratory [10] has shown that the expression of ethanol sensitization requires an arousing environment and that an extensive pre-exposure to experimental manipulations and environment prevents the expression of ethanol sensitization [10,36]. In the present study, mice were extensively exposed to experimental handling, manipulations and test environments as they were successively submitted to the fear conditioning chambers, the EPM, the BWB and the open fields. This might have significantly reduced the arousing properties of the testing environment, which was shown to prevent the expression of ethanol sensitization [36]. According to such an explanation, stress exposure should maintain the arousing properties of the testing environment and therefore the expression of ethanol sensitization. This is consistent with studies reporting that stress prevents the effect of habituation

[37,38]. This is what is observed in shocked mice repeatedly injected with 2 g/kg ethanol. In this group of mice a significant locomotor sensitization was observed both as an intra-group sensitization (delta scores) and as an inter-group sensitization on the challenge test. Previous studies also reported that a single prolonged stress enhanced locomotor sensitization for methamphetamine [27] and cocaine [28]. In contrast, Matchynski-Franks et al. [29] reported that locomotor sensitization to ethanol is blunted in stressed mice. However, they used C57BL/6J mice, a strain of mice known to be resistant to ethanol locomotor sensitization [11,39] and often reported as a poor animal model of ethanol locomotor sensitization [11,40]. Together these studies indicate that PTSDLC reinforces or consolidates the development and expression of locomotor sensitization to several drugs of abuse, which might contribute to the comorbidity of drug addiction and PTSD in humans. Further studies will be required to identify the mechanisms underpinning the relationship between PTSDLC and ethanol sensitization. But clearly, the present results indicate that studies on the relationship between PTSD and AUD should not be limited to the framework of the self-medication theory, as they suggest that stress exposure interacts with the sensitization processes that are believed to be involved in the brain mechanisms of drug addiction.

7.4.2. Effects of ethanol-induced locomotor sensitization on PTSD-like clusters

The second goal of the present study was to assess the reverse relationship between ethanol sensitization and PTSD, i.e. to test whether ethanol sensitization modulates the later development of PTSD-like clusters. This is one of the first animal model studies considering this direction of the relationship between ethanol sensitization and PTSDLC. As most studies on the relationship between PTSD and AUD are based on the self-medication theory, few studies explored the influence of a pre-existent SUD or AUD on the later development of PTSD clusters in either humans [3,6-8] or animal models [24]. In human studies, a few authors concluded that PTSD clusters, particularly hyperarousal and avoidance, are overexpressed in persons with AUD [6,8], but these results remain controversial [7].

In the present study, the effects of repeated ethanol injections and ethanol sensitization on the development of PTSDLC clusters are more difficult to interpret. The only statistically significant effect was an effect of 2 g/kg ethanol repeated injections on sensitized fear. The shocked ethanol-2g/kg mice froze more than all the others groups both before the neutral tone, which would be

indicative of a stronger fear generalization in a new context. In contrast, there was no statistically significant differences between saline and ethanol groups for the other PTSDLC clusters. A possible explanation to this relative lack of effect is the long time delay between ethanol sensitization and the PTSDLC cluster testing. For example, sensitized fear was tested 36 days after the last ethanol administration. Such long time delays are required by the PTSDLC model to show the long term persistence of PTSDLC clusters, one of most important features of PTSD symptoms in humans. However, at such time delays, ethanol sensitization might have disappeared. Previous studies have shown the persistence of ethanol sensitization after 14 to 29 days [11,40], but it is unknown whether a significant ethanol sensitization is still present after 35 days and more. In future studies, a possible way to circumvent this problem would be to put the ethanol sensitization procedure in the time interval between the electrical footshock and the testing of PTSDLC clusters. However, such a procedure would not be a proper ecological model to test for the expression of PTSD clusters in individuals with AUD, since ethanol would be administered after the traumatic event. Another possibility would be to add to the present procedure repeated booster ethanol injections in the time interval between the shock and the PTSDLC clusters to reinforce ethanol sensitization. The ecological validity of such a procedure would be better, since individuals with AUD who experience a traumatic event usually continue to drink after the event.

7.5. Conclusion

The present study shows that PTSDLC strengthens the development of ethanol sensitization with proper doses (2 g/kg), but did not reduce the ethanol dose threshold for locomotor sensitization development. This suggests that PTSD might interact with one of the mechanisms underlying the development of alcohol addiction. When the relationship between ethanol sensitization and PTSDLC is tested in the reverse direction, only sensitized fear was significantly affected by prior ethanol injections. From the present results, it is therefore difficult to conclude whether a previously established AUD modulates the later expression of the various PTSD symptoms.

References

[1] Pietrzak RH, Goldstein RB, Southwick SM, Grant BF. Prevalence and Axis I comorbidity of full and partial posttraumatic stress disorder in the United States: results from Wave 2 of the National

- Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions. *J Anxiety Disord.* 2011;25(3):456-65. doi: 10.1016/j.janxdis.2010.11.010.
- [2] Jacobsen LK, Southwick SM, Kosten TR. Substance use disorders in patients with posttraumatic stress disorder: a review of the literature. *Am J Psychiatry.* 2001;158(8):1184-90. doi: 10.1176/appi.ajp.158.8.1184.
- [3] Davis TA, Jovanovic T, Norrholm SD, Glover EM, Swanson M, Spann S, Bradley B. Substance Use Attenuates Physiological Responses Associated With PTSD among Individuals with Co-Morbid PTSD and SUDs. *J Psychol Psychother.* 2013;Suppl 7:006. doi: 10.4172/2161-0487.S7-006.
- [4] McCauley JL, Killeen T, Gros DF, Brady KT, Back SE. Posttraumatic Stress Disorder and Co-Occurring Substance Use Disorders: Advances in Assessment and Treatment. *Clin Psychol (New York).* 2012;19(3). doi: 10.1111/cpsp.12006.
- [5] Bates ME, Buckman JF, Nguyen TT. A role for cognitive rehabilitation in increasing the effectiveness of treatment for alcohol use disorders. *Neuropsychol Rev.* 2013;23(1):27-47. doi: 10.1007/s11065-013-9228-3.
- [6] Wiechelt SA, Miller BA, Smyth NJ, Maguin E. Associations between post-traumatic stress disorder symptoms and alcohol and other drug problems: Implications for social work practice. *Practice (Birm).* 2011;23(4):183-199. doi:10.1080/09503153.2011.597200.
- [7] Tull MT, Gratz KL, Aklin WM, Lejuez CW. A preliminary examination of the relationships between posttraumatic stress symptoms and crack/cocaine, heroin, and alcohol dependence. *J Anxiety Disord.* 2010;24(1):55-62. doi: 10.1016/j.janxdis.2009.08.006.
- [8] Saladin ME, Brady KT, Dansky BS, Kilpatrick DG. Understanding comorbidity between PTSD and substance use disorders: two preliminary investigations. *Addict Behav.* 1995;20(5):643-55. doi: 10.1016/0306-4603(95)00024-7.
- [9] Robinson TE, Berridge KC. The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Res Brain Res Rev.* 1993;18(3):247-91. doi: 10.1016/0165-0173(93)90013-P.
- [10] Garcia EJ, Haddon TN, Saucier DA, Cain ME. Differential housing and novelty response: Protection and risk from locomotor sensitization. *Pharmacol Biochem Behav.* 2017;154:20–30. doi: 10.1016/j.pbb.2017.01.004.
- [11] Camarini R, Pautassi RM2. Behavioral sensitization to ethanol: Neural basis and factors that influence its acquisition and expression. *Brain Res Bull.* 2016;125:53-78. doi: 10.1016/j.brainresbull.2016.04.006.

- [12] Allouche S, Le Marec T, Noble F, Marie N. Different patterns of administration modulate propensity of methadone and buprenorphine to promote locomotor sensitization in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2013;40:286-91. doi: 10.1016/j.pnpbp.2012.10.013.
- [13] Didone V, Quoilin C, Tirelli E, Quertemont E. Parametric analysis of the development and expression of ethanol-induced behavioral sensitization in female Swiss mice: effects of dose, injection schedule, and test context. *Psychopharmacology (Berl)*. 2008;201(2):249-60. doi: 10.1007/s00213-008-1266-9.
- [14] Stevenson RA, Besheer J, Hodge CW. Comparison of ethanol locomotor sensitization in adolescent and adult DBA/2J mice. *Psychopharmacology (Berl)*. 2008;197(3):361-70. doi: 10.1007/s00213-007-1038-y.
- [15] Didone V, Masson S, Quoilin C, Seutin V, Quertemont E. Correlation between ethanol behavioral sensitization and midbrain dopamine neuron reactivity to ethanol. *Addict Biol*. 2016;21(2):387-96. doi: 10.1111/adb.12216.
- [16] Carrara-Nascimento PF, Griffin WC 3rd, Pastrello DM, Olive MF, Camarini R. Changes in extracellular levels of glutamate in the nucleus accumbens after ethanol-induced behavioral sensitization in adolescent and adult mice. *Alcohol*. 2011;45(5):451-60. doi: 10.1016/j.alcohol.2011.01.002.
- [17] American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th ed. Arlington (Virginia), American Psychiatric Publishing, 2013.
- [18] Siegmund A, Wotjak CT. A mouse model of posttraumatic stress disorder that distinguishes between conditioned and sensitised fear. *J Psychiatr Res*. 2007;41(10):848-60. doi: 10.1016/j.jpsychires.2006.07.017.
- [19] Siegmund A, Dahlhoff M, Habersetzer U, Mederer A, Wolf E, Holsboer F, Wotjak CT. Maternal inexperience as a risk factor of innate fear and PTSD-like symptoms in mice. *J Psychiatr Res*. 2009;43(14):1156-65. doi: 10.1016/j.jpsychires.2009.02.003
- [20] Berardi A, Trezza V, Palmery M, Trabace L, Cuomo V, Campolongo P. An updated animal model capturing both the cognitive and emotional features of post-traumatic stress disorder (PTSD). *Front Behav Neurosci*. 2014;8:142. doi: 10.3389/fnbeh.2014.00142.
- [21] Santos-Rocha JB, Rae M, Teixeira AMA, Teixeira SA, Munhoz CD, Muscará MN, Marcourakis T, Szumlinski KK, Camarini R. Involvement of neuronal nitric oxide synthase in cross-sensitization between chronic unpredictable stress and ethanol in adolescent and adult mice. *Alcohol*. 2018;68:71-79. doi: 10.1016/j.alcohol.2017.10.004.

- [22] Quadir SG, Santos JR, Campbell RR, Wroten MG, Singh N, Holloway JJ, Bal SK, Camarini R, Szumlinski KK. Homer2 regulates alcohol and stress cross-sensitization. *Addict Biol.* 2016;21(3):613-33. doi: 10.1111/adb.12252.
- [23] Meyer EM, Long V, Fanselow MS, Spigelman I. Stress increases voluntary alcohol intake but does not alter established drinking habits in a rat model of post-traumatic stress disorder. *Alcohol Clin Exp Res.* 2013; 37(4): 566–574. doi: 10.1111/acer.12012.
- [24] Lisieski MJ, Perrine SA. Binge-pattern cocaine administration causes long-lasting behavioral hyperarousal but does not enhance vulnerability to single prolonged stress in rats. *Psychiatry Res.* 2017;257:95-101. doi: 10.1016/j.psychres.2017.07.026.
- [25] Siegmund A, Wotjak CT. Hyperarousal does not depend on trauma-related contextual memory in an animal model of Posttraumatic Stress Disorder. *Physiol Behav.* 2007;90(1):103-7. doi: 10.1016/j.physbeh.2006.08.032.
- [26] Lisieski MJ, Eagle AL, Conti AC, Liberzon I, Perrine SA. Single-Prolonged Stress: A Review of Two Decades of Progress in a Rodent Model of Post-traumatic Stress Disorder. *Front Psychiatry.* 2018;9:196. doi: 10.3389/fpsy.2018.00196.
- [27] Eagle AL, Perrine SA. Methamphetamine-induced behavioral sensitization in a rodent model of posttraumatic stress disorder. *Drug Alcohol Depend.* 2013;131(1-2):36-43. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2013.04.001.
- [28] Eagle AL, Singh R, Kohler RJ, Friedman AL, Liebowitz CP, Galloway MP, Enman NM, Jutkiewicz EM, Perrine SA. Single prolonged stress effects on sensitization to cocaine and cocaine self-administration in rats. *Behav Brain Res.* 2015;284:218-24. doi: 10.1016/j.bbr.2015.02.027.
- [29] Matchynski-Franks JJ, Susick LL, Schneider BL, Perrine SA, Conti AC. Impaired Ethanol-Induced Sensitization and Decreased Cannabinoid Receptor-1 in a Model of Posttraumatic Stress Disorder. *PLoS One.* 2016;11(5):e0155759. doi: 10.1371/journal.pone.0155759.
- [30] Chen LJ, Shen BQ, Liu DD, Li ST. The effects of early-life predator stress on anxiety- and depression-like behaviors of adult rats. *Neural Plast.* 2014;2014:163908. doi: 10.1155/2014/163908.
- [31] Corral-Frias NS, Lahood RP, Edelman-Vogelsang KE, French ED, Fellous JM. Involvement of the ventral tegmental area in a rodent model of post-traumatic stress disorder. *Neuropsychopharmacology.* 2013;38(2):350-63. doi: 10.1038/npp.2012.189.
- [32] Mozhui K, Karlsson RM, Kash TL, Ihne J, Norcross M, Patel S, Farrell MR, Hill EE, Graybeal C, Martin KP, Camp M, Fitzgerald PJ, Ciobanu DC, Sprengel R, Mishina M, Wellman CL, Winder DG, Williams RW, Holmes A. Strain differences in stress responsivity are associated with divergent

- amygdala gene expression and glutamate-mediated neuronal excitability. *J Neurosci.* 2010;30(15):5357-67. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5017-09.2010.
- [33] Muñoz-Abellán C, Daviu N, Rabasa C, Nadal R, Armario A. Cat odor causes long-lasting contextual fear conditioning and increased pituitary-adrenal activation, without modifying anxiety. *Horm Behav.* 2009;56(4):465-71. doi: 10.1016/j.yhbeh.2009.08.002.
- [34] Cohen H, Geva AB, Matar MA, Zohar J, Kaplan Z. Post-traumatic stress behavioural responses in inbred mouse strains: can genetic predisposition explain phenotypic vulnerability? *Int J Neuropsychopharmacol.* 2008;11(3):331-49. doi: 10.1017/S1461145707007912.
- [35] Ihne JL, Fitzgerald PJ, Hefner KR, Holmes A. Pharmacological modulation of stress-induced behavioral changes in the light/dark exploration test in male C57BL/6J mice. *Neuropharmacology.* 2012; 62(1): 464–473. doi: 10.1016/j.neuropharm.2011.08.045.
- [36] Didone V, Quoilin C, Dieupart J, Tirelli E, Quertemont E. Differential effects of context on psychomotor sensitization to ethanol and cocaine. *Behav Pharmacol.* 2016;27(2-3 Spec Issue):173-81. doi: 10.1097/FBP.0000000000000161.
- [37] Burke AR, Miczek KA. Stress in adolescence and drugs of abuse in rodent models: rôle of dopamine, CRF, and HPA axis. *Psychopharmacology (Berl).* 2014;231(8):1557-80. doi: 10.1007/s00213-013-3369-1.
- [38] Covington HE 3rd, Miczek KA. Intense cocaine self-administration after episodic social defeat stress, but not after aggressive behavior: dissociation from corticosterone activation. *Psychopharmacology (Berl).* 2005;183(3):331-40.
- [39] Tambour S, Didone V, Tirelli E, Quertemont E. Locomotor effects of ethanol and acetaldehyde after peripheral and intraventricular injections in Swiss and C57BL/6J mice. *Behav Brain Res.* 2006;172(1):145-54. doi: 10.1016/j.bbr.2006.05.010.
- [40] Melón LC, Boehm SL 2nd. Role of genotype in the development of locomotor sensitization to alcohol in adult and adolescent mice: comparison of the DBA/2J and C57BL/6J inbred mouse strains. *Alcohol Clin Exp Res.* 2011;35(7):1351-60. doi: 10.1111/j.1530-0277.2011.01471.x.
- [41] Boehm SL 2nd, Goldfarb KJ, Serio KM, Moore EM, Linsenbardt DN. Does context influence the duration of locomotor sensitization to ethanol in female DBA/2J mice? *Psychopharmacology (Berl).* 2008;197(2):191-201. doi: 10.1007/s00213-007-1022-6.

Figures

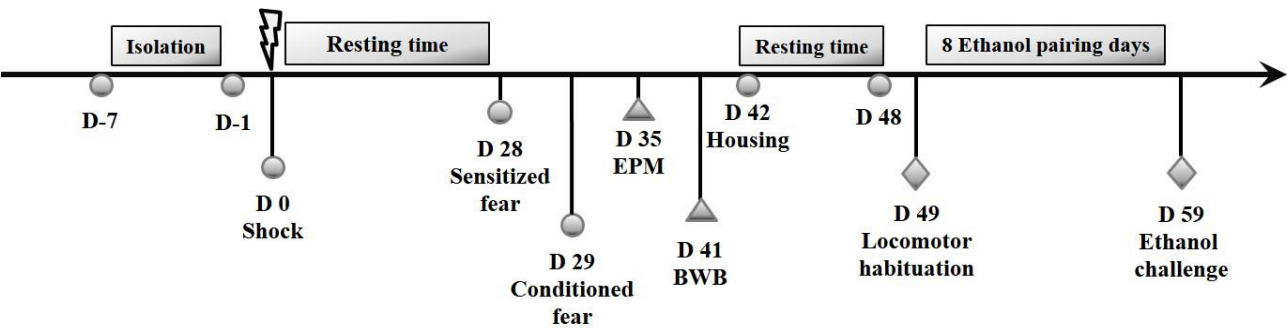


Figure 7.1. Schedule of experiment 1. D = day. EPM = Elevated plus maze. BWB = Black and white box.

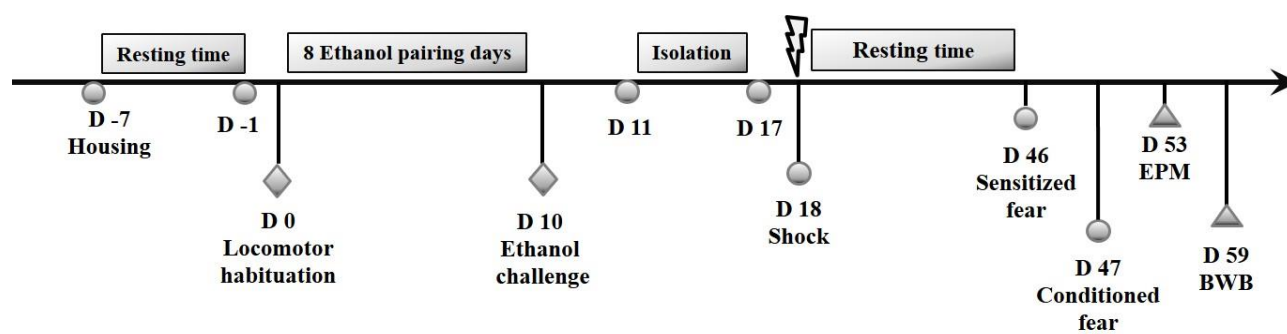


Figure 7.2. Schedule of experiment 2. D = Day. EPM = Elevated plus maze. BWB = Black and white box.

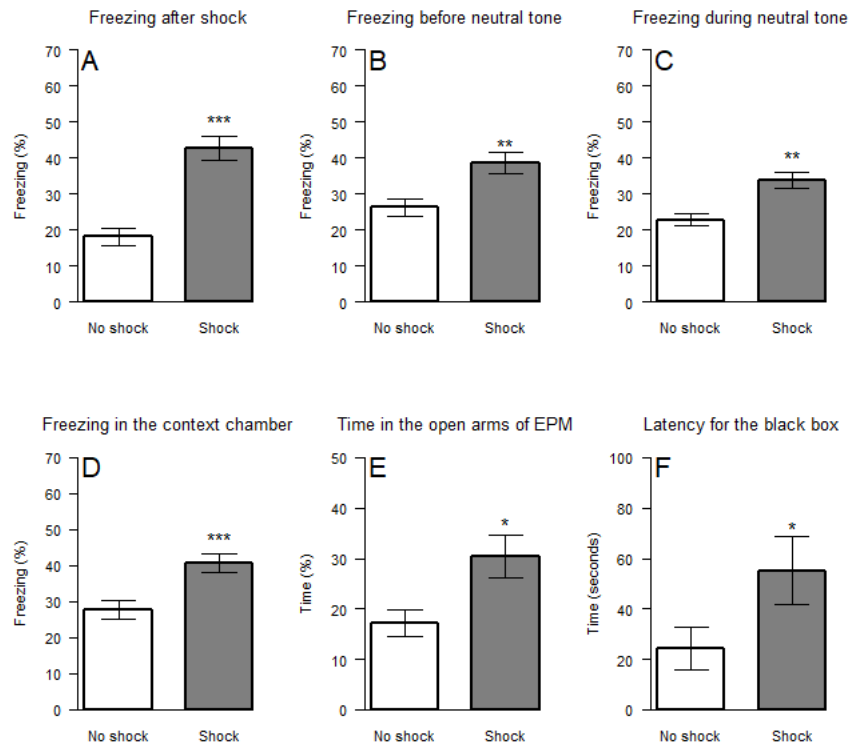


Figure 7.3. Post-traumatic stress disorder like condition clusters in experiment 1. (A) Percentage freezing time (mean \pm SEM) after the electric footshock on the shock session. (B) Percentage freezing time (mean \pm SEM) before the neutral tone on the sensitized fear test session. (C) Percentage freezing time (mean \pm SEM) during the neutral tone on the sensitized fear test session. (D) Percentage freezing time (mean \pm SEM) in the context chamber on the conditioned fear session. (E) Percentage time (mean \pm SEM) spent in the open arms of the EPM. (F) Latency (mean \pm SEM) in seconds before the first entry into the black box of the BWB.

*: $p < 0.05$. **: $p < 0.01$. ***: $p < 0.001$ relative to the non-shocked group.

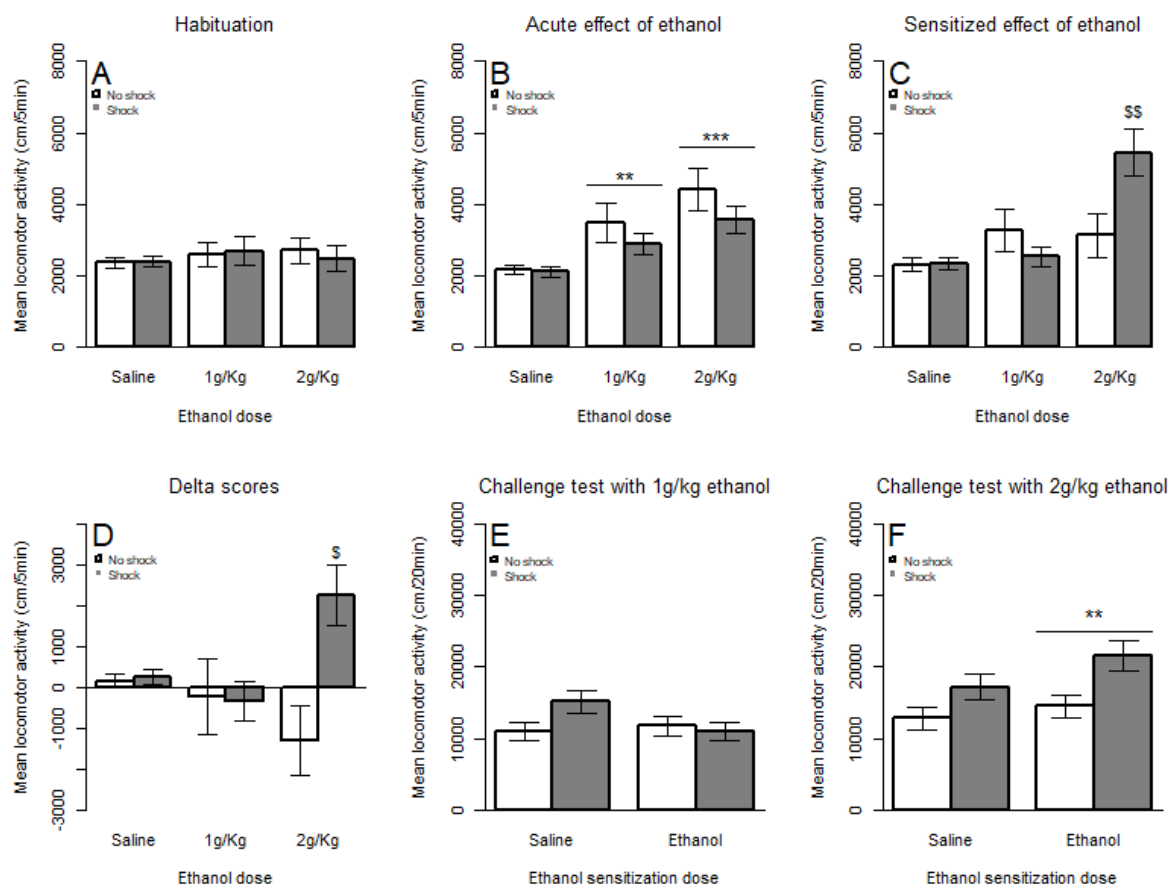


Figure 7.4. Locomotor activity (Mean \pm SEM) on the various sessions of the ethanol sensitization procedure in experiment 1. The horizontal axis shows the experimental groups with their specific chronic treatment starting on the first ethanol pairing day. (A) Habituation session. All mice were injected with saline. (B) Acute session (first ethanol pairing session) at which mice started to receive their chronic treatment. (C) Ethanol sensitized locomotor activity on the last pairing session. (D) Mean delta scores calculated as the difference between the locomotor activities on the last pairing session and on the acute session. (E) Challenge test session for mice injected with 1 g/kg ethanol. (F) Challenge test session for mice injected with 2 g/kg ethanol.

\$ $p < 0.05$ relative to all other groups.

\$\$ $p < 0.01$ relative to all other groups.

** $p < 0.01$ relative to the saline control group tested on the main effect of the ethanol dose.

*** $p < 0.001$ relative to the saline control group tested on the main effect of the ethanol dose.

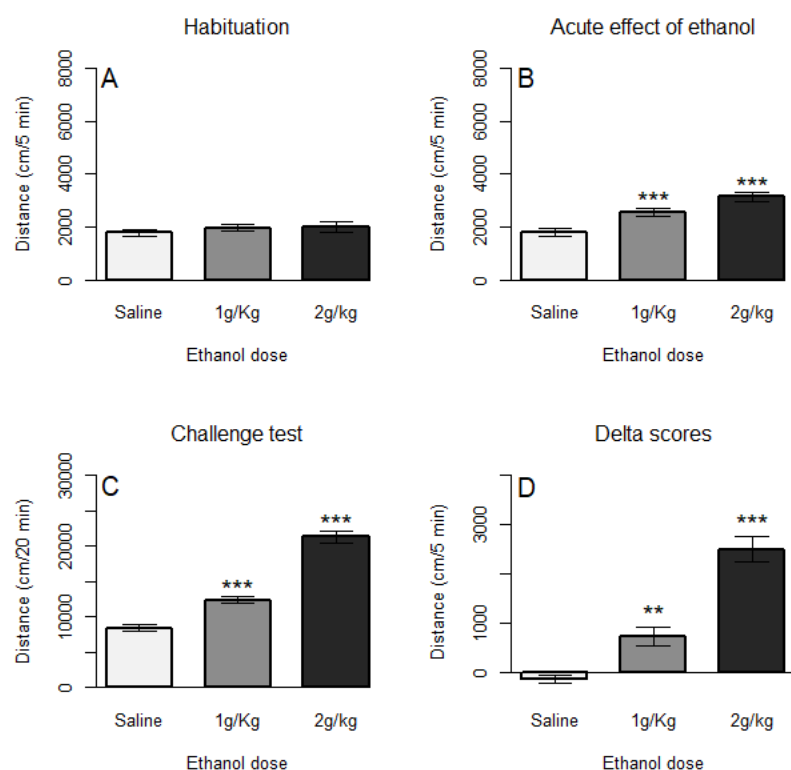


Figure 7.5. Locomotor activity (Mean \pm SEM) on the various sessions of the ethanol sensitization procedure in experiment 2. The horizontal axis shows the experimental groups with their specific chronic treatment starting on the first ethanol pairing day. (A) Habituation session. All mice were injected with saline. (B) Acute session (first ethanol pairing session) at which mice started to receive their chronic treatment. (C) Ethanol sensitized locomotor activity during the 20 min challenge session. Mice were injected with their assigned chronic treatment, i.e. saline, 1 g/kg or 2 g/kg ethanol. (D) Delta scores calculated as the difference between locomotor activity on the first five minutes of the challenge session and on the acute session.

** $p < 0.01$ relative to the saline control group.

*** $p < 0.001$ relative to the saline control group.

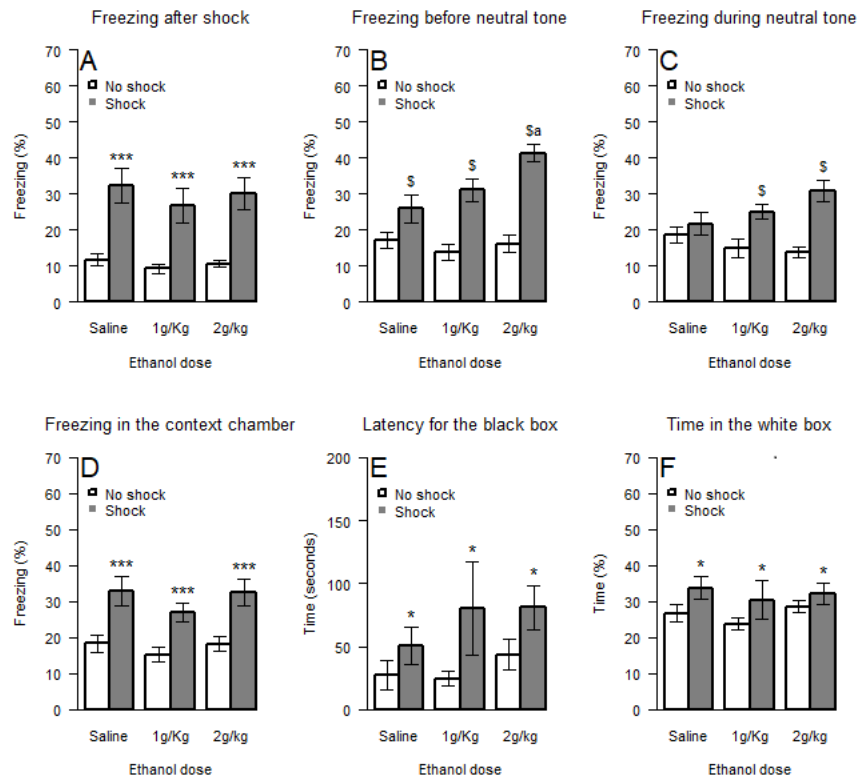


Figure 7.6. Post-traumatic stress disorder like condition clusters after ethanol sensitization in experiment 2. The horizontal axis shows the experimental groups with their specific chronic treatment during the ethanol sensitization procedure. (A) Percentage freezing time (mean \pm SEM) after the electric footshock on the shock session. (B) Percentage freezing time (mean \pm SEM) before the neutral tone on the sensitized fear test session. (C) Percentage freezing time (mean \pm SEM) during the neutral tone on the sensitized fear test session. (D) Percentage freezing time (mean \pm SEM) in the context chamber on the conditioned fear session. (E) Latency (mean \pm SEM) in seconds before the first entry into the black box of the BWB. (F) Percentage time (mean \pm SEM) spent in the white compartment of the BWB.

\$ $p < 0.05$ relative to the corresponding non-shocked group.

* $p < 0.05$ relative to non-shocked mice on the basis of the significant main effect.

*** $p < 0.001$ relative to non-shocked mice on the basis of the significant main effect.

\$a $p < 0.05$ relative to all other groups.

Chapitre 8

Investigating the bidirectional relationship between cocaine-induced locomotor sensitization and posttraumatic stress disorder-like in DBA/2J mice

Thierry Matonda-ma-Nzuzi^{1,2,3}, Vincent Didone¹, Théo van Ingelgom¹, Vincent Seutin², Ezio Tirelli¹, Etienne Quertemont¹

¹Psychology & Neuroscience of Cognition – PsyNCogn, ULiège, Belgium

²Laboratory of Neurophysiology, GIGA Neurosciences, all at Liège University, B-4000 Sart Tilman, Liège

³Département de psychiatrie, Faculté de médecine, Université de Kinshasa, Democratic Republic of the Congo

Abstract

Background

Cocaine use disorder and posttraumatic stress disorder (PTSD) are bound together in a complex reciprocal relationship. To date, this relationship remains poorly understood. A few animal studies reported evidence that PTSD-like condition (PTSDLC) increases cocaine-induced locomotor sensitization. On the other side, for the reverse relationship, little is known about the influence of prior cocaine sensitization on the later expression of PTSDLC. The aims of the present study were first to test whether PTSDLC alter the subsequent development of cocaine sensitization and secondly if prior cocaine sensitization affects the later expression of PTSDLC symptoms.

Methods

Two experiments were conducted on female inbred DBA/2J mice. PTSDLC was induced by an electric footshock and assessed by the expression of conditioned fear, sensitized fear and anxiety-like behaviours. Cocaine sensitization was induced by chronic repeated intraperitoneal injections of cocaine. In experiment 1, mice underwent the PTSDLC procedure and were then sensitized to 15.0 mg/kg cocaine. In experiment 2, mice underwent a cocaine sensitization protocol with 7.5 mg/kg and 15.0 mg/kg cocaine before the PTSDLC induction.

Results

PTSDLC did not modulate the acquisition or expression of cocaine sensitization. However, the present results indicate that PTSDLC might modulate cocaine-induced locomotor sensitization indirectly, through the interaction with protective factors such as animal stress-reducing handling. For the reverse relationship, prior cocaine-induced locomotor sensitization led to increased sensitized fear in mice, as expressed by higher levels of freezing behaviors. In PTSDLC mice, such an effect adds to the effects of the electric shock to produce the highest levels of freezing.

Conclusion

Whereas the present results do not provide evidence that PTSDLC modulates the later development of cocaine sensitization, a prior chronic use of cocaine might be expected to worsen the expression of some PTSD symptoms in an additive way.

Key words: Cocaine; Post-traumatic stress disorder; Fear conditioning; Locomotor sensitization.

8.1. Introduction

Cocaine use disorder, one of the prevalent substance use disorders (SUD) [Gawlińska et al., 2020; Grant et al., 2016; Kaag et al., 2016], and posttraumatic stress disorder (PTSD) are often comorbid conditions [Dworkin et al., 2018; Ruglass et al., 2017; Saunders et al., 2015]. PTSD is defined by the occurrence of four symptom clusters that occur in the aftermath of an extreme stress: (1) intrusion defined as re-experiencing the traumatic event in the form of spontaneous flashback memories or recurrent vivid dreams, (2) hyperarousal characterized by difficulties sleeping and concentrating and hypervigilance, (3) avoidance of trauma reminders and (4) numbing of affects [APA, 2013]. As with other SUD, the relationship between cocaine use disorder and PTSD remains poorly understood in spite of their frequent comorbidity [Dworkin et al., 2018; Ruglass et al., 2017; Saunders et al., 2015]. In previous studies, one of the most prevalent explanation for the comorbidity between PTSD and SUD is the self-medication theory [Dworkin et al., 2018; Ruglass et al., 2017; Langdon et al., 2016]. According to this explanation, drugs of abuse are often used by people with PTSD in an attempt to cope with their condition. However, whereas the acute effects of drugs sometimes alleviate the PTSD symptoms, their chronic use is believed to worsen the PTSD condition [Dworkin et al., 2018; Langdon et al., 2016; Wielchelt et al., 2011; Sullivan and Holt, 2008]. Regarding cocaine, some published studies indeed report that cocaine use disorder worsens PTSD in humans [Dworkin et al., 2018]. However, conflicting results have also been published with studies showing no effect [Avant et al., 2011; Tull et al., 2010; Back et al., 2006] or alleviating effects of cocaine abuse on PTSD [Ruglass et al., 2017; Najavits et al., 2003], while still other studies report that cocaine use disorder only increases some specific PTSD symptoms [Dworkin et al., 2018; Langdon et al., 2016].

Various factors contribute to the difficulty in understanding the relationship between PTSD and SUD in humans: memory biases in retrospective studies, the lack of objective measurement tools, difficulties in asserting which of the two conditions occurred first and finally ethical limitations [Dworkin et al., 2018; Ruglass et al., 2017; Saunders et al., 2015]. Additionally, people with SUD often consume several substances [Ruglass et al., 2017; Secades-Villa et al., 2015], making it difficult to detangle their respective roles. That is why animal studies combining sequential procedures of PTSD and drug administrations are used in order to overcome some of these limitations in the studies on the relationship between PTSD and SUD [Gilpin and Wainer, 2017]. The most common procedures of animal model of addiction to study the relationship between PTSD and SUD in animals are the

self-administration, the conditioned place preference and the drug-induced locomotor sensitization paradigms. These procedures are combined with various techniques of PTSD induction, such as the single prolonged stress, the social defeat stress, the predator-based stress and the electric footshock paradigms.

Because of the prominent influence of the self-medication theory, most of the rodent studies on the relationship between PTSD and SUD focused on the influence of PTSD-like condition (PTSDLC) on the consumption or self-administration of drugs [Hofford et al., 2018; Gilpin and Wainer, 2017; Taylor et al., 2016; Meyer et al., 2013]. For cocaine, the results of such studies are controversial. Whereas some results indicate that acute stress increases cocaine-seeking and taking behaviors [Covington and Miczek, 2005], the studies that specifically focused on PTSDLC did not report an effect on cocaine self-administration or consumption [Eagle et al., 2015; Quadros and Miczek, 2009]. Recently, the relationships between PTSD and SUD were studied with another animal model of SUD, the drug-induced locomotor sensitization paradigm [Matonda et al., 2019; Lisieski et Perrine, 2017; Matchynski-Franks et al., 2016; Eagle et al., 2015; Eagle et Perrine, 2013]. Drug-induced locomotor sensitization in rodents is considered as homologous to the intensification of drug craving in addicts and the paradigm is therefore used to model various features of drug addiction, including its brain bases [REF]. In previous studies, drug-induced locomotor sensitization was used to investigate the relationship between acute stress and repeated intermittent exposition to addictive drugs [Maeda et al., 2006], between PTSDLC and the acute effects of addictive drugs [Brodnik et al., 2017; Yap et al., 2015; Quadros et Miczek, 2009] or between acute stress and the acute effects of substances of abuse [Quadros et Miczek, 2009; Gulick et Gould, 2007]. Regarding cocaine, only one study was published to test whether PTSDLC affects cocaine-induced locomotor sensitization [Eagle et al., 2015]. In that study, rats were submitted to a single prolonged stress, a well validated animal model of PTSD, before the development of cocaine-induced locomotor sensitization. The results showed that stressed rats expressed higher levels of cocaine-induced locomotor sensitization relative to non-stressed rats. It is clear, however, that further studies are needed to confirm these results.

Whereas the self-medication theory argues for the investigation of the effects of PTSDLC on the subsequent development of addictive behaviors, it is also important to study how drugs of abuse may in turn affect the expression of the PTSD symptoms. Indeed, in humans, drug addiction occurred first in one third of the persons suffering from both conditions [Lisieski et al., 2017; Eagle et al., 2015].

Furthermore, cocaine use disorder, like others SUD, is believed to worsen the symptoms of PTSD, although this effect remains controversial as different studies reported that cocaine use disorder increases, decreases or has no effect on the severity of PTSD. In spite of these observations in humans, very few animal studies were interested on how chronic drug administration or consumption affects the subsequent development or expression of PTSDLC. With respect to the drug-induced locomotor sensitization paradigm and to our knowledge, only one study was published on how cocaine-induced locomotor sensitization affects the later expression of PTSDLC in an animal model of PTSD [Lisieski and Perrine, 2017]. The results of this study showed that cocaine-induced locomotor sensitization in rats led to hyperarousal behaviors independently of the administration of the single prolonged stress. However, there was no interaction between the effects of the single prolonged stress and the effects of cocaine. In other terms, repeated cocaine administration did not amplify the effects of the single prolonged stress on hyperarousal behaviors. Nevertheless, more studies are clearly required to investigate how cocaine-induced locomotor sensitization affects the latter development and expression of PTSDLC in rodents. So far, no study has assessed the effects of drug-induced locomotor sensitization on all the clusters of PTSDLC. In the present study, we used a well validated animal model of PTSD induced by an electric footshock. Based on the fear conditioning paradigm, such a procedure is particularly useful to study PTSDLC as it allows analyzing all the PTSD clusters: conditioned fear, sensitized fear and anxiety behaviors are used to mimic, respectively, the PTSD clusters of intrusion, hyperarousal and avoidance behaviors.

The aims of the present study were threefold. First to assess whether the administration of an electric footshock and the resulting PTSDLC modulates the later development and expression of cocaine-induced locomotor sensitization. The second aim of the present study was to test in an independent experiment whether cocaine-induced locomotor sensitization affects the later development and expression of PTSDLC. As a previous study reported that acute cocaine modulates conditioned fear in a dose-dependent manner [Wood et al., 2007], we tested two different cocaine doses in that experiment. Although the single previously published study on the effects of cocaine sensitization on PTSDLC reported negative results in rats [Lisieski and Perrine, 2017], we hypothesized on the basis of human studies that cocaine-induced locomotor sensitization in mice would worsen the expression of the PTSDLC clusters in a dose-dependent manner. In a previous study with ethanol [Matonda et al., 2019], a reduced locomotor sensitization was found in the control group that was not exposed to the PTSDLC. It was hypothesized that this reduced sensitization is explained by the multiplication of

the testing procedures and the resulting extensive mice handling that took place between the electric shock and the measure of locomotor sensitization. Extensive habituation might act by reducing the corticotrophin releasing factor (CRF) which is one of the main components that modulate locomotor sensitization to drugs [Pastor et al., 2012]. The third aim of the present study was therefore to test whether repeated handling of mice and extensive habituation to various test environments would affect the results in the first experiment. In order to do so, mice of the first experiment were further subdivided after the electric shock into two groups. The first group (high handling group) underwent the full testing procedure of all PTSDLC clusters before cocaine sensitization, whereas the second group was only tested for fear conditioning in order to reduce their levels of handling (low handling group).

8.2. Methods

8.2.1. Animals

Overall, this study used 160 female inbred DBA/2J mice. Female mice were used because female rodents generally show greater susceptibility to drug-induced sensitization. The mice were purchased from Janvier Laboratories (Le Genest-Saint-Isle, France) at 5–6 weeks of age. They spent 2–3 weeks of acclimatization to the colony room environment. The mice were 8 weeks old at the beginning of the experiments. Depending on the study phase, mice were singly housed or housed in pairs (see procedures section below) in transparent Plexiglas cages of 33 cm long, 15 cm wide and 13 cm high. The litter consisted of pine sawdust bedding. Mice had permanently access to food and water (standard pellets; Carfil Quality BVDA, Oud-Turnhout, Belgium). The laboratory temperature was maintained constant between 20 and 22 °C. The animals were kept in a 12h:12 h light-dark cycle (lights on at 6:00). All experiments were conducted during the light phase, between 8:00 and 16:00. All experimental treatments and animal maintenance were reviewed by the University of Liege Animal Care and Experimentation Committee (application 1646), which gave its approval according to the Belgian implementation of the animal welfare guidelines laid down by Belgium and the European Union (“Arrêté Royal relatif à la protection des animaux d’expérience” released on 23 May 2013 and “Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes”).

8.2.2. Drugs

Cocaine hydrochloride (7.5 and 15.0 mg/kg) was purchased from VWR International (Belgopia, Louvain-La-Neuve, Belgium). Cocaine was diluted in a saline solution (0.9% NaCl) to obtain a volume of 0.01 ml/g to be administered by intraperitoneal route (i.p.). Control groups received an equivalent volume of saline solution (0.9% NaCl) by the same route.

8.2.3. Apparatus

8.2.3.1. Open field

Locomotor activity was recorded in two white open fields (0.8×0.8 m) trays each divided into four compartments (0.4×0.4 m). A camera placed above each tray recorded mouse behaviors in the different compartments. Data were automatically recorded on a computer. Mouse behaviors were analyzed using a videotracking system (View point, Lyon, France). The locomotor activity was expressed as the horizontal distance travelled in cm.

8.2.3.2. Fear conditioning chambers

Fear conditioning was performed in two plexiglass boxes of 62.5 cm long, 40 cm wide and 42 cm high (MED Associates Inc., St. Albans, VT, USA, ENV-307W-TH). A loudspeaker that could produce sounds up to 100 dB was present in each room. Each room had a light bulb which diffused a white light. In its lower part, each chamber comprised a removable part made of 23 metal bars of 3 mm in diameter separated from each other by a distance of 8 mm. This metal grid allowed to automatically record locomotor activity and to produce an electric shock. Conditioning chambers were used to mimic the traumatic event of the PTSD with the electric footshock and to assess the conditioned fear. They were also used to assess the sensitized fear in a new context. In order to create this new context, a structure having the form of roofing and reducing the chamber light was used together with a new odor of soap. Sensitized fear and conditioned fear were used to mimic, respectively, the hyperarousal and the intrusion clusters of the PTSD. Before each session, chambers were wiped with a different product according to the experimental phase: chloroxylénol 4.8% twenty fold diluted for the context of the electric shock, or with soap for the new context.

8.2.3.3. Elevated plus maze (EPM)

An EPM was used to assess anxiety-like behaviors to mimic the avoidance cluster of the PTSD. It was a cross-shaped device with four arms, two open and two closed. The arms were 30 cm long and 5 cm wide and were located 80 cm above the ground. The edges of the closed arms were 15 cm high whereas the edges of the open arms were 2.5 cm high. Mouse behaviors were recorded by a camera for later analysis.

8.2.3.4. The black and white box test

The light and dark test or black and white box (BWB) test was also used to assess anxiety-like behaviors to mimic the avoidance cluster of the PTSD. It consisted of one white chamber, which was illuminated, and one small dark chamber, which was not illuminated. The two chambers were connected by a small opening. At the start of a session, mice were placed in the center of the white box facing the opening of the black box. Mouse behaviors were recorded by a camera for later analysis.

8.2.4. Procedures

8.2.4.1. Cocaine-induced locomotor sensitization

The mice were housed in pairs 7 days before the start of the locomotor sensitization protocol. The 1st day after this period of acclimation, the procedure started with a habituation session during which all mice were i.p. injected with saline and immediately placed for 20 min in the open fields. Depending on the experiment, mice were then randomly assigned to two (experiment 1) or three groups (experiment 2) according to the cocaine dose used for the sensitization procedure (0 mg/kg, i.e. saline, 7.5 mg/kg or 15.0 mg/kg). During the sensitization procedure, mice were daily injected with their assigned cocaine dose (or saline) for 8 days and their locomotor activity was recorded for the first 20 min after the injection. The first sensitization session was also used to assess the acute stimulant effects of cocaine. Two days after the last sensitization session, mice were submitted to a 20 min challenge test session. In the first experiment, in order to test for between-groups cocaine sensitization, both the cocaine group and the control group were injected with 15.0 mg/kg cocaine on

the challenge test. On the challenge test session, mice from the second experiment received the same dose (7.5 mg/kg or 15.0 mg/kg) as during the sensitization procedure, including saline for the control group. This latter procedure was adopted in order to keep the control group “cocaine free” before the induction of PTSDLC.

8.2.4.2. PTSD-like clusters

The protocol used by Siegmund and Wotjak [18,19,25] was used to induce PTSDLC.

8.2.4.2.1. Electric footshock

Briefly, mice were single housed 7 days before the conditioned fear procedure. On the first day of the procedure, the mice were placed into the fear conditioning box for a total duration of 260 s. Each session began with the illumination of the cage. After 198 s, the mice received an inescapable electric footshock of 1.5 mA during 2 s. The mice remained 60 s in the cage before being directly returned to their home cages. The control groups underwent the same procedure without receiving the electric shock. The fear behavior in mice was automatically recorded by the percentage time spent freezing before and after the electric shock. Freezing is defined by the cessation of any activity other than respiratory movements.

8.2.4.2.2. Sensitized fear

Twenty-eight days after the inescapable footshock, mice were tested for fear generalization in a new context. Each session began with the illumination of the cage. After 180 s, a neutral sound of 80 db and of 9 kHz sine wave resounded in the cage for 180 s in order to test the generalization of sensitized fear to a new stimulus. At the end of the sound, mice remained 60 s in the cage before being directly returned to their home cages. The percentage time spent freezing before and during the emission of the neutral sound was recorded.

8.2.4.2.3. Conditioned fear

Twenty-nine days after the inescapable footshock, mice were tested for their conditioned fear in the same context where they received the electric shock. Each session began with the illumination of the cage. The mice remained for 180 s in this context without receiving an electric shock. Then they returned to their home cages. The percentage time spent freezing during the 180 s was recorded.

8.2.4.2.4. Anxiety-like behaviors

The anxiety-like behaviors were assessed with the EPM and the BWB respectively 35 and 41 days after the footshock. On the EPM, mice were placed into the center of the maze at the intersection of the open and closed arms. All mice were positioned muzzle pointing towards the same open arm. Each session was recorded by a videocamera and lasted 5 min.

In the BWB, the mice were placed into the center of the white box, muzzle directed towards the opening of the black box. Each session was recorded by a videocamera and lasted 10 min. Videotapes were later scored by a trained observer blind to the experimental treatment. The time spent in the open arms of the EPM and in the white compartment of the BWB, the time spent before the first entry (latency) into an arm of the EPM and into the black compartment of the BWB, and the total number of entries into the arms of the EPM and in the black compartment of the BWB were recorded for each mouse. An arm entry in the EPM or a compartment entry in the BWB was recorded when a mouse had all four paws in the arm or the compartment.

8.2.4.3. Experiment 1 procedure: PTSDLC before cocaine locomotor sensitization

Mice ($n = 80$) were randomly assigned to two groups of 40. The first group was submitted to an electric footshock, whereas the second group (control group) underwent the same procedure without the footshock (Fig. 1). After the footshock session, half ($n = 20$) of the shocked mice and half ($n = 20$) of the non-shocked mice followed to the PTSDLC protocol described above, whereas the second half ($n = 20$) of the shocked mice and half ($n = 20$) of the non-shocked mice were only submitted to the conditioned fear test in order to keep a group with minimal handling. The cocaine sensitization procedure started 49 days after the footshock. After the habituation session of the sensitization procedure, each of the four groups (high handling and shock, low handling and shock, high handling

without shock and low handling without shock) was subdivided into two subgroups receiving either saline or 15.0 mg/kg cocaine. Mice were then injected with their respective treatment for the duration of the sensitization procedure (day 50–57). On the challenge test (day 59), in order to test for between-groups cocaine sensitization, all mice were injected with 15.0 mg/kg cocaine.

8.2.4.4. Experiment 2 procedure: Cocaine locomotor sensitization before PTSDLC

After the habituation session, the mice ($n = 80$) were divided into three groups receiving cocaine 7.5 mg/kg ($n=26$), cocaine 15.0 mg/kg ($n=28$) or saline ($n=26$). The mice underwent the cocaine locomotor sensitization procedure as described above (Fig. 2). On the challenge test session, mice received the same injection as during the sensitization procedure with saline solution for the control group. Then, each group of mice was subdivided into two subgroups, with half of the mice receiving an electric footshock and the other half serving as controls. The mice underwent the PTSDLC as described above.

8.2.5. Statistical analyses

8.2.5.1. Experiment 1: PTSDLC before cocaine locomotor sensitization

For the conditioned fear procedure, the differences in the mean percentage freezing times between the two groups (shocked and non-shocked mice) were tested with independent Student *t*-tests before the shock, after the shock, before the neutral sound and during the neutral sound. For conditioned fear, freezing times between groups were compared with a factorial two-way ANOVA using shock treatment (shock vs. non-shock) and handling (high vs. low) as independent variables. For the EPM, independent Student *t*-tests were used to compare the two groups (shocked and non-shocked mice) for the time spent in the open arms of the EPM, the latency before the first entry into an arm and the total number of entries into the arms. For the BWB, shocked and non-shocked mice were compared for the latency before the first entry into the black compartment, the time spent in the white compartment and the total number of entries into the black compartment by independent Student *t*-tests.

For the habituation session before the sensitization procedure, the mean locomotor activities of mice were compared using a factorial two-way ANOVA using shock treatment (shock vs. non-shock) and handling (high vs. low) as independent variables. A three-way ANOVA [cocaine dose (15.0 mg/kg vs. saline) x shock treatment (shock vs. non-shock) x handling (high vs. low)] was performed to test for the acute effects of cocaine on locomotor activity. To test for intra-subject cocaine sensitization, scores of differences (delta scores) were computed for each mice between the locomotor score on the 8th cocaine injection and the locomotor score on the first cocaine injection. Mean delta scores were then analyzed with a factorial three-way ANOVA using cocaine dose (15.0 mg/kg vs. saline), shock treatment (shock vs. non-shock) and handling (high vs. low) as independent variables. Additionally, mean locomotor activity after the 8th cocaine injection (sensitized locomotor scores) was analyzed with a factorial three-way ANOVA using cocaine dose (15.0 mg/kg vs. saline), shock treatment (shock vs. non-shock) and handling (high vs. low) as independent variables. In order to test for between-groups cocaine sensitization, mean locomotor activity on the challenge test was analyzed with a three-way ANOVA using shock treatment (shock vs. non-shock), handling (high vs. low) and chronic drug treatment (saline vs cocaine) as independent variables.

8.2.5.2. Experiment 2. Cocaine locomotor sensitization before PTSDLC

One-way ANOVAs were computed to test for differences in the mean locomotor activity of the cocaine groups (15.0 mg vs. 7.5 mg vs. saline) on the habituation session (day 0), on the acute session (day 1) and on the challenge test session (day 10). Additionally, to test for intra-subject cocaine sensitization, delta scores were calculated as the difference between the mean locomotor scores from the challenge test session and from the acute session. Delta scores were then analyzed with a one-way ANOVA to test for differences between groups.

For the conditioned fear procedure, the EPM and the BWB, results were analyzed with factorial two-way ANOVAs using shock treatment (shock vs. non-shock) and cocaine dose (7.5 mg/kg, 15.0 mg/kg or saline) as independent variables.

Where necessary logarithmic or square root transformations were used to meet the homoscedasticity assumption. Newman-Keuls post-hoc tests were performed to test for significant means differences either on the main effect or on the interaction, depending on which one was statistically significant.

8.3. Results

8.3.1. Experiment 1: PTSDLC before cocaine locomotor sensitization

On the shock session, mice were only divided in two groups with (PTSDLC group) or without (control group) the electric foot shock. Before the electric shock, the two groups showed similar levels of freezing ($t = 0.3$, $df = 78$, $p = 0.79$, $\eta^2 < 0.01$; Fig. 3A). After the electric shock, the shocked mice showed higher levels of freezing than non-shocked mice ($t = 7.7$, $df = 78$, $p < 0.000001$, $\eta^2 = 0.43$; Fig. 3B).

In the new context, 28 days after the electric shock, before the emission of the neutral tone, shocked mice showed higher levels of freezing than the non-shocked mice ($t = 5.8$, $df = 37$, $p = 0.000001$, $\eta^2 = 0.48$; Fig. 3C). During the emission of the neutral tone, the shocked mice also showed higher levels of freezing than the non-shocked mice ($t = 3.6$, $df = 37$, $p = 0.001$, $\eta^2 = 0.25$; Fig. 3D).

Mice were divided in four groups during the conditioned fear test, as this was the only test of the PTSDLC manipulation for the low handling groups (Fig. 3E). The two-way ANOVA (shock x handling) revealed a significant interaction ($F(1,75) = 4.6$, $p = 0.035$, $\eta^2 = 0.06$), a main effect of shock ($F(1,75) = 72.8$, $p < 0.000001$, $\eta^2 = 0.49$) and a main effect of handling ($F(1,75) = 5.2$, $p = 0.026$, $\eta^2 = 0.06$). The Student-Newman-Keuls post-hoc tests computed on the interaction showed higher levels of freezing in shocked mice relative to non-shocked mice (all $p < 0.001$). Furthermore, the shocked mice of the low handling group showed significantly higher levels of freezing than the shocked mice of the high handling group ($p = 0.0027$), but this difference between handling groups was not statistically significant for control non-shocked mice ($p = 0.93$).

In the EPM (data not shown), shocked and non-shocked mice did not significantly differ in the time latency to enter into an arm ($t = 1.3$, $df = 36$, $p = 0.21$, $\eta^2 = 0.04$), in the mean number of arm entries ($t = -0.7$, $df = 36$, $p = 0.48$, $\eta^2 = 0.01$) and in the time spent in the open arms ($t = 0.6$, $df = 36$, $p = 0.54$, $\eta^2 = 0.01$). In the BWB (data not shown), there was no significant difference between shocked and non-shocked mice in the latency to enter the black compartment ($t = 1.9$, $df = 37$, $p = 0.06$, $\eta^2 = 0.09$),

in the mean number of compartment crosses ($t = 0.7$, $df = 37$, $p = 0.49$, $\eta^2 = 0.01$) and in the mean time spent in the white box ($t = 1.2$, $df = 37$, $p = 0.22$, $\eta^2 = 0.04$).

Locomotor activity during the habituation session of the sensitization procedure was not affected by either the shock or the level of handling (data not shown). The two-way ANOVA (shock x manipulation) showed no statistically significant effect for either the main effect of the shock ($F(1,76) = 0.5$, $p = 0.48$, $\eta^2 < 0.01$), the main effect of the levels of manipulation ($F(1,76) = 1.0$, $p = 0.33$, $\eta^2 = 0.01$) or the interaction ($F(1,76) = 1.0$, $p = 0.32$, $\eta^2 = 0.01$).

On the next day, during the acute session, the three-way ANOVA (drug treatment x handling x shock) revealed a main effect of the cocaine treatment ($F(1,72) = 50.1$, $p < 0.000001$, $\eta^2 = 0.41$; Fig. 4A for the high handling group and 4E for the low handling group). The Student-Newman-Keuls post-hoc tests on this main effect confirmed that cocaine mice displayed higher levels of activity than saline control mice. There were no significant main effect for the shock ($F(1,72) = 0.1$, $p = 0.72$, $\eta^2 < 0.01$), for the levels of handling ($F(1,72) = 1.3$, $p = 0.25$, $\eta^2 = 0.02$) and no significant interaction (all $p > 0.05$ for the four interactions).

On the 8th day of the sensitization procedure, a three-way ANOVA (drug treatment x handling x shock) was computed on the mean locomotor activity of the mice. There was a significant main effect of the drug treatment ($F(1,72) = 113.1$, $p < 0.000001$, $\eta^2 = 0.61$; Fig. 4B and 4F) with higher levels of locomotor activity in mice repeatedly injected with cocaine. In contrast, there was no significant main effect for either the shock ($F(1,72) = 0.58$, $p = 0.45$, $\eta^2 < 0.01$) or the levels of handling ($F(1,72) = 0.58$, $p = 0.45$, $\eta^2 < 0.01$) and no significant interaction (all $p > 0.05$ for the four interactions).

A three-way ANOVA was computed on the delta scores, i.e. the difference scores of the locomotor activity between the 8th and first day of cocaine injection (D8-D1; Fig. 4C and 4G). For the delta scores, there was a significant main effect of the drug treatment ($F(1,72) = 32.9$, $p < 0.000001$, $\eta^2 = 0.31$), indicative of higher levels of activity after the 8th cocaine injection relative to the first cocaine injection. In contrast, there was no significant main effect for either the shock ($F(1,72) = 0.2$, $p = 0.65$, $\eta^2 < 0.01$) or the levels of handling ($F(1,72) = 1.4$, $p = 0.24$, $\eta^2 = 0.02$) and no significant interaction (all $p > 0.05$ for the four interactions).

Finally, the sensitized locomotor activity was tested on the challenge test session for all mice (Fig. 4D and 4H). The three-way ANOVA revealed a significant main effect of the drug treatment ($F(1,72) =$

20.6, $p = 0.000022$, $\eta^2 = 0.22$), no significant main effect of the shock ($F(1,72) = 0.4$, $p = 0.53$, $\eta^2 < 0.01$) or the levels of handling ($F(1,72) = 0.2$, $p = 0.68$, $\eta^2 < 0.01$) and no significant interaction (all $p > 0.05$ for the four interactions).

8.3.2. Experiment 2. Locomotor sensitization before PTSDLC

On the habituation session, there was no significant difference in the mean basal locomotor activity of the three groups as demonstrated by the one-way ANOVA ($F(2,77) = 2.84$, $p = 0.064$, $\eta^2 = 0.07$; Fig. 5A).

As shown on figure 5B, acute cocaine induced significant increases in the mean locomotor activity. The one-way ANOVA computed on mice locomotor activity during the acute session showed a significant effect of the drug treatment ($F(2,77) = 36.6$, $p < 0.000001$, $\eta^2 = 0.49$). The post-hoc tests indicated that both cocaine groups had higher levels of activity relative to the saline control group (all $p < 0.001$), while they did not significantly differ from each other ($p = 0.13$). The effect of cocaine was strengthened on the challenge test with a significant effect of the drug treatment on the mean locomotor activity ($F(2,77) = 51.8$, $p < 0.000001$, $\eta^2 = 0.57$; Fig. 5C) and on the delta scores ($F(2,77) = 10.8$, $p = 0.000071$, $\eta^2 = 0.22$; Fig. 5D). Post-hoc analyses of the delta scores showed that locomotor activity similarly increased with repeated injections of both cocaine doses, whereas there was no significant increase in the control group.

In the fear conditioning test, the one-way ANOVA showed no significant effect of the drug treatment on freezing before the electric footshock ($F(2,76) = 0.1$, $p = 0.87$, $\eta^2 < 0.01$; data not shown). After the electric footshock, a two-way ANOVA (shock x cocaine treatment) revealed a significant main effect of the shock ($F(1,73) = 19.4$, $p = 0.000035$, $\eta^2 = 0.21$) with higher levels of freezing in shocked mice relative to non-shocked mice (Fig. 6A). However, there was no significant main effect of the drug treatment ($F(2,73) = 0.5$, $p = 0.59$, $\eta^2 = 0.01$) and no significant interaction ($F(2,73) = 1.1$, $p = 0.32$, $\eta^2 = 0.03$).

Sensitized fear was also tested in a new context 28 days after the electric footshock (Fig. 6B). Before the emission of a neutral tone, the two-way ANOVA (shock x drug treatment) revealed a significant main effect of shock ($F(1,72) = 48.1$, $p < 0.000001$, $\eta^2 = 0.4$), a significant main effect of the drug

treatment ($F(2,72) = 3.9$, $P = 0.025$, $\eta^2 = 0.1$), but no significant interaction ($F(2,72) = 0.4$, $p = 0.68$, $\eta^2 = 0.01$). As shown on figure 6B, all groups of shocked mice had significantly higher levels of freezing than their non-shocked control groups. With respect to the drug treatment, the Student-Newman-Keuls post-hoc tests indicate that mice from both cocaine groups had higher (all $p < 0.05$) mean levels of freezing than the saline control group irrespective of the shock administration. During the emission of the neutral tone, only the main effect of the shock was statistically significant ($F(1,72) = 16.7$, $p = 0.00011$, $\eta^2 = 0.19$; Fig. 6C), while there was no significant effect of the drug treatment ($F(2,72) = 2.0$, $p = 0.15$, $\eta^2 = 0.05$) and no significant interaction ($F(2,72) < 0.1$, $p = 0.95$, $\eta^2 < 0.01$). As shown on figure 6C, the shocked mice showed higher levels of freezing than the non-shocked mice.

When mice were tested for conditioned fear (Fig. 6D), freezing behaviors were affected by both the shock and the drug treatment. There was a significant main effect of the shock ($F(1,72) = 50.6$, $p < 0.000001$, $\eta^2 = 0.41$), a significant main effect of the drug treatment ($F(2,72) = 3.7$, $p = 0.03$, $\eta^2 = 0.09$), but no significant interaction ($F(2,72) = 0.3$, $P = 0.74$, $\eta^2 < 0.01$). The Student-Newman-Keuls post-hoc tests indicate higher levels of freezing in shocked mice relative to non-shocked mice. With respect to the drug treatment, mice injected with 7.5 mg/kg cocaine showed higher levels of freezing relative to the saline control group, irrespective of the shock administration ($p = 0.025$). Mice injected with 15 mg/kg cocaine showed a similar pattern of results although it failed to reach statistical significance ($p = 0.056$).

Mice were tested in the EPM 35 days after the footshock. For the latency before the first entry into an arm, there was only a significant main effect of the drug treatment ($F(2,72) = 3.5$, $p = 0.036$, $\eta^2 = 0.09$; Fig. 6E). This main effect was due to a reduced mean latency in mice treated with 15.0 mg/kg cocaine relative to the saline control group ($p = 0.029$). For the mean number of arms entries (data not shown), only the interaction was statistically significant ($F(2,72) = 3.2$, $p = 0.045$, $\eta^2 = 0.08$), although the post-hoc tests computed on the interaction failed to reveal significant differences between groups. For the time spent in the open arms (Fig. 6F), the two-way ANOVA found a significant main effect of the shock ($F(1,72) = 7.0$, $p = 0.010$, $\eta^2 = 0.09$), whereas there was no significant main effect of the drug treatment ($F(2,72) = 2.1$, $p = 0.13$, $\eta^2 = 0.06$) and no significant interaction ($F(2,72) < 0.1$, $P = 0.98$, $\eta^2 < 0.01$). As shown on figure 6F, shocked mice on average spent more time in the open arms than non-shocked mice.

Finally, mice were tested in the BWB 40 days after the footshock (data not shown). Statistical analyses failed to show significant main effects or interactions for any of the recorded measures.

8.4. Discussion

The first aim of the present study was to assess whether PTSDLC modulates the acquisition and/or expression of cocaine-induced locomotor sensitization and incidentally if the levels of mice handling interfere with the expression of PTSDLC and its interaction with the effects of cocaine. The results showed that PTSDLC does not modulate cocaine-induced locomotor sensitization. Not only were the main effects and interactions with shock statistically non-significant but the effect sizes for these effects were all extremely low ($\eta^2 < 0.01$ for most of these effects). The results also showed that high levels of mice handling reduced the expression of conditioned fear, one of the PTSDLC cluster. However, the levels of handling did not interfere with the acquisition or expression of cocaine-induced locomotor sensitization.

Several published studies report that stress enhances the acute stimulant effects of cocaine in rodents [e.g. Quadros et Miczek, 2009]. Other studies show a cross-sensitization between acute or repetitive stress and the acute effects of several drugs of abuse [Pastor et al., 2012]. On that basis, it might have been expected that PTSDLC would increase the acute effects of cocaine in the present study. However, the present results failed to show any significant effect of the shock on the acute stimulant effects of cocaine. A major difference between the present experiment and those previously published studies lies in the imposition of a stress incubation period to mimic the effects of PTSD in humans in the present study. When a stress incubation period is similarly applied, previous PTSDLC studies report mixed results on the acute stimulant effects of drugs. For example, PTSDLC did not increase the acute effect of methamphetamine [Eagle et Perrine, 2013] or ethanol [Matonda et al., 2019]. In contrast, Eagle and Perrine (2015) found that a single prolonged stress reduced the acute effect of cocaine on locomotor activity. Further studies will be required to confirm that the duration of the stress incubation period is accountable for such discrepancies.

The results of the present study show that PTSDLC did not modulate the later acquisition or expression of cocaine-induced locomotor sensitization. In contrast, Eagle et al. [Eagle et al., 2015] concluded that PTSDLC enhances the expression of cocaine-induced locomotor sensitization. In that

study however, the enhancement of cocaine-induced locomotor sensitization was only observed on delta scores, whereas there were no significant differences between groups in the sensitized locomotor activity on the last cocaine session. The reported effect on delta scores was mainly due to a reduced acute response to the first cocaine injection relative to control non-stressed mice. It is therefore tricky to properly interpret these results in terms of sensitization processes. Finally, it seems that the effects of PTSDLC on drug-induced locomotor sensitization occur only in specific conditions. In two previous studies, non-stressed rodents failed to be sensitized at a sensitizing dose of alcohol and methamphetamine, whereas stressed rodent showed a significant locomotor sensitization [Matonda et al., 2019; Eagle et Perrine, 2013]. In the study from Eagle and Perrine (2013), the authors suggested that sensitized locomotor activity to methamphetamine in non-stressed rats might have been hidden by a higher level of stereotypies, which is another expression of a strong neural sensitization (Robinson et Berridge, 2008). In our previous study with ethanol [Matonda et al., 2019], we suggested that non-stressed mice did not sensitize to ethanol because the repeated handling and testing of mice needed by the PTSDLC experimental protocol had impaired the subsequent development and/or expression of ethanol-induced locomotor sensitization. Indeed, repeated handling of mice was shown to prevent ethanol-induced locomotor sensitization (Didone et al., 2008), an effect which might then be restored by the stress administration in the PTSDLC experimental protocol. In agreement with this idea, Covington and Miczek (2005) demonstrated that stress prevents the effects of handling. In such an explanation, PTSDLC would modulate drug-induced locomotor sensitization indirectly through its negative impact on some “protective factors” against the development or expression of drug sensitization.

In the present study, another control group was added to test for the repeated handling of mice. This group of mice was submitted to the electric shock, but only one PTSDLC cluster was tested in order to reduce the level of handling and testing of the mice before the cocaine sensitization protocol. The results confirmed that repeated handling had a significant effect, as mice with reduced handling expressed a higher level of conditioned fear. These results are in agreement with those of previous studies showing that handling of rats reduced their expression of conditioned fear (Couto-Pereira et al., 2019; Madruga et al., 2006). They also have implications for future studies with animal models of PTSD as they indicate that the multiplication of handling and testing might prevent the full development of PTSDLC symptoms in rodents. As repeated handling was also shown to reduce the release of dopamine in the nucleus accumbens (Madruga et al., 2006), it might also interfere with

drug-induced locomotor sensitization. In a previous study, extensive pre-exposition to the test context was shown to prevent locomotor sensitization to ethanol, but not to cocaine (Didone et al., 2016a). In agreement with those results, the present study showed that repeated handling did not significantly alter the development and expression of cocaine-induced locomotor sensitization.

Finally, the last goal of the present study was to test whether the prior development of cocaine sensitization would modulate the later expression of PTSDLC symptoms. In order to do so, the order of the experimental procedures were reversed in experiment 2 relative to experiment 1, with cocaine sensitization preceding the PTSDLC induction. Our results indicate that cocaine-induced locomotor sensitization did not significantly interact with the subsequent development and expression of PTSDLC. However, repeated cocaine administration increased the levels of freezing in all groups, including the control non-shocked mice. In the PTSDLC group, this effect added to the effects of the electric shock to produce the highest levels of freezing. More specifically, the present results indicate that the procedure of cocaine-induced locomotor sensitization elicited sensitized fear in mice. This conclusion is further supported by the reduced time latency for the first entry in an arm of the EPM, a measure interpreted by Lisieski and Perrine (2017), who obtained the same results, as expressing hyperarousal.

Regarding the relationships between cocaine sensitization and PTSD, the results of the second experiment therefore show an additive effect between cocaine administration and stress rather than an interactive effect. However, the resulting effect in the mice of the PTSDLC group is that cocaine sensitization worsened the expression of sensitized fear in an environment not associated with the electric shock (figure 6 B and C). These results are similar with those of a previous study on the relationships between ethanol-induced locomotor sensitization and PTSDLC. Indeed, in our previous study, it was found out that ethanol-induced locomotor sensitization worsened sensitized fear in stressed mice [Matonda et al., 2019]. Regarding the expression of conditioned fear in the environment associated with the electric shock, mice of the PTSDLC group also showed higher levels of freezing when previously sensitized with cocaine. However, in non-shocked mice, prior cocaine sensitization similarly increased the levels of freezing, which is indicative of sensitized fear rather than conditioned fear since this environment was not associated with an electric shock for these mice. Two doses of cocaine were tested in the second experiment on the basis of a previous study showing that cocaine modulates conditioned fear in a dose-dependent manner [Wood et al., 2007]. In that study, a low

cocaine dose (0.1 mg/kg) enhanced conditioned fear, whereas moderate cocaine doses (5 and 15 mg/kg) reduced conditioned fear. In the present study, we did not find similar dose-dependent effects. The effect of cocaine on conditioned fear was statistically significant with 7.5 mg/kg cocaine. With 15 mg/kg cocaine, this effect was quite similar (see figure 6D), although it was only close to statistical significance. However, the study from Wood et al. (2007) tested the acute effects of cocaine and not the effects of repeated cocaine administrations as in the present study.

In conclusion, the present study was designed to assess the bidirectional relationship between cocaine-induced locomotor sensitization and PTSDLC in mice. On one hand, the results showed that PTSDLC did not modulate the later acquisition or expression of cocaine-induced locomotor sensitization. Nevertheless, together with the results of previously published studies, they indicate that PTSDLC might modulate cocaine-induced locomotor sensitization indirectly, through the interaction with protective factors. On the other hand, the present study showed that cocaine-induced locomotor sensitization led to increased sensitized fear in mice, as expressed by higher levels of freezing behaviors. In PTSDLC mice, such an effect adds to the effects of the electric shock to produce the highest levels of freezing. Therefore, a prior chronic use of cocaine might be expected to worsen the expression of some PTSD symptoms following a traumatic event, although further studies in humans are required to confirm such a conclusion.

References

1. Hughes A, Williams MR, Lipari RN, Van Horn S. State estimates of past year cocaine use among young adults: 2014 and 2015. The CBHSQ Report: December 20, 2016. Center for Behavioural Health Statistics and Quality, Substance Abuse and Mental Health Services Administration, Rockville, MD.
2. Dworkin ER, Wanklyn S, Stasiewicz PR, Coffey SF. PTSD symptom presentation among people with alcohol and drug use disorders: Comparisons by substance of abuse. *Addict Behav.* 2018;76:188-194. doi: 10.1016/j.addbeh.2017.08.019.
3. Ruglass LM, Shevorykin A, Brezing C, Hu MC, Hien DA. Demographic and clinical characteristics of treatment seeking women with full and subthreshold PTSD and concurrent cannabis and cocaine use disorders. *J Subst Abuse Treat.* 2017;80:45-51. doi: 10.1016/j.jsat.2017.06.007.
4. Saunders EC, Lambert-Harris C, McGovern MP, Meier A, Xie H. The Prevalence of Posttraumatic Stress Disorder Symptoms among Addiction Treatment Patients with Cocaine Use Disorders. *J Psychoactive Drugs.* 2015;47(1):42-50. doi: 10.1080/02791072.2014.977501.

5. Gilpin NW, Weiner JL. Neurobiology of comorbid post-traumatic stress disorder and alcohol-use disorder. *Genes Brain Behav.* 2017;16(1):15-43. doi: 10.1111/gbb.12349.
6. Hofford RS, Prendergast MA, Bardo MT. Modified single prolonged stress reduces cocaine self-administration during acquisition regardless of rearing environment. *Behav Brain Res.* 2018;338:143-152. doi: 10.1016/j.bbr.2017.10.023.
7. Taylor SB, Watterson LR, Kufahl PR, Nemirovsky NE, Tomek SE, Conrad CD, Olive MF. Chronic variable stress and intravenous methamphetamine self-administration - Role of individual differences in behavioral and physiological reactivity to novelty. *Neuropharmacology.* 2016;108:353-63. doi: 10.1016/j.neuropharm.2016.05.003.
8. Meyer EM, Long V, Fanselow MS, Spigelman I. Stress increases voluntary alcohol intake but does not alter established drinking habits in a rat model of post-traumatic stress disorder. *Alcohol Clin Exp Res.* 2013; 37(4): 566–574. doi: 10.1111/acer.12012.
9. Covington HE 3rd, Miczek KA. Intense cocaine self-administration after episodic social defeat stress, but not after aggressive behavior: dissociation from corticosterone activation. *Psychopharmacology (Berl).* 2005;183(3):331-40.
10. Anderson EM, Larson EB, Guzman D, Wissman AM, Neve RL, Nestler EJ, Self DW. Overexpression of the Histone Dimethyltransferase G9a in Nucleus Accumbens Shell Increases Cocaine Self-Administration, Stress-Induced Reinstatement, and Anxiety. *J Neurosci.* 2018;38(4):803-813. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1657-17.2017.
11. Eagle AL, Singh R, Kohler RJ, Friedman AL, Liebowitz CP, Galloway MP, Enman NM, Jutkiewicz EM, Perrine SA. Single prolonged stress effects on sensitization to cocaine and cocaine self-administration in rats. *Behav Brain Res.* 2015;284:218-24. doi: 10.1016/j.bbr.2015.02.027.
12. Eagle AL, Perrine SA. Methamphetamine-induced behavioural sensitization in a rodent model of posttraumatic stress disorder. *Drug Alcohol Depend.* 2013;131(1-2):36-43. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2013.04.001.
13. Quadros IM, Miczek KA. Two modes of intense cocaine bingeing: increased persistence after social defeat stress and increased rate of intake due to extended access conditions in rats. *Psychopharmacology (Berl).* 2009;206(1):109-20. doi: 10.1007/s00213-009-1584-6.
14. Matonda-Ma-Nzuzi T, Didone V, Seutin V, Tirelli E, Quertemont E. Investigating the reciprocal relationships between locomotor sensitization to ethanol and PTSD-like clusters in DBA/2J mice. *Behav Brain Res.* 2019;368:111909. doi: 10.1016/j.bbr.2019.111909.

15. Lisieski MJ, Perrine SA. Binge-pattern cocaine administration causes long-lasting behavioural hyperarousal but does not enhance vulnerability to single prolonged stress in rats. *Psychiatry Res.* 2017;257:95-101. doi: 10.1016/j.psychres.2017.07.026.
16. Pastor R, Reed C, Meyer PJ, McKinnon C, Ryabinin AE, Phillips TJ. Role of corticotropin-releasing factor and corticosterone in behavioural sensitization to ethanol. *J Pharmacol Exp Ther.* 2012;341(2):455-63. doi: 10.1124/jpet.111.190595.
17. Matchynski-Franks JJ, Susick LL, Schneider BL, Perrine SA, Conti AC. Impaired Ethanol-Induced Sensitization and Decreased Cannabinoid Receptor-1 in a Model of Posttraumatic Stress Disorder. *PLoS One.* 2016;11(5):e0155759. doi: 10.1371/journal.pone.0155759.
18. Eagle AL, Perrine SA. Methamphetamine-induced behavioral sensitization in a rodent model of posttraumatic stress disorder. *Drug Alcohol Depend.* 2013;131(1-2):36-43. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2013.04.001.
19. Maeda T, Yoshimatsu T, Hamabe W, Fukazawa Y, Kumamoto K, Ozaki M, Kishioka S. Involvement of serine/threonine protein phosphatases sensitive to okadaic acid in restraint stress-induced hyperlocomotion in cocaine-sensitized mice. *Br J Pharmacol.* 2006;148(4):405-12.
20. Brodnik ZD, Black EM, Clark MJ, Kornsey KN, Snyder NW, España RA. Susceptibility to traumatic stress sensitizes the dopaminergic response to cocaine and increases motivation for cocaine. *Neuropharmacology.* 2017;125:295-307. doi: 10.1016/j.neuropharm.2017.07.032.
21. Yap JJ1, Chartoff EH, Holly EN, Potter DN, Carlezon WA Jr, Miczek KA. Social defeat stress-induced sensitization and escalated cocaine self-administration: the role of ERK signaling in the rat ventral tegmental area. *Psychopharmacology (Berl).* 2015;232(9):1555-69. doi: 10.1007/s00213-014-3796-7.
22. Gulick D, Gould TJ. Acute ethanol has biphasic effects on short- and long-term memory in both foreground and background contextual fear conditioning in C57BL/6 mice. *Alcohol Clin Exp Res.* 2007;31(9):1528-37.
23. Robinson TE, Berridge KC. The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Res Brain Res Rev.* 1993;18(3):247-91
24. Didone V, Quoilin C, Dieupart J, Tirelli E, Quertemont E. Differential effects of context on psychomotor sensitization to ethanol and cocaine. *Behav Pharmacol.* 2016;27(2-3 Spec Issue):173-81. doi: 10.1097/FBP.0000000000000161.
25. American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th ed. Arlington (Virginia), American Psychiatric Publishing, 2013.

26. Najavits LM, Gastfriend DR, Barber JP, Reif S, Muenz LR, Blaine J, Frank A, Crits-Christoph P, Thase M, Weiss RD. Cocaine dependence with and without PTSD among subjects in the National Institute on Drug Abuse Collaborative Cocaine Treatment Study. *Am J Psychiatry*. 1998;155(2):214-9.
27. Wood SC, Fay J, Sage JR, Anagnostaras SG. Cocaine and Pavlovian fear conditioning: dose-effect analysis. *Behav Brain Res*. 2007;176(2):244-50.
28. Corcoran S, Norrholm SD, Cuthbert B, Sternberg M, Hollis J, Duncan E. Acoustic startle reduction in cocaine dependence persists for 1 year of abstinence. *Psychopharmacology (Berl)*. 2011;215(1):93-103. doi: 10.1007/s00213-010-2114-2.
29. Efferen TR, Duncan EJ, Szilagyi S, Chakravorty S, Adams JU, Gonzenbach S, Angrist B, Butler PD, Rotrosen J. Diminished Acoustic Startle in Chronic Cocaine Users. *Neuropsychopharmacology*. 2000;22(1):89-96. doi: 10.1016/S0893-133X(99)00089-5.
30. Adams JU, Efferen TR, Duncan EJ, Rotrosen J. Prepulse inhibition of the acoustic startle response in cocaine-withdrawn rats. *Pharmacol Biochem Behav*. 2001;68(4):753-9. doi: 10.1016/s0091-3057(01)00478-6.
31. Gordon MK, Rosen JB. Lasting effect of repeated cocaine administration on acoustic and fear-potentiated startle in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 1999;144(1):1-7. doi: 10.1007/s002130050970.

Figures

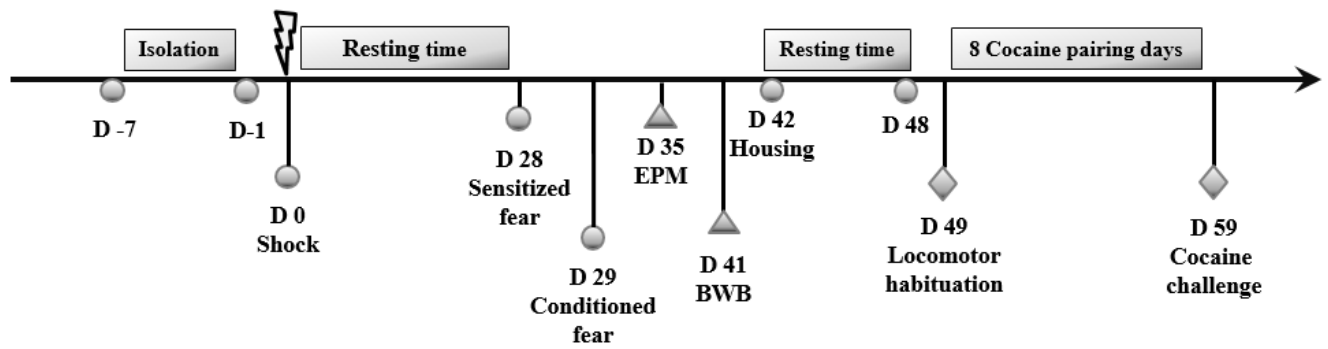


Figure 8.1. Schedule of experiment 1. D=day. EPM=Elevated plus maze. BWB=Black and white box.

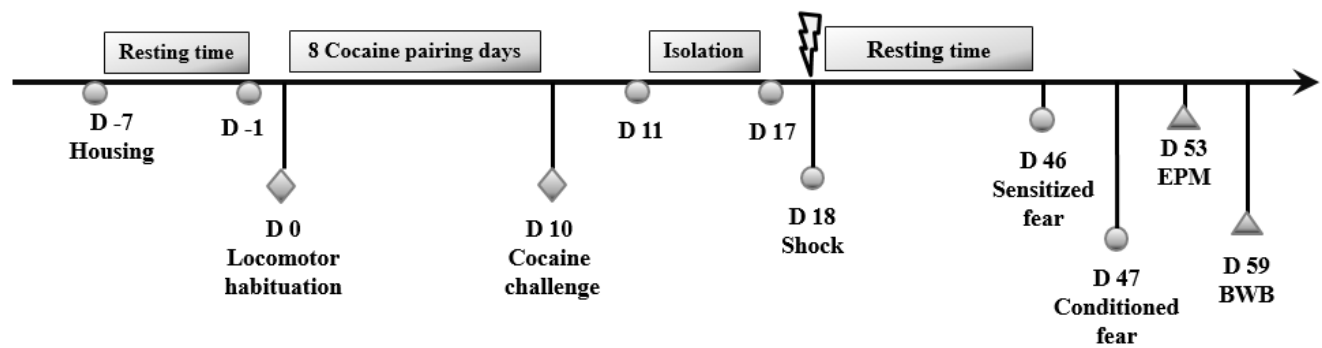


Figure 8.2. Schedule of experiment 2. D=Day. EPM=Elevated plus maze. BWB=Black and white box.

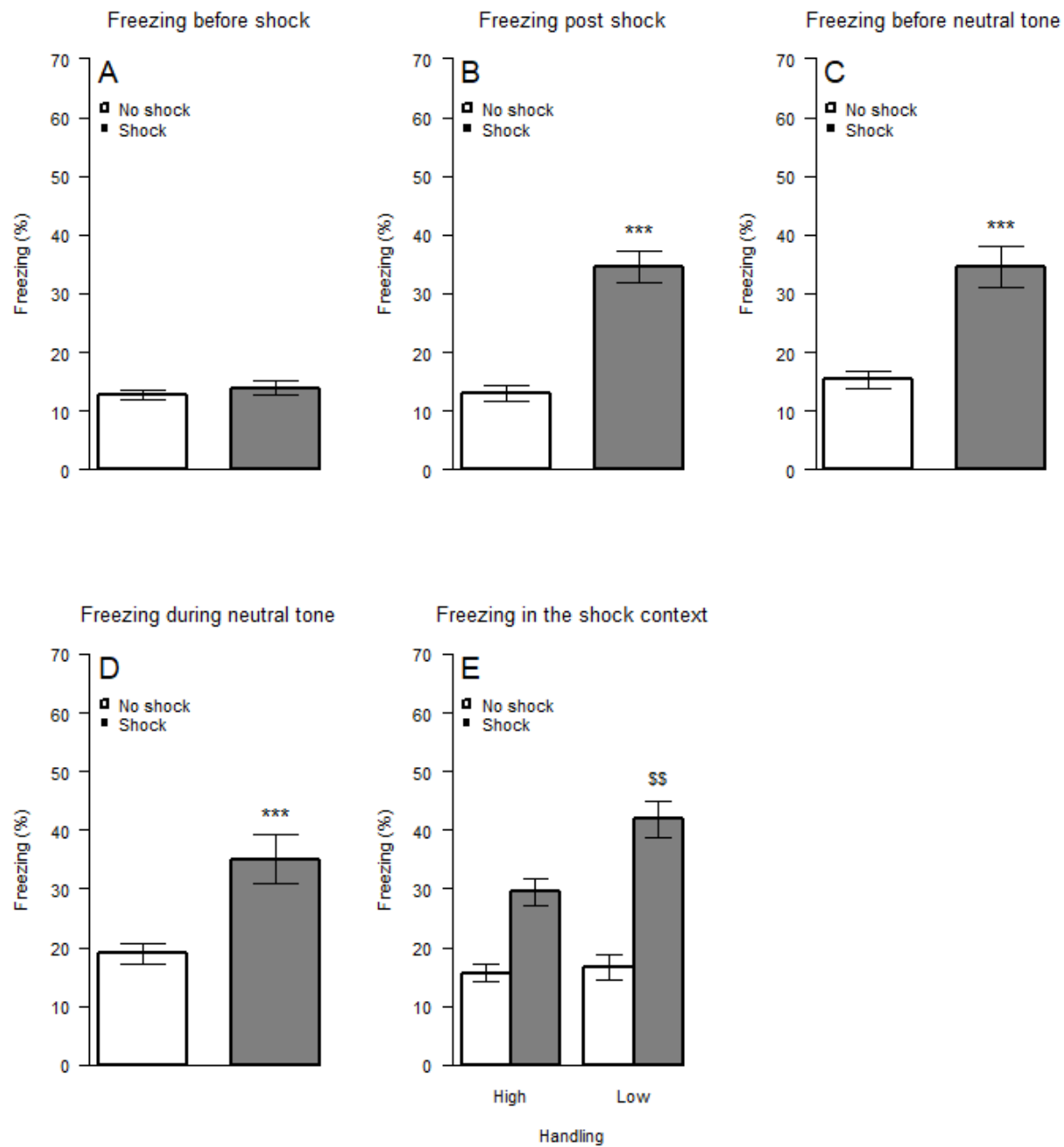


Figure 8.3. Post-traumatic stress disorder like condition clusters in experiment 1. (A and B) Percentage freezing time (mean ± SEM) before and after the electric footshock on the shock session. (C) Percentage freezing time (mean ± SEM) before the neutral tone on the sensitized fear test session. (D) Percentage freezing time (mean ± SEM) during the neutral tone on the sensitized fear test session. (E) Percentage freezing time (mean ± SEM) in the context chamber on the conditioned fear session.

***: $p < 0.001$ relative to the non-shocked group.

\$\$ $p < 0.01$ relative to all other groups.

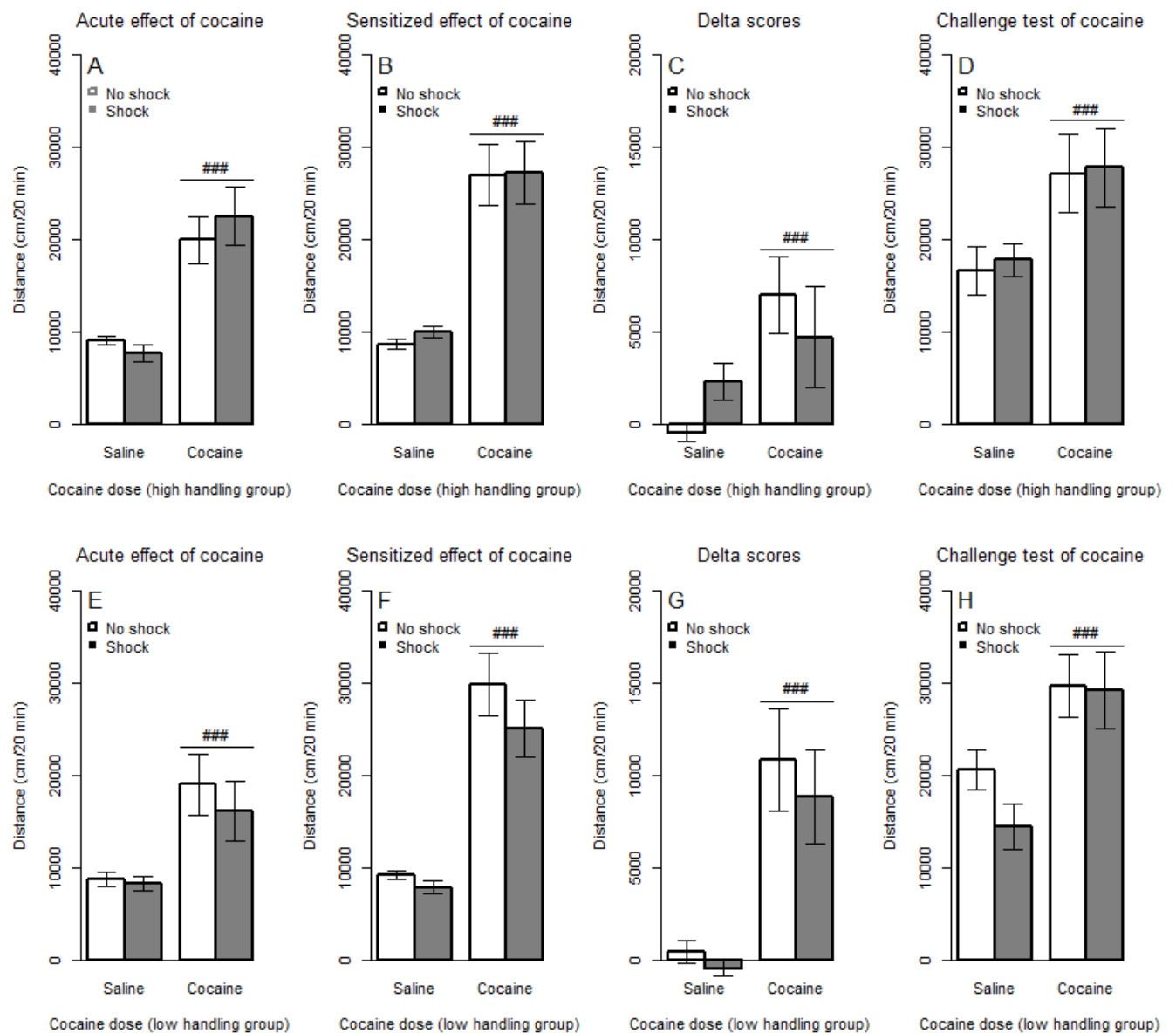


Figure 8.4. Locomotor activity (Mean \pm SEM) on the various sessions of the cocaine sensitization procedure in experiment 1 for high handling (figures A-D) and low handling groups (figures E-H). The horizontal axis shows the experimental groups with their specific chronic treatment starting on the first cocaine pairing day. (A and E) Habituation session. All mice were injected with saline. (B and F) Acute session (first cocaine pairing session) at which mice started to receive their chronic treatment. (C and G) Mean delta scores calculated as the difference between the locomotor activities on the last pairing session and on the acute session. (D and H) Challenge test session for mice injected with 15 mg/kg cocaine.

$p < 0.001$ relative to the saline group.

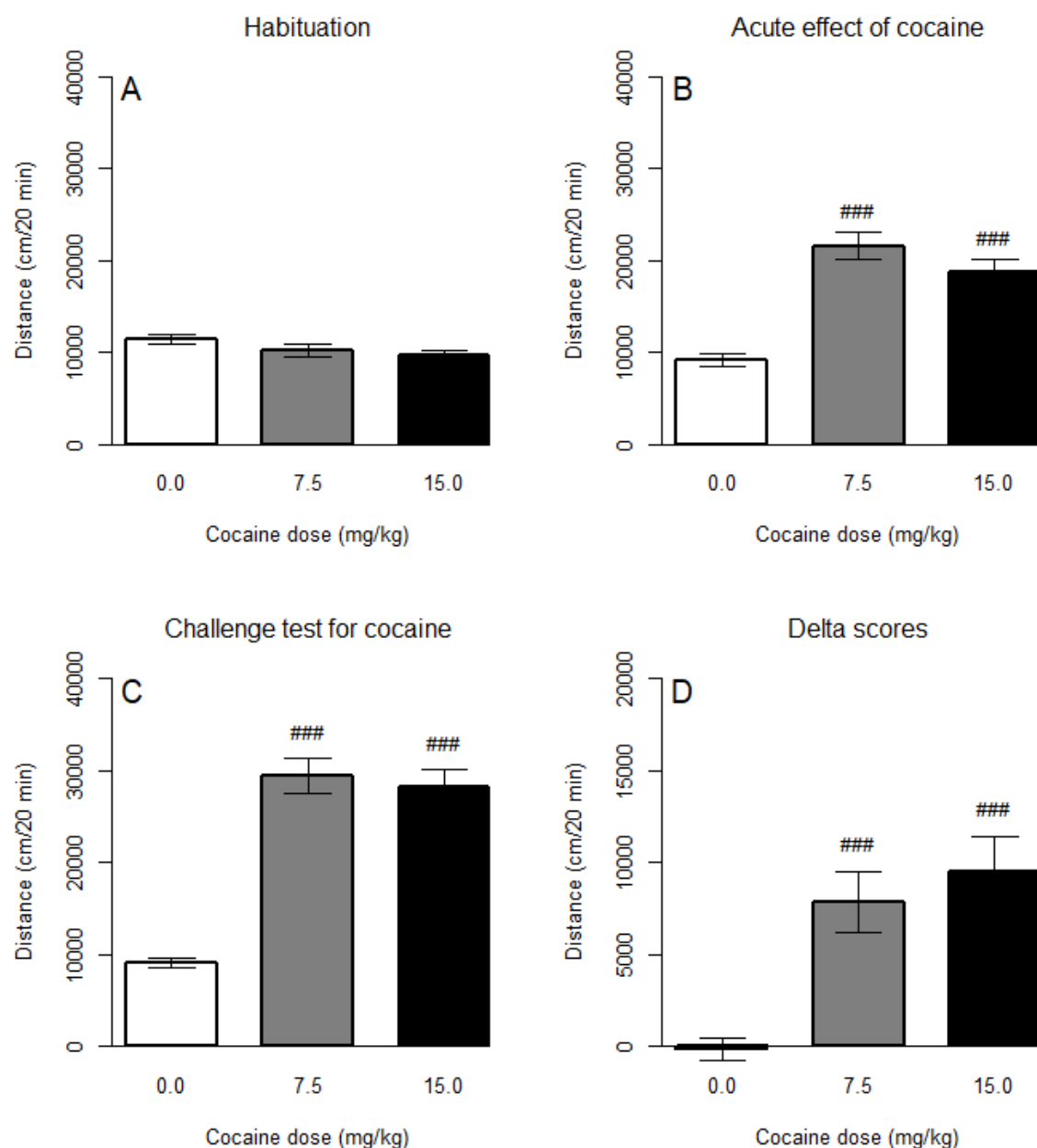


Figure 8.5. Locomotor activity (Mean \pm SEM) on the various sessions of the cocaine sensitization procedure in experiment 2. The horizontal axis shows the experimental groups with their specific chronic treatment starting on the first cocaine pairing day. (A) Habituation session. All mice were injected with saline. (B) Acute session (first cocaine pairing session) at which mice started to receive their chronic treatment. (C) Challenge test session for mice injected with their assigned chronic treatment, i.e. saline, 7.5 mg/kg or 15.mg mg/kg cocaine. (D) Delta scores calculated as the difference between locomotor activity on the challenge session and on the acute session.

$p < 0.001$ relative to the saline control group.

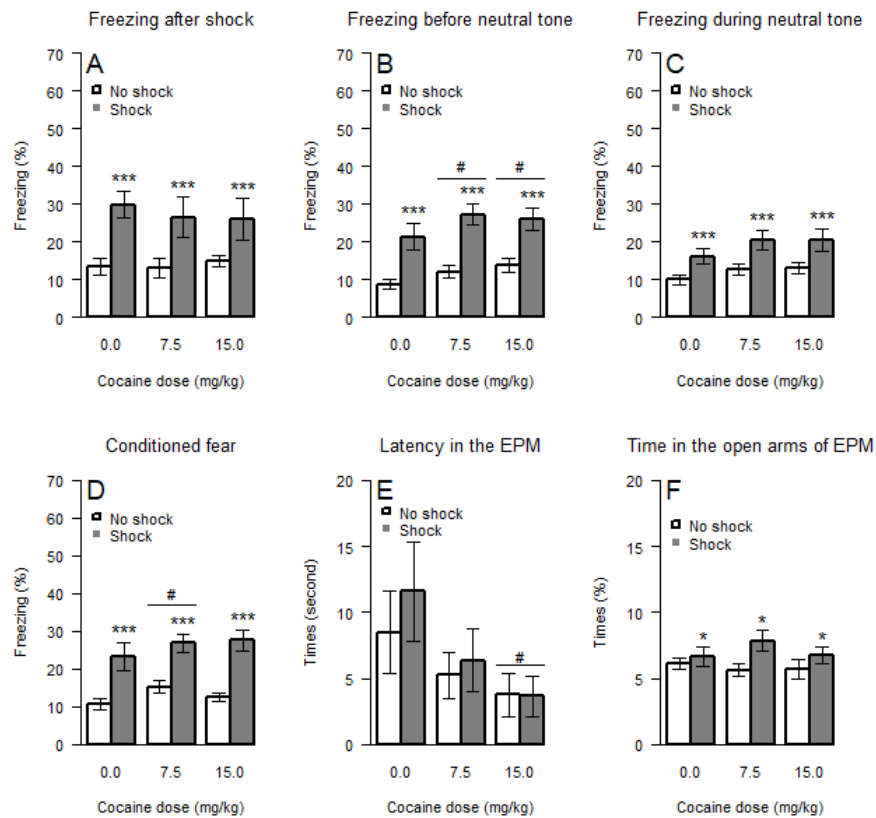


Figure 8.6. Post-traumatic stress disorder like condition clusters after cocaine sensitization in experiment 2. The horizontal axis shows the experimental groups with their specific chronic treatment during the cocaine sensitization procedure. (A) Percentage freezing time (mean \pm SEM) after the electric footshock on the shock session. (B) Percentage freezing time (mean \pm SEM) before the neutral tone on the sensitized fear test session. (C) Percentage freezing time (mean \pm SEM) during the neutral tone on the sensitized fear test session. (D) Percentage freezing time (mean \pm SEM) in the context chamber on the conditioned fear session. (E) Latency (mean \pm SEM) in seconds before the first entry into an EPM arm. (F) Number of transition (mean \pm SEM) between the EPM arms.

* $p < 0.05$ relative to non-shocked mice on the basis of the significant main effect.

*** $p < 0.001$ relative to non-shocked mice on the basis of the significant main effect.

< 0.05 relative to saline mice on the basis of the significant main effect.

Chapitre 9

Does ethanol-induced locomotor sensitization modulate posttraumatic stress disorder like clusters induced by an electric footshock?

Thierry Matonda-ma-Nzuzi^{1,2,3}, Vincent Didone¹, Théo van Ingelgom¹, Vincent Seutin², Ezio Tirelli¹, Etienne Quertemont¹

¹Psychology & Neuroscience of Cognition – PsyNCogn, ULiège, Belgium

²Laboratory of Neurophysiology, GIGA Neurosciences, all at Liège University, B-4000 Sart Tilman, Liège

³Department of Psychiatry, Faculty of Medicine, Université de Kinshasa, Democratic Republic of the Congo

Abstract

In humans, it is often reported that chronic ethanol intake worsens the symptoms of post-traumatic stress disorders (PTSD). Animal models, usually using rodents, have been developed to study the interaction between the effects of chronic ethanol administration and PTSD. However, these animal studies often yielded controversial results which might be in part due to the diversity of the methodological parameters between studies. In particular, the time intervals between chronic ethanol administration and the assessment of PTSD symptoms seem to be crucial. In the present study, the effects of an ethanol sensitization procedure on the expression of PTSD symptoms was tested using three different time intervals in order to better understand the time course of these effects. DBA/2J mice were sensitized to the effects of ethanol using daily injections of 2 g/kg ethanol for ten days. A PTSD-like condition was induced by an electric footshock. Clusters of PTSD symptoms were tested 22, 36 and 50 days after the last ethanol administration through conditioned fear, sensitized fear and anxiety behaviors. The results show that ethanol sensitization does not directly modulate the effects of the PTSD-like condition. However, ethanol sensitization significantly increased sensitized and conditioned fear behaviors. As a result, mice submitted to both ethanol sensitization and the electrical shock expressed the highest levels of fear behaviors. This suggests that chronic ethanol has an additive rather than interactive effect with the experience of PTSD. Furthermore, the results of the present study indicate that the effects of ethanol sensitization on fear behaviors last up to one month after the last ethanol administration. Finally, similar effects of ethanol sensitization on the expression of PTSDLC symptoms are observed when the traumatic event is experienced before or after the sensitization procedure.

Key words: Ethanol; Post-traumatic stress disorder; Fear conditioning; Locomotor sensitization.

9.1. Introduction

Alcohol use disorder, one of the most prevalent substance disorders, and posttraumatic stress disorder (PTSD) are two disorders that co-occur frequently [Tripp et al., 2020; Witkiewitz et al., 2019]. Those last years, there has been a growing body of literature about the influence of substance use disorder on PTSD symptoms [Quiñones-Laracuenta et al., 2015; Edwards et al., 2013]. PTSD is a chronic condition characterized by the symptoms of intrusion, hyperarousal, avoidance behaviors and mood numbing that persist more than one month in the aftermath of a trauma [APA, 2013]. There is a growing body of evidence that substance use disorder worsens the symptoms of PTSD. The expression of PTSD is more florid and more severe in people who suffer from both substance use disorder and PTSD relative to those who suffer only from PTSD [Bedard-Gilligan et al., 2018; Langdon et al., 2016; Sullivan and Holt, 2008]. Moreover, despite controversies, it has become more evident that drugs do not influence the symptoms of PTSD in the same manner. For example, some authors conclude that hyperarousal is more prevalent in alcohol, heroine and benzodiazepines use disorders whereas avoidance behaviors are more common in cocaine use disorder [Ruglass et al., 2017; Tull et al., 2010; Saladin et al., 1995]. Thus, there would be specific interactions with PTSD symptoms depending upon the specific substance of abuse. However, with respect to alcohol use disorders, previous results are controversial as several studies found an overexpression of PTSD clusters whereas other studies reported a reduction of PTSD symptoms in persons with alcohol use disorders [Tripp et al., 2020; Langdon et al., 2016; Tull et al., 2010; Sullivan and Holt, 2008; Hasin and Grant, 2015]. However, the interpretation of human studies is tricky as they often include participants with two or more substance use disorders that can influence each other [Afful et al., 2010]. That is why animal studies can be helpful to better understand the influence of substance use disorders on PTSD symptoms.

Animal studies devoted to the modulating effect of ethanol-induced locomotor sensitization on PTSD symptoms are scarce. Drug-induced locomotor sensitization is the result of a neuroadaptation process that leads to an increase in locomotor activity in response to the repeated administration of the same dose of a drug [Didone et al., 2016a; Robinson and Berridge, 1993]. In rodents, PTSD-like condition (PTSDLC) is often induced by an electric footshock, leading to conditioned fear, sensitized fear and anxiety mimicking the PTSD symptoms of intrusion, hyperarousal and avoidance behaviors respectively [Siegmund and Wotjak, 2007]. Previous studies showed that chronic exposure to ethanol

enhances conditioned fear [Quiñones-Laracuente et al., 2015; Gulick and Gould, 2007; Bertotto et al., 2006]. However, most of previous studies focused only on the influence of ethanol on conditioned fear, whereas PTSD is a constellation of symptoms and cannot be reduced to the intrusion symptoms mimicked by conditioned fear. Therefore, there is a need of studies assessing the effect of ethanol, and especially the effect of ethanol-induced locomotor sensitization, on all PTSD clusters [Lisieski and Perrine, 2017]. To our knowledge, there is only one published study on the effects of ethanol-induced locomotor sensitization on the multiple clusters of PTSDLC [Matonda et al., 2019]. In contrast to the results of previous studies on the effects of chronic ethanol on conditioned fear, the study from Matonda et al. (2019) found that ethanol-induced locomotor sensitization increased sensitized fear without significant effects on conditioned fear. One possible explanation to the discrepancies in the results of these previous studies might be related to the time interval between the chronic ethanol administration, the traumatic event, usually an electric footshock, and the assessment of the PTSD clusters. Indeed, the duration of the effects of an ethanol sensitization procedure on PTSD clusters is a controversial issue [Matonda et al., 2019; Quiñones-Laracuente et al., 2015]. The aim of the first experiment of the present study is to better characterize the modulating effects of a prior ethanol-induced locomotor sensitization on PTSDLC when the symptoms are tested at different time intervals after ethanol sensitization.

The time course of chronic ethanol administration as well as PTSD induction and assessment is crucial when studying the interaction between these two phenomena in an animal model. In most previous studies, a sequential procedure was adopted usually beginning with alcohol exposure [Seo et al., 2018]. However, in humans suffering from comorbid PTSD and alcohol use disorders, the majority, about two thirds, developed a PTSD syndrome first and only after started to abuse alcohol, which in turn might modulate the expression of PTSD symptoms. In animal models intended to study the effects of chronic alcohol on the expression of PTSD clusters, it might therefore be more relevant to interpose the alcohol administration procedure between the traumatic event and the assessment of the PTSDLC symptoms [Bertotto et al., 2006]. Such a procedure is also relevant because previous studies showed that the expression of conditioned fear changes according to the condition that occurs first [Bertotto et al., 2006]. The aim of the second experiment of the present study was to assess all the PTSDLC clusters in a single experiment in which the ethanol-induced locomotor sensitization procedure was interposed between the electric footshock and the assessment of PTSDLC clusters. To our knowledge, such a procedure was never tested before.

9.2. Methods

9.2.1. Animals

Overall, this study used 225 female inbred DBA/2J mice. Female mice were used in order to be consistent with the majority of ethanol sensitization studies and because female rodents generally show greater susceptibility to drug-induced sensitization. The mice were purchased from Janvier Laboratories (Le Genest-Saint-Isle, France) at 5–6 weeks of age. They spent 2–3 weeks of acclimatization to the colony room environment. The mice were 8 weeks old at the beginning of the experiments. Depending on the study phase, mice were singly housed or housed in pairs (see procedures section below) in transparent Plexiglas cages of 33 cm long, 15 cm wide and 13 cm high. The litter consisted of pine sawdust bedding. Mice had permanently access to food and water (standard pellets; Carfil Quality BVDA, Oud-Turnhout, Belgium). The laboratory temperature was maintained constant between 20 and 22 °C. The animals were kept in a 12h:12 h light-dark cycle (lights on at 6:00). All experiments were conducted during the light phase, between 8:00 and 16:00. All experimental treatments and animal maintenance were reviewed by the University of Liege Animal Care and Experimentation Committee (application 1646), which gave its approval according to the Belgian implementation of the animal welfare guidelines laid down by Belgium and the European Union (“Arrêté Royal relatif à la protection des animaux d’expérience” released on 23 May 2013 and “Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes”).

9.2.2. Drugs

Ultra-pure (99.99%) ethanol, purchased from VWR International (Leuven, Belgium), was diluted in an isotonic 0.9% NaCl solution to a final concentration of 20%. Both the ethanol and the control saline solution were administered through the intraperitoneal route (i.p.).

9.2.3. Apparatus

9.2.3.1. Open field

Locomotor activity was recorded in two white open fields (0.8×0.8 m) trays each divided into four compartments (0.4×0.4 m). A camera placed above each tray recorded mouse behaviors in the different compartments. Data were automatically recorded on a computer. Mouse behaviors were analyzed using a videotracking system (View point, Lyon, France). The locomotor activity was expressed as the horizontal distance travelled in cm.

9.2.3.2. Fear conditioning chambers

Fear conditioning was performed in two plexiglass boxes of 62.5 cm long, 40 cm wide and 42 cm high (MED Associates Inc., St. Albans, VT, USA, ENV-307W-TH). A loudspeaker that could produce sounds up to 100 dB was present in each room. Each room had a light bulb which diffused a white light. In its lower part, each chamber comprised a removable part made of 23 metal bars of 3 mm in diameter separated from each other by a distance of 8 mm. This metal grid allowed to automatically record locomotor activity and to produce an electric shock. Conditioning chambers were used to mimic the traumatic event of the PTSD with the electric footshock and to assess the conditioned fear. They were also used to assess the sensitized fear in a new context. In order to create this new context, a structure having the form of roofing and reducing the chamber light was used together with a new odor of soap. Sensitized fear and conditioned fear were used to mimic, respectively, the hyperarousal and the intrusion clusters of the PTSD. Before each session, chambers were wiped with a different product according to the experimental phase: chloroxylenol 4.8% twenty-fold diluted for the context of the electric shock, or with soap for the new context.

9.2.3.3. Elevated plus maze (EPM)

An EPM was used to assess anxiety-like behaviors to mimic the avoidance cluster of the PTSD. It was a cross-shaped device with four arms, two open and two closed. The arms were 30 cm long and 5 cm wide and were located 80 cm above the ground. The edges of the closed arms were 15 cm high whereas

the edges of the open arms were 2.5 cm high. Mouse behaviors were recorded by a camera for later analysis.

9.2.3.4. The black and white box test

The light and dark test or black and white box (BWB) test was also used to assess anxiety-like behaviors to mimic the avoidance cluster of the PTSD. It consisted of one white chamber, which was illuminated, and one small dark chamber, which was not illuminated. The two chambers were connected by a small opening. At the start of a session, mice were placed in the center of the white box facing the opening of the black box. Mouse behaviors were recorded by a camera for later analysis.

9.2.4. Procedures

9.2.4.1. Ethanol-induced locomotor sensitization

An experimental protocol developed in our laboratory [Didone et al., 2008] was used to sensitize the mice to the psychostimulant effects of ethanol. Briefly, the mice were housed in pairs 7 days before the start of the locomotor sensitization protocol. The 1st day after this period of acclimation, the procedure started with a habituation session during which all mice were i.p. injected with saline and immediately placed for 5 min in the open fields. Mice were then randomly assigned to two or three groups, depending on the specific experiment, and according to the ethanol dose used for the sensitization procedure (0.0 g/kg, i.e. saline, 1.0 g/kg or 2.0 g/kg). During the sensitization procedure, mice were daily injected with their assigned ethanol dose (or saline) for 8 days and their locomotor activity was recorded for the first 5 min after the injection. The first sensitization session was also used to assess the acute stimulant effects of ethanol. Two days after the last sensitization session, mice were submitted to a 20 min challenge test session. In experiment 1, except for the habituation session, the acute session and the challenge test, mice were injected daily in their home cages whereas in experiment 2, for all the procedure, mice were injected in the testing room. For both experiment 1 and 2, on the challenge test session, mice received the same injection as during the sensitization procedure, including saline for the control group. This procedure was adopted in order to keep the control group “ethanol free” before the PTSDLC procedure.

9.2.4.2. PTSD-like clusters

The protocol used by Siegmund and collaborators [Siegmund et al., 2009; Siegmund and Wotjak, 2007a; Siegmund and Wotjak, 2007b] was used to induce PTSDLC.

9.2.4.2.1. Electric footshock

Briefly, mice were single housed 7 days before the conditioned fear procedure. On the first day of the procedure, the mice were placed into the fear conditioning box for a total duration of 260 s. Each session began with the illumination of the cage. After 198 s, the mice received an inescapable electric footshock of 1.5 mA during 2 s. The mice remained 60 s in the cage before being directly returned to their home cages. The control groups underwent the same procedure without receiving the electric shock. The fear behavior in mice was automatically recorded by the percentage time spent freezing before and after the electric shock. Freezing is defined by the cessation of any activity other than respiratory movements.

9.2.4.2.2. Sensitized fear

Depending on the specific experiment, sensitized fear was assessed 14, 28 or 42 days after the inescapable footshock. Mice were tested for fear generalization in a new context. Each session began with the illumination of the cage. After 180 s, a neutral sound of 80 db and of 9 kHz sine wave resounded in the cage for 180 s in order to test the generalization of sensitized fear to a new stimulus. At the end of the sound, mice remained 60 s in the cage before being directly returned to their home cages. The percentage time spent freezing before and during the emission of the neutral sound was recorded.

9.2.4.2.3. Conditioned fear

Depending on the specific experiment, conditioned fear was assessed 15, 29 or 43 days after the inescapable footshock. Mice were tested for their conditioned fear in the same context where they received the electric shock. Each session began with the illumination of the cage. The mice remained

for 180 s in this context without receiving an electric shock. Then they returned to their home cages. The percentage time spent freezing during the 180 s was recorded.

9.2.4.2.4. Anxiety-like behaviors

The anxiety-like behaviors were assessed with the EPM and the BWB 6 days and 12 days respectively after the assessment of conditioned fear. On the EPM, mice were placed into the center of the maze at the intersection of the open and closed arms. All mice were positioned muzzle pointing towards the same open arm. Each session was recorded by a videocamera and lasted 5 min.

In the BWB, the mice were placed into the center of the white box, muzzle directed towards the opening of the black box. Each session was recorded by a videocamera and lasted 10 min. Videotapes were later scored by a trained observer blind to the experimental treatment. The time spent in the open arms of the EPM and in the white compartment of the BWB, the time spent before the first entry (latency) into an arm of the EPM and into the black compartment of the BWB, and the total number of entries into the arms of the EPM and in the black compartment of the BWB were recorded for each mouse. An arm entry in the EPM or a compartment entry in the BWB was recorded when a mouse had all four paws in the arm or the compartment.

9.2.4.3. Experiment 1 procedure: Ethanol sensitization followed by PTSDLC

After the habituation session, the mice ($n = 149$) were divided into two groups receiving ethanol 2.0 g/kg ($n = 75$) or saline ($n = 74$). The mice underwent the ethanol locomotor sensitization procedure as described above (Fig. 1, Fig. 2 and Fig. 3). Mice were injected daily in their home cages, except for the habituation session (day 0), the acute session (day 1) and the challenge test (day 10). On the challenge test session, mice received the same injection as during the sensitization procedure with saline solution for the control group. Then, each group of mice was subdivided into three subgroups ($n = 49$ or 50) in order to assess PTSDLC clusters at different time intervals after the electric footshock. Half of the mice of each subgroup received an electric footshock and the other half serving as control. PTSDLC clusters were then assessed, starting with sensitized fear 14, 28 or 42 days after the shock as described above.

9.2.4.4. Experiment 2 procedure: Ethanol sensitization interposed between footshock and expression of PTSDLC

Mice ($n = 76$) were randomly assigned to two groups of 38. One group was submitted to the PTSDLC protocol described above, whereas the second group (control group) underwent the same procedure without the footshock (Fig. 4). The ethanol sensitization procedure started 8 days after the footshock and ended 10 days before the assessment of PTSDLC clusters. After the habituation session of the sensitization procedure, each group (shocked and non-shocked) was subdivided into three subgroups receiving either saline ($n = 18$), 1 g/kg ethanol ($n = 9$) or 2 g/kg ethanol ($n = 9$). Ethanol 2g/kg was selected as a sensitizing dose, whereas ethanol 1g/kg was selected as a subthreshold dose failing to induce ethanol sensitization in normal conditions [Didone et al., 2008; Stevenson et al., 2008]. Mice were then injected with their respective treatment for the duration of the sensitization procedure (day 50–57). On the challenge test (day 59), in order to test for between-groups ethanol sensitization, mice of the ethanol groups were again injected with their respective ethanol dose (1.0 g/kg or 2.0 g/kg). Then the six groups were assessed for their sensitized fear and conditioned fear, respectively, on days 28th and 29th after the inescapable electric footshock. Anxiety behaviors were assessed in the EPM and the BWB, respectively 35 and 41 after the inescapable electric footshock.

9.2.5. Statistical analysis

9.2.5.1. Experiment 1

For the ethanol sensitization procedure, independent Student *t*-tests were computed to test for differences in the mean locomotor activity of the groups on the habituation session (day 0), on the acute session (day 1) and on the 20 min challenge test session (day 10). Additionally, to test for intra-subject ethanol sensitization, delta scores were calculated as the difference between the mean locomotor scores from the first 5 min of the challenge test session and from the acute session. Delta scores were then analyzed with an independent Student *t*-test to test for differences between groups.

For the conditioned fear procedure, the differences in the mean percentage freezing times before the electric shock was tested with an independent Student *t*-test. After the electric shock, before the neutral sound, during the neutral sound, in the conditioned context the difference in the mean percentage

freezing times were tested with two-factorial ANOVAs using shock treatment (shock vs. no shock) and ethanol dose (saline vs. 2.0 g/kg) as independent variables. For the EPM, two-factorial ANOVAs (shock treatment X ethanol dose) were used to compare the two groups for the time spent in the open arms of the EPM, the latency before the first entry into an arm and the total number of entries into the arms. For the BWB, groups mice were compared for the latency before the first entry into the black compartment, the time spent in the white compartment and the total number of entries into the black compartment by two-factorial ANOVAs (shock treatment X ethanol dose).

9.2.5.2. Experiment 2

On the inescapable electric footshock session, the differences in the mean percentage freezing times between the two groups (shocked and non-shocked mice) were tested with independent Student *t*-tests before and after the inescapable footshock.

For the habituation session before the sensitization procedure, the mean locomotor activity of mice from the shocked and non-shocked groups were compared using a Student *t*-test for independent groups. Two-way ANOVAs using shock treatment (shock or non-shock) and ethanol dose (saline, 1.0 g/kg or 2.0 g/kg) as independent variables were performed to compare the locomotor activity for the acute effects of ethanol (day 1) and on the 20 min challenge test session (day 10). To test for intra-subject ethanol sensitization, scores of differences (delta scores) were computed for each mouse between the first 5 min of the challenge test session and from the acute session (day 1). Mean delta scores were then analyzed with a factorial two-way ANOVA (shock treatment x ethanol dose).

For the conditioned fear procedure, the differences in the mean percentage freezing times between the groups were tested with two-factorial ANOVAs using shock treatment (shock or non-shock) and ethanol dose (saline, 1 g/kg or 2.0 g/kg) as independent variables before the neutral sound, during the neutral sound and in the conditioned context. For the EPM, independent two-factorial ANOVAs (shock treatment x ethanol dose) were used to compare the groups for the time spent in the open arms of the EPM, the latency before the first entry into an arm and the total number of entries into the arms. For the BWB, the mice were compared for the latency before the first entry into the black compartment, the time spent in the white compartment and the total number of entries into the black compartment by two-way ANOVAs using (shock treatment X ethanol dose).

Where necessary logarithmic or square root transformations were used more to meet the homoscedasticity assumption. Newman-Keuls post hoc tests were performed for significant means differences either on the main effect or on the interaction, depending on which one was statistically significant.

9.3. Results

9.3.1. Experiment 1

9.3.1.1. Ethanol-induced locomotor sensitization procedure

On the habituation session of the sensitization procedure, the Student t test for independent samples performed on the mean travelled distances showed that there was no significant difference between groups ($t = 0.2$, $df = 147$, $p = 0.83$, $\eta^2 = 0.0003$; Fig. 5). On the following day, for the acute effects of ethanol, the Student t test for independent samples showed that there was a significant difference between groups for the travelled distances ($t = 3.0$, $df = 147$, $p = 0.0026$, $\eta^2 = 0.06$). The ethanol group expressed higher locomotor activity relative to the control group. On the 10th day for the challenge test, the Student t test for independent samples showed that the ethanol group travelled longer distances than the control group ($t = 10.1$, $df = 147$, $p < 0.000001$, $\eta^2 = 0.41$). For the delta scores, which is the difference of the locomotor activity between the first 5 minutes of the challenge test and the day 1 of the ethanol-induced locomotor sensitization, the Student t test for independent samples showed higher mean locomotor activity in the ethanol group compared to the control group ($t = 6.4$, $df = 147$, $p = 0.000003$, $\eta^2 = 0.22$).

At the end of the sensitization procedure, the two groups (ethanol and control groups) were divided into three subgroups ($n = 49$ or 50) that were tested at different time intervals after the electrical footshock (14, 28 or 42 days after the shock).

9.3.1.2. Experiment 1a: PTSDLC symptoms assessed 14 days after the electrical footshock

In the fear conditioning chamber, before the electric footshock, the Student t test for independent samples showed that the ethanol group had a higher mean percentage time of freezing than the control

group ($t = 2.0$, $df = 47$, $p = 0.047$, $\eta^2 = 0.081$; Fig. 6). After the electric footshock, a two-way ANOVA revealed a main effect of the shock ($F(1,45) = 29.1$, $p = 0.000002$, $\eta^2 = 0.39$). The shocked mice froze more than the non-shocked mice. In contrast, the main effect of ethanol treatment ($F(1,45) = 2.8$, $p = 0.1$, $\eta^2 = 0.058$) and the interaction ($F(1,45) = 2.1$, $p = 0.16$, $\eta^2 = 0.044$) were not statistically significant.

On the sensitized fear assessment session, the two-way ANOVA performed on the freezing time before the neutral tone showed a significant main effect of the shock ($F(1,45) = 16.6$, $p = 0.00019$, $\eta^2 = 0.27$), a significant main effect of the treatment ($F(1,45) = 9.9$, $p = 0.0029$, $\eta^2 = 0.18$), but not statistically significant interaction ($F(1,45) = 0.9$, $p = 0.34$, $\eta^2 = 0.02$). As shown on figure 6C, the significant main effects are due to higher mean freezing time in shocked mice relative to non-shocked mice and in the ethanol group relative to the control group. During the neutral tone emission, the two-way ANOVA showed a significant main effect of the shock ($F(1,45) = 14.0$, $p = 0.00052$, $\eta^2 = 0.24$) and a significant main effect of the treatment ($F(1,45) = 4.7$, $p = 0.036$, $\eta^2 = 0.094$), whereas the interaction was not significant ($F(1,45) = 1.1$, $p = 0.3$, $\eta^2 = 0.024$). As shown on figure 6D, a similar pattern of effects was observed with higher mean freezing time in shocked mice and in mice sensitized to ethanol.

On the conditioned fear session, the two-way ANOVA revealed a main effect of the shock ($F(1,45) = 11.8$, $p = 0.0013$, $\eta^2 = 0.21$) and a main effect of the treatment ($F(1,45) = 11.6$, $p = 0.0014$, $\eta^2 = 0.2$), but no significant interaction ($F(1,45) = 0.3$, $p = 0.57$, $\eta^2 = 0.0071$). Again, higher mean freezing times were observed in shocked mice and in mice sensitized to ethanol (figure 6E).

In the EPM, the two-way ANOVAs showed that the groups were not statistically different for either the latency before the first entrance in an arm, the number of transition between arms or the time spent in the open arms (all $P > 0.05$). In the BWB, the two-way ANOVAs performed on the mean latency for the first entrance in the black box and the mean time spent in the white box showed no significant main effect or interaction (all $P > 0.05$). For the number of transitions between the white and the black box, a two-way ANOVA showed a significant main effect of the shock ($F(1,45) = 5.8$, $p = 0.02$, $\eta^2 = 0.11$) and a significant main effect of the ethanol treatment ($F(1,45) = 7.2$, $p = 0.01$, $\eta^2 = 0.14$) whereas there was no significant interaction ($F(1,45) < 0.1$, $p = 0.95$, $\eta^2 = 0.0001$). In average, the shocked mice and the ethanol mice were less mobile than the non-shocked mice and the saline mice, respectively.

9.3.1.3. Experiment 1b: PTSDLC symptoms assessed 28 days after the electrical footshock

In the fear conditioning chamber, before the electric footshock, the Student t test for independent samples showed that the ethanol group had a higher mean percentage time of freezing than the control group ($t = 2.0$, $df = 48$, $p = 0.046$, $\eta^2 = 0.08$; Fig. 7). After the electric footshock, the two-way ANOVA performed on the mean freezing time revealed a significant main effect of the shock ($F(1,46) = 28.4$, $p = 0.000003$, $\eta^2 = 0.38$), whereas there were no significant main effect for the ethanol treatment ($F(1,46) = < 0.1$, $p = 0.85$, $\eta^2 = 0.0008$) and no significant interaction ($F(1,46) = 1.5$, $p = 0.23$, $\eta^2 = 0.031$).

On the sensitized fear assessment session, the two-way ANOVA performed on the mean freezing time before the emission of the neutral tone showed a significant main effect of the shock ($F(1,45) = 11.7$, $p = 0.0013$, $\eta^2 = 0.2$) and a significant main effect of the ethanol treatment ($F(1,45) = 4.5$, $p = 0.039$, $\eta^2 = 0.091$), whereas there was no significant interaction ($F(1,45) = 1.0$, $p = 0.32$, $\eta^2 = 0.021$). During the emission of the neutral tone, the two-way ANOVA revealed a significant main effect of the shock ($F(1,45) = 12.1$, $p = 0.0011$, $\eta^2 = 0.21$), a significant main effect of the ethanol treatment ($F(1,45) = 4.5$, $p = 0.038$, $\eta^2 = 0.092$), but no significant interaction ($F(1,45) = 0.7$, $p = 0.39$, $\eta^2 = 0.016$). Both before and during the diffusion of the neutral tone, the shocked mice froze more than the non-shocked mice, and the ethanol group froze more than the saline group.

On the conditioned fear session, the two-way ANOVA showed a significant main effect of the shock ($F(1,45) = 17.4$, $p = 0.00013$, $\eta^2 = 0.28$) and a significant main effect of the ethanol treatment ($F(1,45) = 4.1$, $p = 0.047$, $\eta^2 = 0.084$), whereas there was no significant interaction ($F(1,45) = 0.2$, $p = 0.62$, $\eta^2 = 0.0054$). Overall, the results showed that the electrical footshock and the ethanol treatment increased the mean percentage freezing time.

In the EPM, the two-way ANOVAs revealed no significant interaction, no significant main effect of the shock and no significant main effect of the ethanol treatment (all $p > 0.05$) for the mean latency for the first arm entry and for the mean time spent in the open arms of the EPM. However, the two-way ANOVA performed on the number of transitions between the arms of the EPM showed a significant main effect of the ethanol treatment ($F(1,42) = 5.6$, $p = 0.022$, $\eta^2 = 0.12$) but neither a

significant interaction ($F(1,42) = 0.6$, $p = 0.43$, $\eta^2 = 0.015$) nor a significant main effect of the shock ($F(1,42) = 0.1$, $p = 0.79$, $\eta^2 = 0.0017$).

In the BWB, the two-way ANOVA performed on the number of transitions between the black and the white box showed a significant main effect of the shock ($F(1,45) = 11.4$, $p = 0.0015$, $\eta^2 = 0.2$), but no significant main effect of the ethanol treatment ($F(1,45) = 1.6$, $p = 0.21$, $\eta^2 = 0.034$) and no significant interaction ($F(1,45) = 0.5$, $p = 0.46$, $\eta^2 = 0.012$). Two-way ANOVAs performed on the mean time latency to enter the black box and the mean time spent in the white box revealed no significant differences between groups (all $P > 0.05$).

9.3.1.4. Experiment 1c: PTSDLC symptoms assessed 42 days after the electrical footshock

In the fear conditioning chamber, before the electric footshock, the Student t test for independent samples showed no significant differences between groups ($t = 1.5$, $df = 48$, $p = 0.14$, $\eta^2 = 0.044$; Fig 8). After the electric footshock, the two-way ANOVA performed on the mean freezing time revealed a significant main effect of shock ($F(1,46) = 53.5$, $p < 0.000001$, $\eta^2 = 0.54$). However, there were no significant interaction ($F(1,46) = 1.7$, $p = 0.2$, $\eta^2 = 0.035$) and no significant main effect of the ethanol treatment ($F(1,46) = 0.1$, $p = 0.8$, $\eta^2 = 0.0014$).

On the sensitized fear assessment session, the two-way ANOVA performed on the mean freezing time before the emission of the neutral tone showed a significant interaction ($F(1,44) = 5.4$, $p = 0.025$, $\eta^2 = 0.11$) and a significant main effect of the shock ($F(1,44) = 23.3$, $p = 0.000017$, $\eta^2 = 0.35$) but no significant main effect of the ethanol treatment ($F(1,44) = 0.8$, $p = 0.36$, $\eta^2 = 0.019$). The Student-Newman-Keuls post-hoc test on the interaction showed a statistically significant effect of the shock in the saline group ($p = 0.00021$), whereas the effect of the shock failed to reach statistical significance in the ethanol group ($p = 0.083$). Additionally, the ethanol treatment significantly increased the mean freezing time in non-shocked mice ($p = 0.027$), but not in shocked mice ($p = 0.33$). A similar pattern of effects was observed during the emission of the neutral tone with a significant interaction ($F(1,44) = 4.6$, $p = 0.038$, $\eta^2 = 0.094$) and a significant main effect of shock ($F(1,44) = 5.0$, $p = 0.03$, $\eta^2 = 0.1$), but no significant main effect of the ethanol treatment ($F(1,44) = 0.4$, $p = 0.51$, $\eta^2 = 0.0097$). However, the Newman-Keuls Student post-hoc test performed on the interaction only showed a

statistically significant effect of the shock in the saline control group ($p = 0.017$). All the other comparisons were not significant statistically (all $P > 0.05$).

On the conditioned fear session, the two-way ANOVA only showed a significant main effect of the shock ($F(1,44) = 5.9$, $p = 0.019$, $\eta^2 = 0.12$) with higher mean freezing time in shocked mice. The main effect of the ethanol treatment ($F(1,44) = 0.5$, $p = 0.46$, $\eta^2 = 0.012$) and the interaction ($F(1,44) = 0.6$, $p = 0.43$, $\eta^2 = 0.014$) were not statistically significant.

On the EPM, the two-way ANOVAs revealed no significant differences between groups for the latency to first enter into an arm, the time spent in the open arms of the EPM and the number of transitions between the arms (all $P > 0.05$). Similarly, in the BWB, the two-way ANOVAs showed no differences between groups for the latency before the first entrance into the black box, the number of transitions between the black box and the white box, and the time spent in the white box (all $P > 0.05$).

9.3.2. Experiment 2

9.3.2.1. Shock session

In experiment 2, mice received the footshock before the ethanol sensitization procedure. Before the electric footshock, a Student *t* test for independent samples found no significant difference between groups for the mean basal freezing time ($t = 0.6$, $df = 74$, $p = 0.52$, $\eta^2 = 0.0055$, Fig. 9). After the electric footshock, a Student *t* test for independent samples showed that shocked mice expressed higher mean freezing than non-shocked mice ($t = 8.9$, $df = 74$, $p < 0.000001$, $\eta^2 = 0.52$).

9.3.2.2. Ethanol-induced locomotor sensitization

In the open field, on the habituation session, a Student *t* test for independent samples showed that non-shocked mice expressed higher basal locomotor activity than shocked mice ($t = 5.5$, $df = 73$, $p = 0.000001$, $\eta^2 = 0.29$; Fig. 10). The following day on the acute session, the two-way ANOVA (ethanol dose \times shock) showed a significant interaction ($F(2,69) = 5.8$, $p = 0.0045$, $\eta^2 = 0.14$) and a significant main effect of the ethanol treatment ($F(2,69) = 11.3$, $p = 0.000058$, $\eta^2 = 0.25$) but no significant main effect of the shock ($F(1,69) = 2.1$, $p = 0.15$, $\eta^2 = 0.03$). Newman-Keuls post-hoc tests were then

performed on the interaction. The results showed a significant locomotor stimulant effects of ethanol 2g/kg only in shock mice relative to the shocked saline control mice ($p = 0.00024$). In contrast, in non-shocked mice, there was no significant differences between the three treatment groups (all $p > 0.05$).

On the challenge test session, the 10th day of the ethanol-induced locomotor sensitization procedure, a two-way ANOVA (ethanol dose x shock) revealed a significant main effect of the ethanol treatment ($F(2,69) = 59.3$, $p < 0.000001$, $\eta^2 = 0.63$) and a significant main effect of the shock ($F(1,69) = 7.2$, $p < 0.0093$, $\eta^2 = 0.093$) but no significant interaction ($F(2,69) = 1.0$, $p = 0.39$, $\eta^2 = 0.027$). The results of the post-hoc analyses showed higher locomotor activity relative to the saline group in the 1 g/kg ethanol group ($p = 0.028$) and especially in the 2 g/kg ethanol group ($p = 0.00011$). With respect to the significant main effect of the shock, the shocked mice expressed on average slightly less locomotor activity than the non-shocked mice.

The two-way ANOVA (ethanol dose x shock) performed on the delta scores, i.e. the difference in locomotor activity between the first five minutes of the last ethanol session and the first ethanol injection, showed no significant interaction ($F(2,69) = 1.5$, $p = 0.23$, $\eta^2 = 0.042$) and no significant main effect of the shock ($F(1,69) = 0.1$, $p = 0.7$, $\eta^2 = 0.0022$). However, there was a significant main effect of the ethanol treatment ($F(2,69) = 13.4$, $p = 0.000012$, $\eta^2 = 0.28$). The Newman-Keuls post-hoc test revealed higher delta scores in the 2 g/kg ethanol group than in both the saline group ($p = 0.00012$) and the 1 g/kg ethanol group ($p = 0.018$). In contrast, the 1 g/kg ethanol group did not significantly differ from the saline group.

9.3.2.2. Expression of PTSDLC following ethanol sensitization

On the sensitized fear assessment session, the two-way ANOVA (ethanol treatment x shock) performed on the mean freezing time before the neutral tone showed significant differences between groups (Fig. 11). There was a significant interaction ($F(2,69) = 4.0$, $p = 0.023$, $\eta^2 = 0.1$) but no significant main effect of the shock ($F(1,69) = 3.4$, $p = 0.069$, $\eta^2 = 0.047$) and no significant main effect of ethanol treatment ($F(2,69) = 0.8$, $p = 0.43$, $\eta^2 = 0.024$). The Newman-Keuls post-hoc test on the interaction revealed that the non-shocked saline group froze less than both the shocked saline group ($p = 0.031$) and the shocked 1 g/kg ethanol group ($p = 0.034$). All the other comparisons were not statistically significant (all $p > 0.05$). During the neutral tone emission, the two-way ANOVA

(ethanol treatment x shock) showed a significant interaction ($F(2,69) = 3.9$, $p = 0.025$, $\eta^2 = 0.1$), a significant main effect of the shock ($F(1,69) = 4.4$, $p = 0.039$, $\eta^2 = 0.06$) and a significant ethanol main effect ($F(2,69) = 5.6$, $p = 0.0054$, $\eta^2 = 0.14$). The Newman-Keuls post-hoc test on the interaction revealed that the saline non-shocked group expressed less freezing time than all the other groups (all $p < 0.01$). All the other comparisons were not statistically significant (all $p > 0.05$).

On the conditioned fear session, the two-way ANOVA (ethanol treatment x shock) showed no significant interaction ($F(2,69) = 3.0$, $p = 0.054$, $\eta^2 = 0.081$), and no significant main effect of either the ethanol treatment ($F(2,69) = 2.6$, $p = 0.08$, $\eta^2 = 0.071$) or the shock ($F(1,69) = 0.6$, $p = 0.43$, $\eta^2 = 0.009$).

In the EPM, two-way ANOVAs found no significant differences between groups for the latency to enter into an arm, the number of transitions between arms and the time spent in the open arms (all $p > 0.05$). In the BWB, the two-way ANOVA performed on the number of transitions between the black and the white boxes showed a significant main effect of the ethanol treatment ($F(2,68) = 5.2$, $p = 0.0076$, $\eta^2 = 0.13$), whereas there were no significant interaction ($F(2,68) = 1.9$, $p = 0.15$, $\eta^2 = 0.054$) and no significant main effect of the shock ($F(1,68) = 0.2$, $p = 0.67$, $\eta^2 = 0.0027$). Overall, the Newman-Keuls post-hoc test showed a significantly reduced mean number of transitions in the 1.0 g/kg ethanol groups relative to the other treatment groups. There were no significant differences between groups for the latency to first enter the black box and for the time spent in the white box (all $p > 0.05$).

9.4. Discussion

9.4.1. Time course of the effects of ethanol sensitization on PTSDLC

The first goal of this study was to characterize the modulating effect of ethanol-induced locomotor sensitization on PTSDLC expression over time. In the first experiment, three different time intervals were set between the ethanol sensitization procedure and the assessment of the PTSDLC clusters. More specifically, in three independent subexperiments, the first PTSDLC cluster (sensitized fear) was tested 22, 36 and 50 days after the last ethanol administration. The results showed that ethanol

sensitization did not modulate the effects of PTSDLC per se as in none of the time intervals was the interaction (ethanol treatment x shock) statistically significant. However, ethanol sensitization significantly increased fear behaviors as assessed by freezing time. This effect was observed in both the control non-shocked mice as well as in shocked mice. In shocked mice, the effects of ethanol sensitization added to the effects of the shock to result in the highest levels of both sensitized and conditioned fear. In a sense, ethanol sensitization therefore increased the expression of PTSDLC symptoms. Remarkably, this effect was still observed 36 days after the last ethanol expression and only started to fade away 50 days after the last ethanol administration.

It is often reported that addiction worsens PTSD in humans [Langdon et al., 2016; Sullivan and Holt, 2008]. As the trauma is the primary cause of PTSD, a question usually arises as to whether a prior exposure to a drug of abuse induces a vulnerability to the trauma [Gulick and Gould, 2007; Wood et al., 2007]. In the present study, we found no evidence of a specific shock vulnerability in mice sensitized to ethanol. Indeed, in all three subexperiments, there were no significant freezing increase after the electrical shock in ethanol sensitized mice relative to the control groups. This is in agreement with previously published studies showing no effect of prior ethanol exposure on freezing behaviors immediately after a footshock [Gulick and Gould, 2007; Wood et al., 2007; Bertotto et al., 2006]. Similarly, other studies reported that ethanol self-administration did not modulate the acquisition of stress in an animal model of PTSD [Edwards et al., 2013].

In the present study, a prior exposure to an ethanol-induced locomotor sensitization procedure induced freezing behaviors when mice were tested up to one month after the last ethanol administration. This effect was already observable before the administration of the electrical shock and suggests that the ethanol sensitization procedure is in itself a stressful experience. It is unknown whether the mechanisms by which ethanol sensitization induces freezing behaviors are similar to those by which PTSDLC induces sensitized and conditioned fear. Previous studies indicated that ethanol sensitization also induced cross-sensitization with stress [Didone et al., 2008; Stevenson et al., 2008] and that repeated ethanol administration activated the physiological mechanisms of stress [Uhl et al., 2019; Roberto et al., 2017]. It is therefore tempting to conclude that similar mechanisms to those of PTSDLC are in action. The increased freezing behaviors in ethanol sensitized mice clearly look like an expression of sensitized fear or anxiety. It might be suggested that the freezing behaviors in ethanol sensitized mice is a consequence of ethanol withdrawal, as ethanol withdrawal exerts anxiogenic

effects [Bertotto et al., 2006]. However, this is highly unlikely since in the present study freezing behaviors in ethanol sensitized mice are observable long after the end of the acute withdrawal period. Indeed, in rodents, the effects of ethanol withdrawal lasts less than three days [Quiñones-Laracuenta et al., 2015].

The present results suggest that chronic ethanol intake has an additive rather than interactive effect with the experience of PTSD. This additive effect may explain the results of human studies showing that ethanol intake increases PTSDLC symptoms. Indeed in human studies, almost by definition, PTSD symptoms are tested only in patients who have experienced a traumatic event. Therefore in these patients, the stress/fear sensitizing effects of ethanol could explain why PTSD is more severe in people suffering from both PTSD and alcohol use relative to those who suffer from PTSD alone [Langdon et al., 2016; Sullivan and Holt, 2008]. This additive effect of chronic ethanol intake could also explain why a combined treatment for both PTSD and alcohol use disorder is better than PTSD treatment alone [Anderson et al., 2018; Wielchelt et al., 2011]. Furthermore, the persistence of stress behaviors induced by chronic ethanol, long after the last exposure, could mimic the hyperarousal symptoms observed long after ethanol withdrawal in patients suffering from alcohol use disorders [Saladin et al., 1995].

9.4.2. Ethanol sensitization interposed between the acquisition and expression of PTSDLC

The procedure of the second experiment provided the opportunity to assess the effects of a prior electric footshock on the acquisition and expression of ethanol-induced locomotor sensitization. However, in contrast to our previous study [Matonda et al., 2019], in the present study only the electrical shock was implemented before ethanol sensitization, whereas PTSDLC symptoms were tested after the sensitization procedure. A major difference relative to that previous study is therefore that mice handling and testing before ethanol sensitization were significantly reduced.

In agreement with previous studies, the present results show that a prior electrical shock reduced locomotor activity in mice [Eagle et al., 2015]. Particularly in mice that were not exposed to an ethanol sensitizing dose (i.e. saline and 1.0 g/kg ethanol), this effect of the electric shock persisted during the entire ethanol-induced locomotor sensitization procedure. A previous study with cocaine found similar

results during the habituation session and the acute cocaine session [Eagle et al., 2015]. However, it is remarkable that this effect was not observed in mice exposed to the sensitizing 2 g/kg dose of ethanol. In contrast, in this group of mice, the prior electrical shock seemed to increase the stimulant effects of ethanol on the acute session.

At first glance, the present results seem to be in contradiction with those of our previous study in which a higher mean ethanol sensitization was observed in shock mice relative to non-shocked mice [Matonda et al., 2019]. However, in this latter study, this effect was due to a significantly reduced expression of ethanol sensitization in non-shocked mice that we suggested was due to the overhandling of mice. Indeed, in Matonda et al. (2019), all PTSDLC symptoms were tested before the ethanol sensitization procedure, which led to an unusually high handling of mice. Furthermore, several previous studies showed that handling prevents ethanol locomotor sensitization in mice [Garcia et al., 2017; Didone et al., 2016a] and that stress prevents the habituation effect induced by handling [Covington and Mickzecz, 2005]. In contrast, in the present experiment, mice were only exposed to the electrical shock before the ethanol sensitization procedure. Therefore, the present results indicate that a traumatic event does not directly affect ethanol sensitization, although it might overcome the effects of some preventing factors. In contrast, Matchynski-Franks et al. (2016) found that a single prolonged stress blunted ethanol-induced locomotor sensitization. However, these authors used C57BL/6 mice which are known to be resistant or at least a poor strain to test for ethanol-induced locomotor sensitization [Boehm II et al., 2008; Matthews et al., 2008].

In the second experiment, ethanol-induced locomotor sensitization did not modulate the expression of PTSDLC. This confirms the results of the first experiment of the present study. Again, this experiment shows that chronic exposure to ethanol, for both sensitizing and non-sensitizing doses, induces freezing when mice were tested for sensitized fear in a new context. However, the chronic exposure to ethanol failed to induce freezing on the conditioned fear session. In fact, on the conditioned session, there were no significant differences in freezing between all groups including the shocked mice. It might be suggested that conditioned fear was prevented by the combining effect of socialization, when the mice were pair-housed, and high handling during the ethanol-induced locomotor sensitization procedure which took place between the shock experience and the testing of conditioned fear. It is known that those two factors reduce stress behaviors in rodent. In the new context an additional stimulus, the neutral sound, was necessary for the expression of freezing behaviors induced by both

the electric footshock and the chronic exposure to ethanol. Together these results have methodological implications as they indicate that repeated handling of mice between the traumatic event and the assessment of symptoms should be avoided in animal models of PTSD.

9.5. Conclusion

The present study showed that ethanol sensitization does not directly modulate the effects of PTSDLC in a rodent model with an electrical footshock. However, ethanol sensitization significantly increased fear behaviors as assessed by freezing time. As a result, mice submitted to both ethanol sensitization and the electrical shock expressed the highest levels of freezing. This suggests that chronic ethanol has an additive rather than interactive effect with the experience of PTSD. This additive effect may explain the results of human studies showing that ethanol intake increases PTSDLC symptoms. Furthermore, the results of the present study indicate that the effects of ethanol sensitization on freezing behaviors last up to one month after the last ethanol administration. Finally, similar effects of ethanol sensitization on the expression of PTSDLC symptoms are observed when the traumatic event is experienced before or after the sensitization procedure.

References

1. Tripp JC, Worley MJ, Straus E, Angkaw AC, Trim RS, Norman SB. Bidirectional relationship of posttraumatic stress disorder (PTSD) symptom severity and alcohol use over the course of integrated treatment. *Psychol Addict Behav.* 2020;34(4):506-511. doi: 10.1037/adb0000564.
2. Witkiewitz K, Stein ER, Votaw VR, Wilson AD, Roos CR, Gallegos SJ, Clark VP, Claus ED. Mindfulness-Based Relapse Prevention and Transcranial Direct Current Stimulation to Reduce Heavy Drinking: A Double-Blind Sham-Controlled Randomized Trial. *Alcohol Clin Exp Res.* 2019;43(6):1296-1307. doi: 10.1111/acer.140533.
3. Quiñones-Laracuenta K, Hernández-Rodríguez MY, Bravo-Rivera C, Melendez RI, Quirk GJ. The effect of repeated exposure to ethanol on pre-existing fear memories in rats. *Psychopharmacology (Berl).* 2015;232(19):3615-22. doi: 10.1007/s00213-015-4016-9.
4. Edwards S, Baynes BB, Carmichael CY, Zamora-Martinez ER, Barrus M, Koob GF, Gilpin NW. Traumatic stress reactivity promotes excessive alcohol drinking and alters the balance of prefrontal cortex-amygdala activity. *Transl Psychiatry.* 2013;3:e296. doi: 10.1038/tp.2013.70.

5. American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th ed. Arlington (Virginia), American Psychiatric Publishing, 2013.
6. Bedard-Gilligan M, Garcia N, Zoellner LA, Feeny NC. Alcohol, cannabis, and other drug use: Engagement and outcome in PTSD treatment. *Psychol Addict Behav*. 2018;32(3):277-288. doi: 10.1037/adb0000355.
7. Langdon KJ, Fox AB, King LA, King DW, Eisen S, Vogt D. Examination of the dynamic interplay between posttraumatic stress symptoms and alcohol misuse among combat-exposed Operation Enduring Freedom (OEF)/Operation Iraqi Freedom (OIF) Veterans. *J Affect Disord*. 2016;196:234-42. doi: 10.1016/j.jad.2016.02.048.
8. Sullivan TP, Holt LJ. PTSD symptom clusters are differentially related to substance use among community women exposed to intimate partner violence. *J Trauma Stress*. 2008;21(2):173-80. doi: 10.1002/jts.20318.
9. Ruglass LM, Shevorykin A, Brezing C, Hu MC, Hien DA. Demographic and clinical characteristics of treatment seeking women with full and subthreshold PTSD and concurrent cannabis and cocaine use disorders. *J Subst Abuse Treat*. 2017;80:45-51. doi: 10.1016/j.jsat.2017.06.007.
10. Tull MT, Gratz KL, Aklin WM, Lejuez CW. A preliminary examination of the relationships between posttraumatic stress symptoms and crack/cocaine, heroin, and alcohol dependence. *J Anxiety Disord*. 2010;24(1):55-62. doi: 10.1016/j.janxdis.2009.08.006.
11. Saladin ME, Brady KT, Dansky BS, Kilpatrick DG. Understanding comorbidity between PTSD and substance use disorders: two preliminary investigations. *Addict Behav*. 1995;20(5):643-55. doi: 10.1016/0306-4603(95)00024-7.
12. Hasin DS, Grant BF. The National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions (NESARC) Waves 1 and 2: review and summary of findings. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol*. 2015;50(11):1609-40. doi: 10.1007/s00127-015-1088-0.
13. Afful SE, Strickland JR, Cottler L, Bierut LJ. Exposure to trauma: a comparison of cocaine-dependent cases and a community-matched sample. *Drug Alcohol Depend*. 2010;112(1-2):46-53. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2010.05.012.
14. Didone V, Quoilin C, Dieupart J, Tirelli E, Quertemont E. Differential effects of context on psychomotor sensitization to ethanol and cocaine. *Behav Pharmacol*. 2016;27(2-3 Spec Issue):173-81. doi: 10.1097/FBP.0000000000000161.
15. Robinson TE, Berridge KC. The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Res Brain Res Rev*. 1993;18(3):247-91. doi: 10.1016/0165-0173(93)90013-P.

16. Siegmund A, Wotjak CT. A mouse model of posttraumatic stress disorder that distinguishes between conditioned and sensitised fear. *J Psychiatr Res.* 2007;41(10):848-60. doi: 10.1016/j.jpsychires.2006.07.017.
17. Gulick D, Gould TJ. Acute ethanol has biphasic effects on short- and long-term memory in both foreground and background contextual fear conditioning in C57BL/6 mice. *Alcohol Clin Exp Res.* 2007;31(9):1528-37.
18. Bertotto ME, Bustos SG, Molina VA, Martijena ID. Influence of ethanol withdrawal on fear memory: Effect of D-cycloserine. *Neuroscience.* 2006 Nov 3;142(4):979-90. B
19. Lisieski MJ, Perrine SA. Binge-pattern cocaine administration causes long-lasting behavioral hyperarousal but does not enhance vulnerability to single prolonged stress in rats. *Psychiatry Res.* 2017;257:95-101. doi: 10.1016/j.psychres.2017.07.026.
20. Matonda-Ma-Nzuzi T, Didone V, Seutin V, Tirelli E, Quertemont E. Investigating the reciprocal relationships between locomotor sensitization to ethanol and PTSD-like clusters in DBA/2J mice. *Behav Brain Res.* 2019;368:111909. doi: 10.1016/j.bbr.2019.111909.
21. Seo JY, Ko YH, Ma SX, Lee BR, Lee SY, Jang CG. Repeated restraint stress reduces the acquisition and relapse of methamphetamine-conditioned place preference but not behavioral sensitization. *Brain Res Bull.* 2018;139:99-104. doi: 10.1016/j.brainresbull. 2018.01.018.
22. Quadros IM, Miczek KA. Two modes of intense cocaine bingeing: increased persistence after social defeat stress and increased rate of intake due to extended access conditions in rats. *Psychopharmacology (Berl).* 2009;206(1):109-20. doi: 10.1007/s00213-009-1584-6.
23. Garcia EJ, Haddon TN, Saucier DA, Cain ME. Differential housing and novelty response: Protection and risk from locomotor sensitization. *Pharmacol Biochem Behav.* 2017;154:20–30. doi: 10.1016/j.pbb.2017.01.004.
24. Covington HE 3rd, Miczek KA. Intense cocaine self-administration after episodic social defeat stress, but not after aggressive behavior: dissociation from corticosterone activation. *Psychopharmacology (Berl).* 2005;183(3):331-40
25. Didone V, Quoilin C, Tirelli E, Quertemont E. Parametric analysis of the development and expression of ethanol-induced behavioral sensitization in female Swiss mice: effects of dose, injection schedule, and test context, *Psychopharmacology (Berl.)* 2008;201(2):249-60. doi: 10.1007/s00213-008-1266-9.

26. Siegmund A, Dahlhoff M, Habersetzer U, Mederer A, Wolf E, Holsboer F, Wotjak CT. Maternal inexperience as a risk factor of innate fear and PTSD-like symptoms in mice, *J Psychiatr Res.* 2009;43(14):1156-65. doi: 10.1016/j.jpsychires.2009.02.003.
27. Siegmund A, Wotjak CT. Hyperarousal does not depend on trauma-related contextual memory in an animal model of Posttraumatic Stress Disorder. *Physiol Behav.* 2007;90(1):103-7. doi: 10.1016/j.physbeh.2006.08.032.
28. Wood SC, Fay J, Sage JR, Anagnostaras SG. Cocaine and Pavlovian fear conditioning: dose-effect analysis. *Behav Brain Res.* 2007;176(2):244-50.
29. Uhl GR, Koob GF, Cable J. The neurobiology of addiction. *Ann N Y Acad Sci.* 2019;1451(1):5-28. doi: 10.1111/nyas.13989
30. Roberto M, Spierling SR, Kirson D, Zorrilla EP. Corticotropin-Releasing Factor (CRF) and Addictive Behaviors. *Int Rev Neurobiol.* 2017;136:5-51. doi: 10.1016/bs.irn.2017.06.004.
31. Anderson EM, Larson EB, Guzman D, Wissman AM, Neve RL, Nestler EJ, Self DW. Overexpression of the Histone Dimethyltransferase G9a in Nucleus Accumbens Shell Increases Cocaine Self-Administration, Stress-Induced Reinstatement, and Anxiety. *J Neurosci.* 2018;38(4):803-813. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1657-17.2017.
32. Wiechelt SA, Miller BA, Smyth NJ, Maguin E. Associations between post-traumatic stress disorder symptoms and alcohol and other drug problems: Implications for social work practice. *Practice (Birm).* 2011;23(4):183-199. doi:10.1080/09503153.2011.597200.
33. Eagle AL, Singh R, Kohler RJ, Friedman AL, Liebowitz CP, Galloway MP, Enman NM, Jutkiewicz EM, Perrine SA. Single prolonged stress effects on sensitization to cocaine and cocaine self-administration in rats. *Behav Brain Res.* 2015;284:218-24. doi: 10.1016/j.bbr.2015.02.027.
34. Matchynski-Franks JJ, Susick LL, Schneider BL, Perrine SA, Conti AC. Impaired Ethanol-Induced Sensitization and Decreased Cannabinoid Receptor-1 in a Model of Posttraumatic Stress Disorder. *PLoS One.* 2016;11(5):e0155759. doi: 10.1371/journal.pone.0155759.
35. Boehm SL 2nd, Goldfarb KJ, Serio KM, Moore EM, Linsenbardt DN. Does context influence the duration of locomotor sensitization to ethanol in female DBA/2J mice? *Psychopharmacology (Berl).* 2008;197(2):191-201. doi: 10.1007/s00213-007-1022-6.
36. Matthews DB, Morrow AL, O'Buckley T, Flanigan TJ, Berry RB, Cook MN, Mittleman G, Goldowitz D, Tokunaga S, Silvers JM. Acute mild footshock alters ethanol drinking and plasma corticosterone levels in C57BL/6J male mice, but not DBA/2J or A/J male mice. *Alcohol.* 2008;42(6):469-76. doi: 10.1016/j.alcohol.2008.05.001.

37. Eagle AL, Perrine SA. Methamphetamine-induced behavioral sensitization in a rodent model of posttraumatic stress disorder. *Drug Alcohol Depend.* 2013;131(1-2):36-43. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2013.04.001.
38. Brabant C, Guarnieri DJ, Quertemont E. Stimulant and motivational effects of alcohol: Lessons from rodent and primate models. *Pharmacol Biochem Behav.* 2014;122:37-52. doi: 10.1016/j.pbb.2014.03.006.
39. Robinson TE, Berridge E, KC. The incentive sensitization theory of addiction: some current issues. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2008;363(1507): 3137–3146.
40. Martin LJ, Zurek AA, Bonin RP, Oh GH, Kim JH, Mount HT, Orser BA. The sedative but not the memory-blocking properties of ethanol are modulated by $\alpha 5$ -subunit-containing γ -aminobutyric acid type A receptors. *Behav Brain Res.* 2011;217(2):379-85. doi: 10.1016/j.bbr.2010.11.008.

Figures

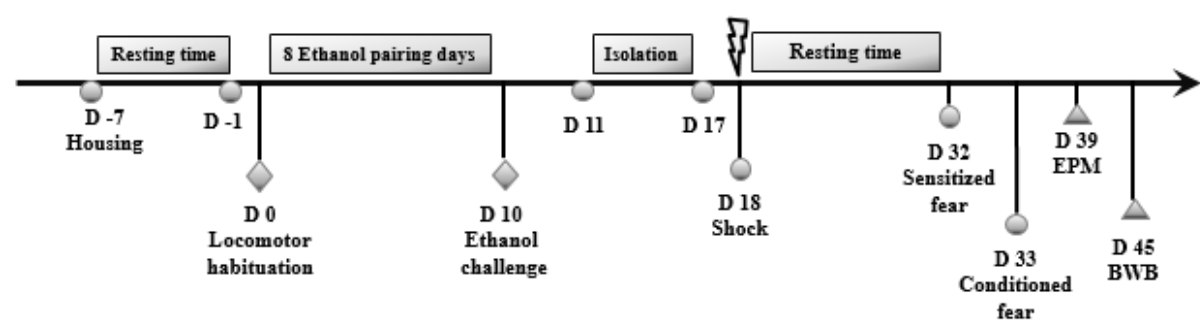


Figure 9.1. Schedule of experiment 1a. D = day. EPM = Elevated plus maze. BWB = Black and white box.

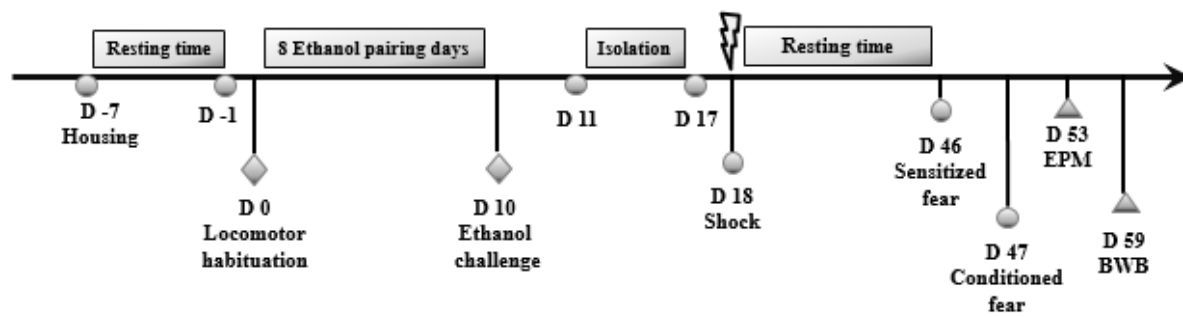


Figure 9.2. Schedule of experiment 1b. D = day. EPM = Elevated plus maze. BWB = Black and white box.

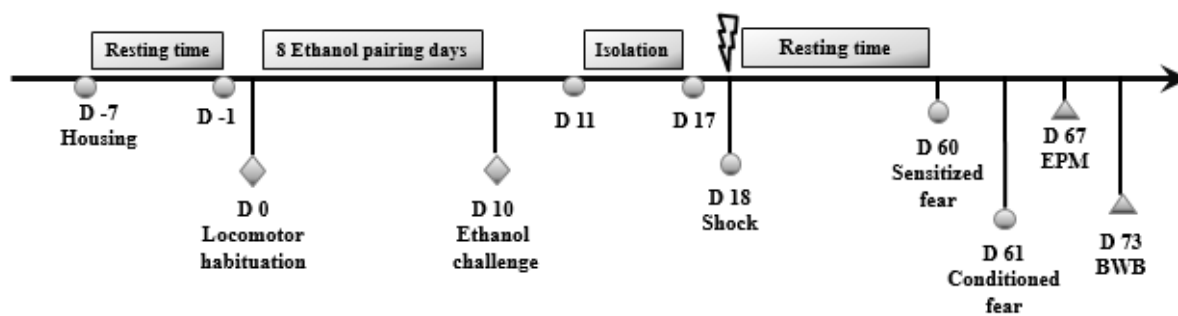


Figure 9.3. Schedule of experiment 1c. D = day. EPM = Elevated plus maze. BWB = Black and white box.

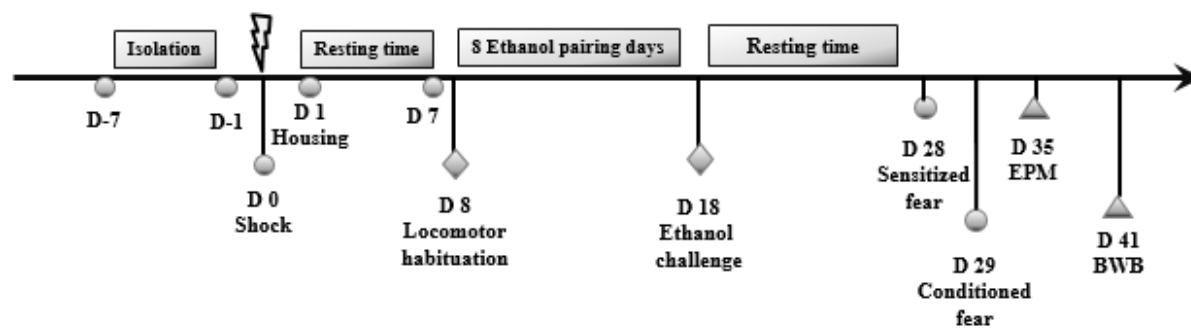


Figure 9.4. Schedule of experiment 2. D = day. EPM = Elevated plus maze. BWB = Black and white box.

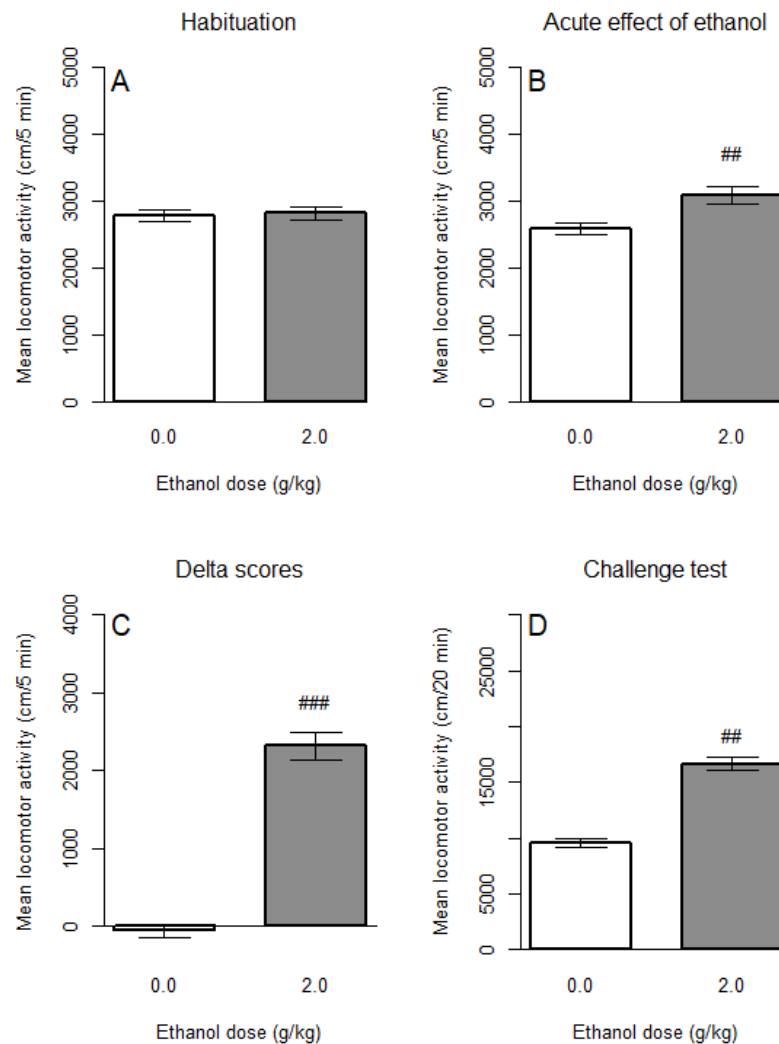


Figure 9.5. Locomotor activity (Mean \pm SEM) on the various sessions of the ethanol sensitization procedure in experiment 1. The horizontal axis shows the experimental groups with their specific chronic treatment starting on the first ethanol pairing day. (A) Habituation session. All mice were injected with saline. (B) Acute session (first ethanol pairing session) at which mice started to receive their chronic treatment. (C) Delta scores calculated as the difference between locomotor activity on the first five minutes of the challenge session and on the acute session. (D) Ethanol sensitized locomotor activity during the 20 min challenge session. Mice were injected with their assigned chronic treatment, i.e. saline or 2 g/kg ethanol.

$p < 0.001$ relative to the saline control group.

$p < 0.001$ relative to the saline control group.

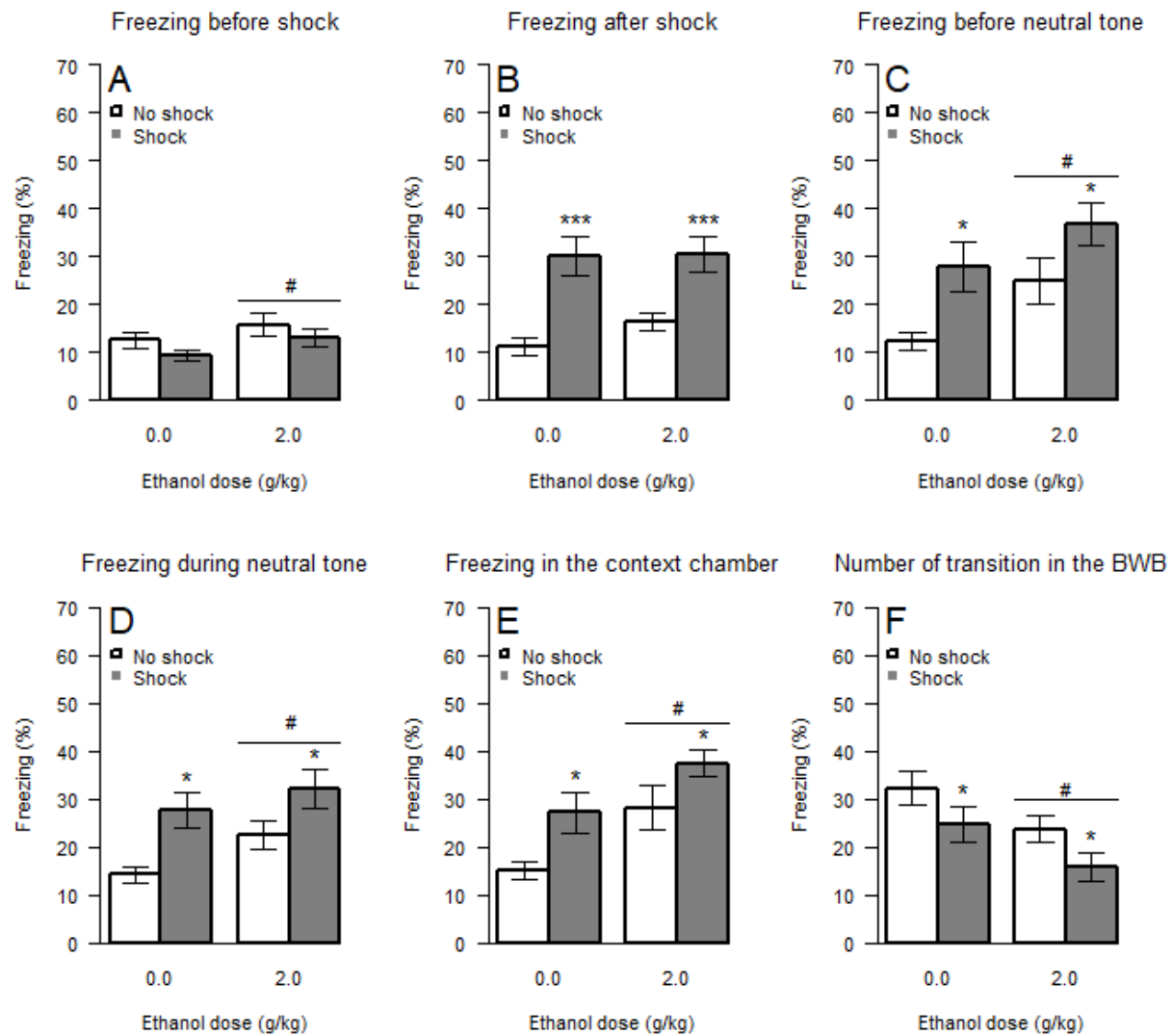


Figure 9.6. Post-traumatic stress disorder like condition clusters after ethanol sensitization in experiment 1.a. The horizontal axis shows the experimental groups with their specific chronic treatment during the ethanol sensitization procedure. (A) Percentage freezing time (mean \pm SEM) before the electric footshock on the shock session. (B) Percentage freezing time (mean \pm SEM) after the electric footshock on the shock session. (C) Percentage freezing time (mean \pm SEM) before the neutral tone on the sensitized fear test session. (D) Percentage freezing time (mean \pm SEM) during the neutral tone on the sensitized fear test session. (E) Percentage freezing time (mean \pm SEM) in the context chamber on the conditioned fear session. (E) Number of transition (mean \pm SEM) between the BWB boxes.

* $p < 0.05$ relative to non-shocked mice based on the significant main effect.

*** $p < 0.001$ relative to non-shocked mice based on the significant main effect.

$p < 0.05$ relative to saline mice based on the significant main effect.

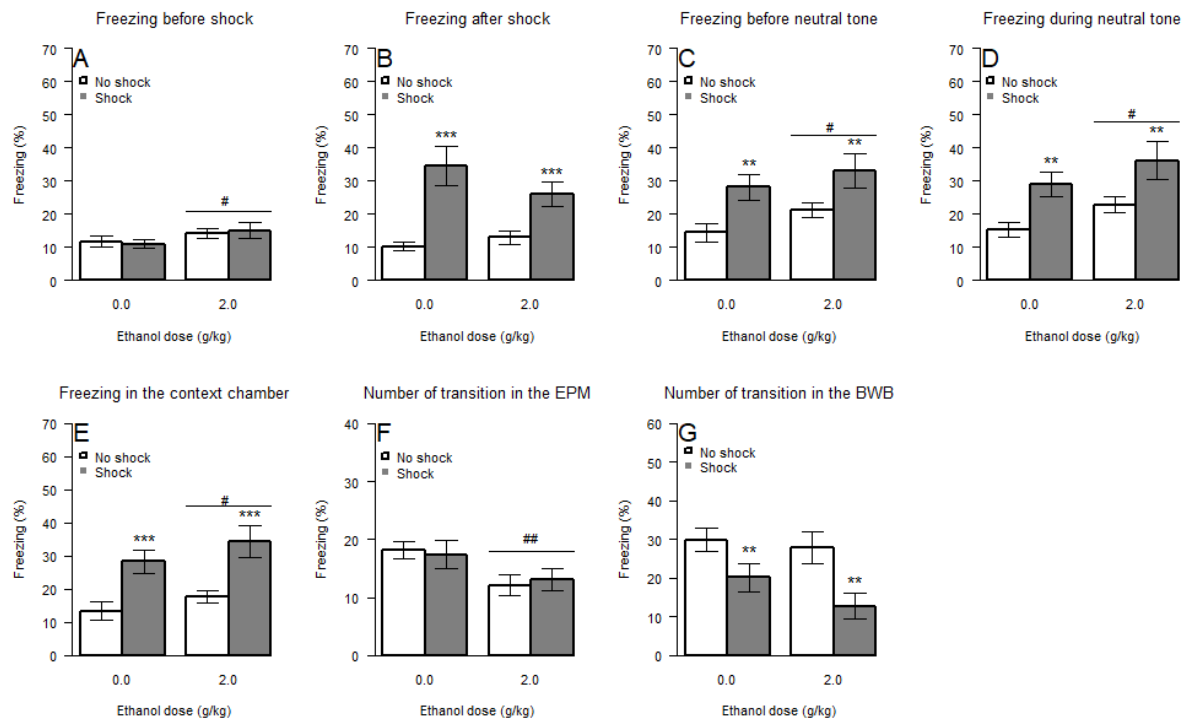


Figure 9.7. Post-traumatic stress disorder like condition clusters after ethanol sensitization in experiment 1.b. The horizontal axis shows the experimental groups with their specific chronic treatment during the ethanol sensitization procedure. (A) Percentage freezing time (mean \pm SEM) before the electric footshock on the shock session. (B) Percentage freezing time (mean \pm SEM) after the electric footshock on the shock session. (C) Percentage freezing time (mean \pm SEM) before the neutral tone on the sensitized fear test session. (D) Percentage freezing time (mean \pm SEM) during the neutral tone on the sensitized fear test session. (E) Percentage freezing time (mean \pm SEM) in the context chamber on the conditioned fear session. (E) Number of transition (mean \pm SEM) between the BWB boxes. (F) Number of transition (mean \pm SEM) between the EPM arms.

** $p < 0.01$ relative to non-shocked mice based on the significant main effect.

*** $p < 0.001$ relative to non-shocked mice based on the significant main effect.

$p < 0.05$ relative to saline mice based on the significant main effect.

$p < 0.01$ relative to saline mice based on the significant main effect.

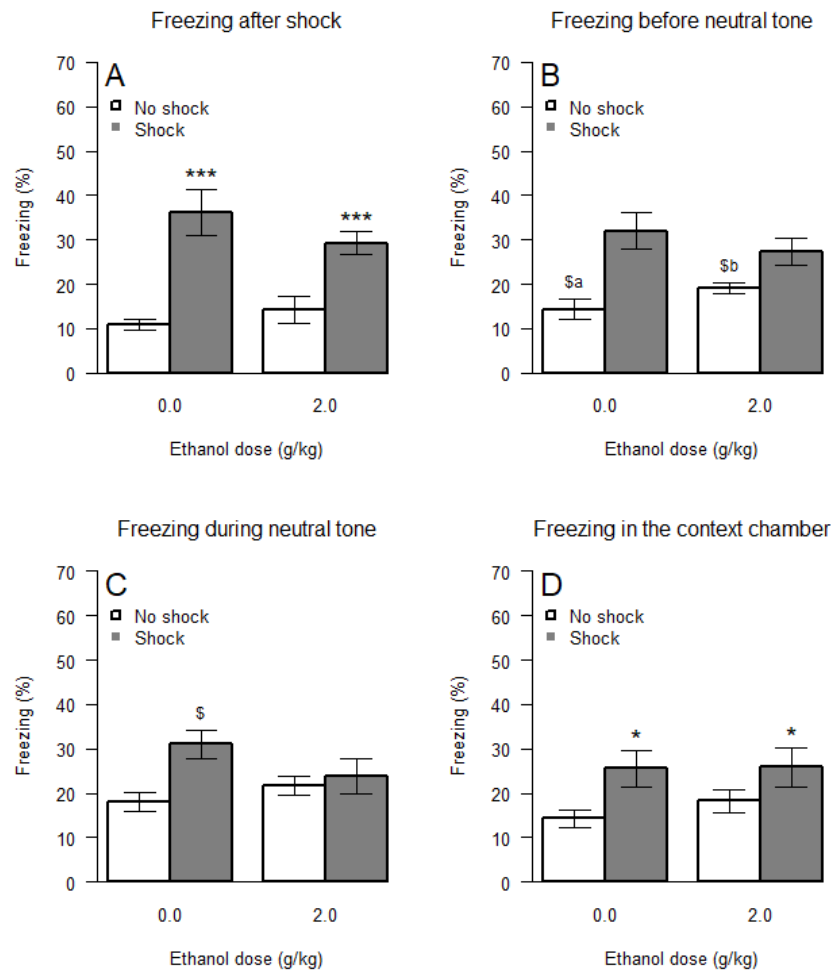


Figure 9.8. Post-traumatic stress disorder like condition clusters after ethanol sensitization in experiment 1.c. The horizontal axis shows the experimental groups with their specific chronic treatment during the ethanol sensitization procedure. (A) Percentage freezing time (mean ± SEM) after the electric footshock on the shock session. (B) Percentage freezing time (mean ± SEM) before the neutral tone on the sensitized fear test session. (C) Percentage freezing time (mean ± SEM) during the neutral tone on the sensitized fear test session. (D) Percentage freezing time (mean ± SEM) in the context chamber on the conditioned fear session.

* $p < 0.01$ relative to non-shocked mice based on the significant main effect.

*** $p < 0.001$ relative to non-shocked mice based on the significant main effect.

\$a $p < 0.05$ relative to all other groups.

\$b $p < 0.05$ relative to the two shocked groups.

\$ $p < 0.05$ relative to the saline control group.

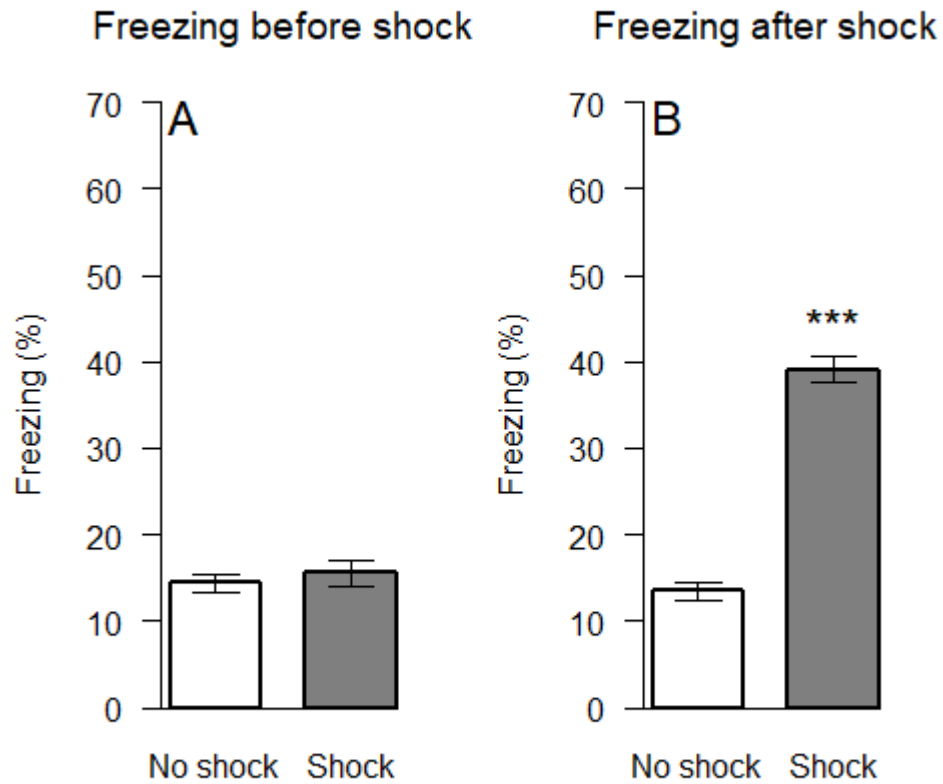


Figure 9.9. Post-traumatic stress disorder like condition clusters in experiment 2. (A) Percentage freezing time (mean \pm SEM) before the electric footshock on the shock session. (B) Percentage freezing time (mean \pm SEM) after the electric footshock on the shock session.

***: $p < 0.001$ relative to the non-shocked group.

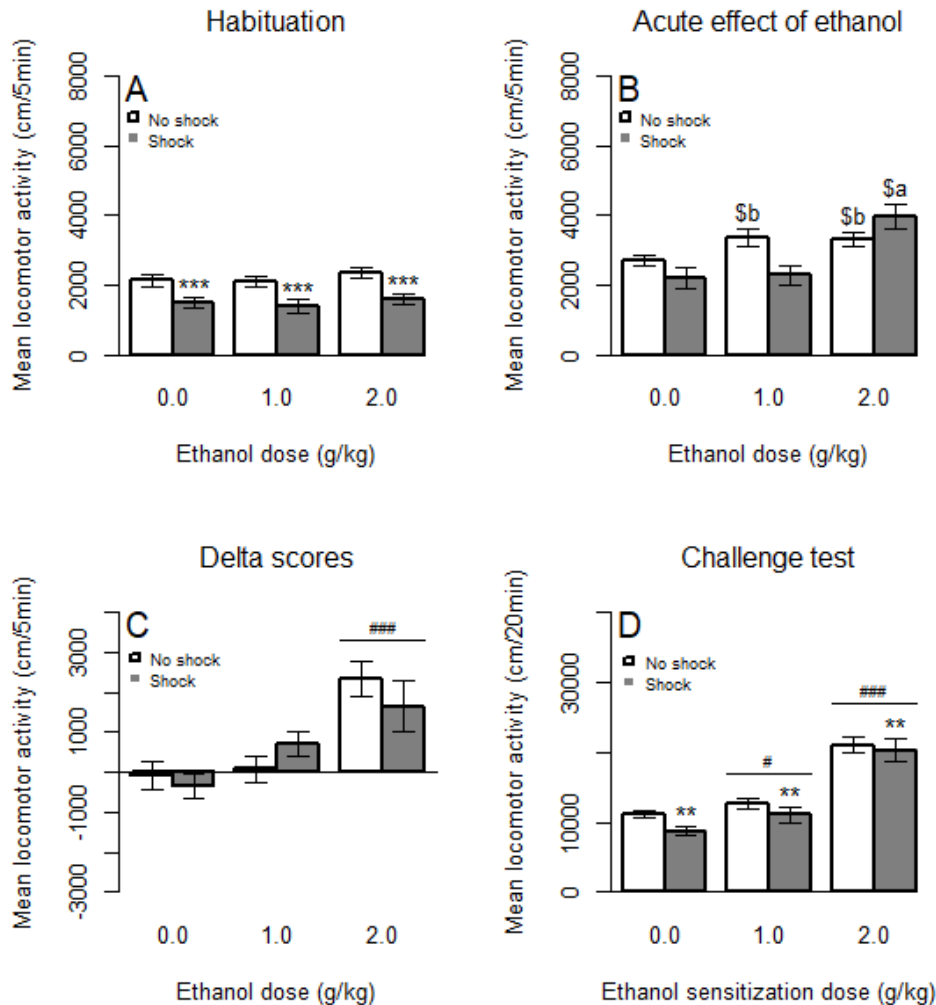


Figure 9.10. Locomotor activity (Mean \pm SEM) on the various sessions of the ethanol sensitization procedure in experiment 2. The horizontal axis shows the experimental groups with their specific chronic treatment starting on the first ethanol pairing day. (A) Habituation session. All mice were injected with saline. (B) Acute session (first ethanol pairing session) at which mice started to receive their chronic treatment. (C) Delta scores calculated as the difference between locomotor activity on the first five minutes of the challenge session and on the acute session. (D) Ethanol sensitized locomotor activity during the 20 min challenge session. Mice were injected with their assigned chronic treatment, i.e. saline, 1 g/kg or 2 g/kg ethanol.

** $p < 0.01$ relative to non-shocked mice based on the significant main effect.

*** $p < 0.001$ relative to non-shocked mice based on the significant main effect.

\$_a $p < 0.05$ relative to the ethanol 1g/kg shocked mice and the both saline groups.

\$_b $p < 0.05$ relative to the saline and ethanol 1 g/kg schocked groups.

$p < 0.05$ relative to the saline control group tested on the main effect of the ethanol dose.

$p < 0.001$ relative to the saline control group tested on the main effect of the ethanol dose.

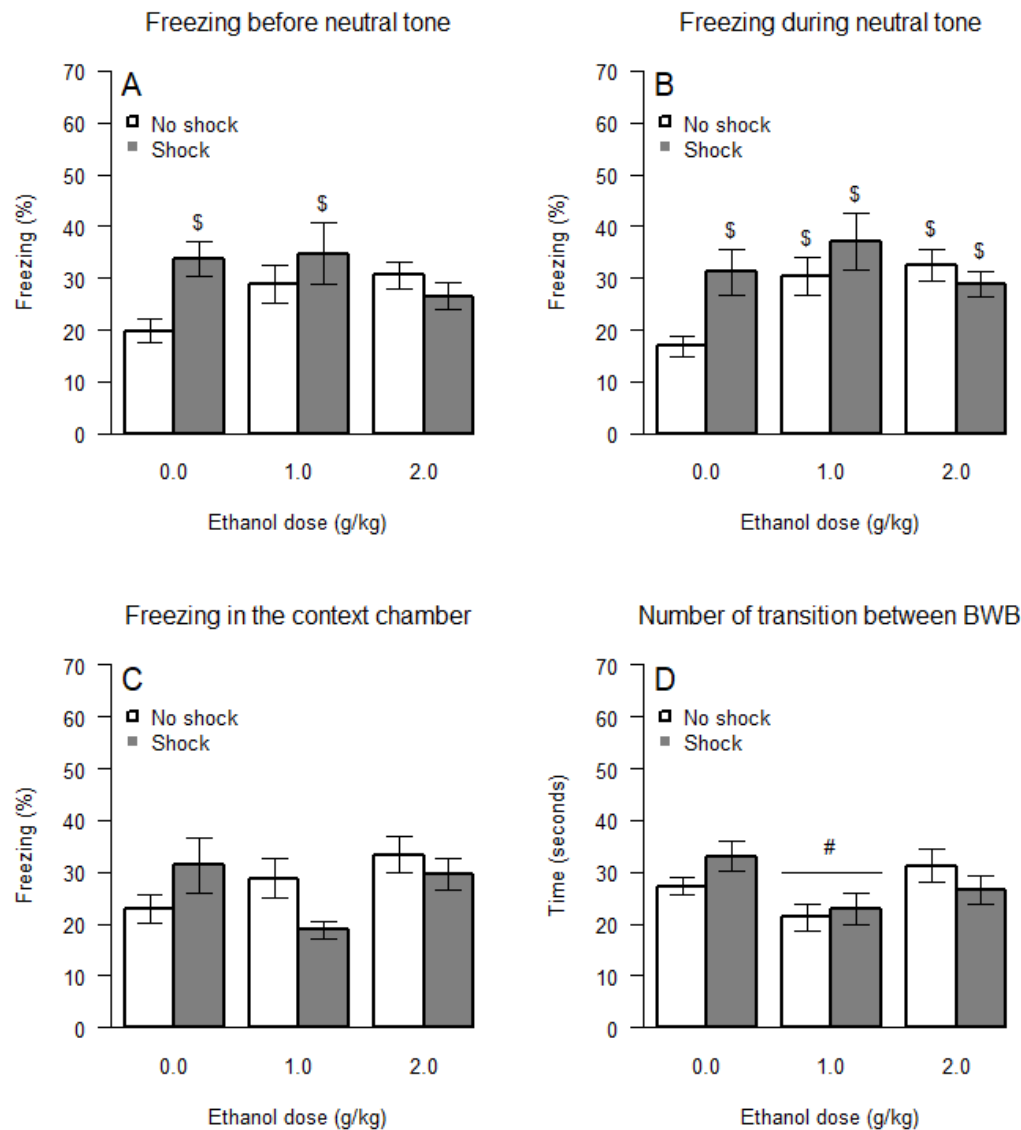


Figure 9.11. Post-traumatic stress disorder like condition clusters expression after ethanol sensitization in experiment 2. The horizontal axis shows the experimental groups with their specific chronic treatment during the ethanol sensitization procedure. (A) Percentage freezing time (mean \pm SEM) before the neutral tone on the sensitized fear test session. (B) Percentage freezing time (mean \pm SEM) during the neutral tone on the sensitized fear test session. (C) Percentage freezing time (mean \pm SEM) in the context chamber on the conditioned fear session. (D) Number of transition (mean \pm SEM) between the BWB boxes.

\$ $p < 0.05$ relative to the saline non-shocked group.

$p < 0.05$ relative to the other groups based on the ethanol main effect.

Chapitre 10

Discussion générale

10.1. Introduction

La présente thèse expérimentale s'est intéressée aux relations entre l'addiction aux drogues et le TSPT. En effet, la relation de causalité entre ces deux conditions a très longtemps été au centre des préoccupations sur la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues. La théorie prédominante de l'automédication stipule que les personnes souffrant du TSPT consomment des drogues afin de soigner leurs symptômes. Néanmoins cette théorie n'explique pas les mécanismes neurobiologiques par lesquels le TSPT module le passage de la consommation récréative à l'addiction aux drogues. D'autre part, durant la dernière décade du vingtième siècle, différents auteurs ont commencé à observer chez des personnes souffrant de cette comorbidité que l'expression du TSPT et de ses symptômes variait avec la nature des drogues. Les limitations méthodologiques et éthiques auxquelles sont confrontées les études humaines rendent nécessaire la réalisation d'études animales. Ainsi la présente étude animale s'est penchée sur les deux problématiques susmentionnées. Elle est originale en ce qu'elle tient compte de tous les clusters diagnostics du TSPT. Et d'autre part, elle fait partie des rares études à analyser l'influence d'un modèle animal de TSPT sur la sensibilisation locomotrice des effets stimulants des drogues. Par une procédure séquentielle, cette thèse a analysé l'influence d'un modèle animal de TSPT induit par un choc électrique sur la sensibilisation locomotrice induite par des drogues et réciproquement. Les drogues ayant des spécificités différentes, et tenant compte des contraintes financières, nous avons utilisé, pour la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de drogues, l'éthanol et la cocaïne, deux substances parmi les plus consommées par les personnes souffrant de la comorbidité avec le TSPT. Plutôt que de reprendre les discussions faites dans les chapitres 7 à 9, ce chapitre fait un résumé succinct et une analyse transversale des résultats observés.

10.2. Résumé succinct des résultats

10.2.1. Étude 1 : Investigating the reciprocal relationships between locomotor sensitization to ethanol and PTSD-like clusters in DBA/2J mice

10.2.1.1. Objectifs

Cette première étude (chapitre 7), avait deux objectifs. Le premier était d'évaluer si un modèle animal du TSPT induit par un choc électrique modulait le développement et/ou l'expression de la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de l'éthanol induite par une administration répétée (8 expositions) d'éthanol. Et plus précisément, si le TSPT pouvait induire le développement et/ou l'expression de la sensibilisation locomotrice avec une dose d'éthanol qui habituellement ne le permet pas. La dose minimum d'éthanol pouvant induire une sensibilisation locomotrice dans des conditions normales étant de 1,5 g/kg chez les souris DBA/2J, nous avons utilisé une dose non sensibilisante de 1 g/kg, une dose sensibilisante de 2 g/kg (contrôle positif) et une solution saline (contrôle négatif).

Le second objectif de cette étude était d'évaluer si la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de l'éthanol modulait l'expression des clusters d'un modèle animal du TSPT induit par un choc électrique. Afin de vérifier l'influence de la sensibilisation nous avons utilisé deux doses d'éthanol, l'une (2 g/kg) induisant une sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de l'éthanol, l'autre n'induisant pas une sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de l'éthanol (1 g/kg).

10.2.1.2. Résultats

Dans la première expérience de cette étude, la procédure du modèle animal du TSPT induit par un choc électrique a précédé la procédure de la sensibilisation aux effets stimulants de l'éthanol. L'expérience testant l'effet modulateur d'un modèle animal du TSPT induit par un choc électrique sur la sensibilisation locomotrice à l'éthanol a conduit à deux observations. Les souris TSPT qui avaient reçu la dose de 1 g/kg, à l'instar de leurs contrôles, n'avaient ni développé ni exprimé une sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de l'éthanol. Notre hypothèse selon laquelle un modèle animal de TSPT pouvait induire une sensibilisation locomotrice à l'éthanol à la dose non

sensibilisante de 1 g/kg est donc réfutée. Néanmoins, cette expérience a permis l'observation d'un résultat inattendu. Les souris TSPT qui avaient reçu la dose de 2 g/kg d'éthanol, contrairement à leurs souris contrôles, avaient développé et exprimé une sensibilisation locomotrice.

Dans la seconde expérience de cette étude, la procédure de la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de l'éthanol avait précédé celle du modèle animal du TSPT induit par un choc électrique. Cette expérience a montré que la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de l'éthanol modulait l'expression de la peur sensibilisée. En effet, 35 jours après la dernière séance d'injections d'éthanol, les souris TSPT qui avaient été chroniquement exposées à la dose sensibilisante d'éthanol (2 g/kg) présentaient une peur sensibilisée plus intense que celle des souris TSPT qui avaient reçu du sérum salin. Les souris TSPT recevant la dose non sensibilisante de 1 g/kg ont constitué un groupe intermédiaire entre les deux autres groupes avec lesquels ce groupe n'a pas présenté de différences statistiquement significatives.

10.2.2. Étude 2 : Investigating the bidirectional relationship between cocaine-induced locomotor sensitization and posttraumatic stress disorder-like in DBA/2J mice

10.2.2.1. Objectifs

La deuxième étude (chapitre 8) avait trois objectifs. La première expérience de cette étude avait comme objectif principal d'évaluer si un modèle animal de TSPT induit par un choc électrique modulait le développement et/ou l'expression d'une sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de la cocaïne (15 mg/kg). Et subsidiairement au cours de la même expérience, un deuxième objectif testé était de vérifier si les nombreuses manipulations des souris au cours de la procédure du modèle animal du TSPT induit par un choc électrique pouvaient avoir une influence sur le développement et/ou l'expression de la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de la cocaïne. Dans ce but, après l'exposition à un choc électrique, la moitié des souris choquées n'ont été testées que pour la peur conditionnée de manière à réduire significativement le nombre et la durée des manipulations subies par ces animaux. Toutes les souris ont ensuite subi la procédure de la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de la cocaïne.

La seconde expérience de cette étude avait pour objectif d'évaluer si la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de la cocaïne modulait l'expression d'un modèle animal du TSPT induit par un choc électrique. Cette expérience a également cherché à vérifier si cette éventuelle influence de la sensibilisation locomotrice aux effets stimulant de la cocaïne était de type dose-dépendante. Ainsi deux doses de cocaïne (7,5 mg/kg et 15 mg/kg) ont été utilisées pour induire une sensibilisation locomotrice.

10.2.2.2. Résultats

Dans la première expérience de cette étude, la procédure du modèle animal du TSPT induit par un choc électrique avait précédé la procédure de la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de la cocaïne. Cette expérience a montré que les manipulations des souris lors de la procédure de TSPT induit par un choc électrique modifiaient son expression. En effet les souris TSPT les moins manipulées exprimaient une peur conditionnée plus importante que les souris TSPT qui avaient été les plus manipulées. Toutefois, les souris TSPT, quel que soit le type de manipulations, avaient développé et exprimé une sensibilisation locomotrice à la cocaïne identique à celle de leurs contrôles. La sensibilisation locomotrice à la dose de 15 mg/kg de cocaïne n'a donc pas été modifiée par la procédure du modèle animal du TSPT induit par un choc électrique.

Dans la seconde expérience de cette étude, la procédure de la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de la cocaïne avait précédé la procédure du modèle animal du TSPT induit par un choc électrique. Cette expérience a montré que la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de la cocaïne, aux doses de 7,5 mg/kg et 15 mg/kg, ne modulait pas l'expression de notre modèle animal de TSPT induit par un choc électrique. Toutefois, de façon plus marquée pour la dose de 7,5 mg/kg de cocaïne, la sensibilisation locomotrice à la cocaïne avait induit un freezing plus important que celui des souris contrôles, aussi bien dans un nouveau contexte que dans le contexte du choc électrique. Cet effet n'est cependant pas lié au TSPT puisqu'il s'observait également chez le groupe témoin n'ayant pas subi de choc électrique.

10.2.3. Étude 3 : Does ethanol-induced locomotor sensitization modulate posttraumatic stress disorder like clusters induced by an electric footshock?

10.2.3.1. Objectifs

La troisième et dernière étude (chapitre 9) de la présente thèse avait trois objectifs. Le premier objectif, à travers trois expériences indépendantes, visait à décrire l'évolution dans le temps des effets de la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de l'éthanol (2 g/kg) sur l'expression d'un modèle animal du TSPT induit par un choc électrique. Succédant à une procédure de sensibilisation locomotrice à l'éthanol, l'évaluation du modèle animal de TSPT a débuté, respectivement, quatorze, vingt-huit et quarante-deux jours après la survenue du choc électrique.

Le deuxième objectif de cette étude, à partir d'une quatrième expérience, visait à étudier, sur des souris préalablement choquées, l'influence de la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de l'éthanol sur l'expression d'un modèle animal du TPST. Au cours de cette expérience, et contrairement aux deux précédentes études, la procédure de la sensibilisation locomotrice à l'éthanol a été intercalée entre la session du choc électrique et l'évaluation de l'expression du modèle animal de TSPT. Pour ce faire, la procédure de la sensibilisation locomotrice à l'éthanol a débuté une semaine après la session du choc électrique mais dix jours avant le début de l'évaluation de l'expression de notre modèle animal de TSPT. Afin de mieux appréhender l'influence de la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de l'éthanol, nous avons utilisé une dose induisant une sensibilisation de 2 g/kg et une dose non sensibilisante de 1 g/kg. Subsidiairement, le protocole de cette expérience a permis la formulation d'un troisième objectif. Celui d'analyser l'influence d'un choc électrique suivi d'une période d'incubation sur le développement et/ou l'expression de la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de l'éthanol.

10.2.3.2. Résultats

Pour les trois premières expériences de cette étude, la procédure de la sensibilisation aux effets stimulants de l'éthanol précédait celle du modèle animal du TSPT induit par un choc électrique. Ces trois expériences ont globalement montré que la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de

l'éthanol, longtemps après la dernière injection d'éthanol, induisait un freezing plus important que celui des souris contrôles dans différents contextes.

La quatrième expérience de cette étude a montré que le choc électrique ne modulait ni l'acquisition ni l'expression de la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de l'éthanol. Succédant à cette procédure de sensibilisation locomotrice à l'éthanol, l'évaluation de l'expression du modèle animal du TSPT a montré que l'éthanol induisait un freezing dans un nouvel environnement. Cet effet était observé même chez des souris qui n'avaient pas été choquées.

10.2.4. Synthèse des résultats

Les principaux résultats du présent travail sont repris dans le tableau 10.1.

Tableau 10.1. Synthèse des principaux résultats

Hypothèses	Résultats
Étude 1	
Le TSPT augmente la sensibilisation locomotrice à l'éthanol à la dose de 2 g/kg	- Sensibilisation locomotrice des souris TSPT - Absence inattendue de sensibilisation locomotrice des souris contrôles
Le TSPT facilite la sensibilisation locomotrice à l'éthanol à la dose de 1 g/kg	Pas de sensibilisation locomotrice
La sensibilisation locomotrice à l'éthanol modifie l'expression des symptômes du TSPT.	Peur sensibilisée augmentée
Étude 2	
Le TSPT augmente la sensibilisation locomotrice à la dose de 15 mg/kg de cocaïne	Sensibilisation locomotrice identique entre souris TSPT et leurs contrôles
La manipulation des souris réduit la sensibilisation locomotrice à la dose de 15 mg/kg de cocaïne	Sensibilisation locomotrice identique entre souris beaucoup et peu manipulées
La sensibilisation locomotrice à la cocaïne modifie l'expression du TSPT en fonction de la dose (7,5 mg/kg et 15 mg/kg)	Peur sensibilisée induite par la cocaïne indépendamment du TSPT
Étude 3	
La sensibilisation locomotrice à la dose de 2 g/kg d'éthanol modifie l'expression du TSPT.	Peur sensibilisée induite indépendamment du TSPT
La sensibilisation locomotrice à l'éthanol sur des souris préalablement exposées à un choc électrique, modifie l'expression du TSPT.	Peur sensibilisée induite par la sensibilisation locomotrice à l'éthanol indépendamment du TSPT
L'exposition à un choc électrique augmente la sensibilisation locomotrice à l'éthanol à la dose de 2 g/kg.	Sensibilisation locomotrice identique entre souris TSPT et leurs contrôles

10.3. Lecture transversale des résultats et apports théoriques

10.3.1. Influence du modèle animal du TSPT sur la sensibilisation locomotrice aux drogues

Le présent travail préclinique a voulu contribuer à la compréhension des mécanismes par lesquels le TSPT module l'addiction aux drogues. Il a débuté par l'émission d'une première hypothèse selon laquelle un modèle animal de TSPT réduirait la dose seuil pour induire une sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de l'éthanol. La sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de drogues est

un processus dépendant de nombreux facteurs dont la dose des drogues. Plusieurs études avaient montré que la dose minimale pour induire une sensibilisation locomotrice à l'éthanol était de 2 g/kg pour la plupart des souris (Stevenson et al., 2008 ; Didone et al., 2008), mais elle pouvait descendre à 1,5 g/kg chez certaines souches de souris, notamment pour les souris DBA/2J (Stevenson et al., 2008). Contrairement à notre première hypothèse, notre modèle animal de TSPT n'a pas induit une sensibilisation locomotrice avec la dose de 1 g/kg d'éthanol. La non-confirimation de notre hypothèse n'exclut toutefois pas complètement que le TSPT puisse faciliter l'acquisition et ou l'expression d'une sensibilisation locomotrice avec une dose infra-seuil. En effet, les résultats d'études antérieures sur d'autres modèles animaux laissent penser que cette hypothèse est plausible. Par exemple, une étude antérieure avait démontré que le stress unique prolongé permet le développement d'une sensibilisation locomotrice à la métamphétamine à une faible dose qui n'induit pas une sensibilisation locomotrice chez des rats contrôles (Eagle et Perrine, 2013). Ce résultat est à mettre en parallèle avec les études qui montrent qu'un stress peut réduire la dose nécessaire pour induire un conditionnement de préférence de place ou un comportement d'auto-administration (Kreibich et al., 2009 ; Moffett et Goeders, 2005 ; Goeders et Guerin, 1994). Une étude ultérieure pourrait clarifier la question en testant une série de plusieurs doses d'éthanol entre 1 et 2 g/kg. Concomitamment à la non-confirimation de notre hypothèse, nous avons observé un résultat inattendu. Les souris contrôles qui avaient reçu la dose de 2 g/kg d'éthanol, une dose sensibilisante, n'avaient pas développé ni exprimé une sensibilisation locomotrice alors que les souris TSPT recevant 2 g/kg avaient sensibilisé. À posteriori, l'absence d'expression d'une sensibilisation à l'éthanol chez le groupe contrôle peut s'expliquer par la multiplication de manipulations requises par le protocole du TSPT avant la procédure de sensibilisation. En effet, de nombreuses études, y compris dans notre laboratoire, avaient montré que les manipulations des souris empêchent l'acquisition et l'expression d'une sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de l'éthanol (Garcia et al., 2017 ; Didone et al., 2016a ; Boehm II et al., 2008). Le protocole du modèle animal de TSPT utilisé dans la présente thèse comporte de nombreuses manipulations pour les évaluations de l'expression des clusters de notre modèle animal du TSPT, sans compter les changements hebdomadaires des cages des souris durant plusieurs semaines. La manipulation des animaux fonctionne comme l'enrichissement du contexte et le phénomène d'habituation (Garcia et al., 2017). Ainsi l'observation de l'acquisition et de l'expression de la sensibilisation locomotrice à l'éthanol chez les souris choquées recevant la dose de 2 g/kg devenait un résultat très intéressant. L'explication de cette observation pourrait provenir d'une publication de Covington et Miczeck (2005). Ces chercheurs ont montré que le stress est un phénomène qui empêche

la survenue de l'habituation. Nous pouvons donc extrapoler cette observation en arguant que dans le présent protocole, le stress avait inhibé l'effet préventif de la manipulation des animaux sur la sensibilisation locomotrice à l'éthanol. Des études ultérieures pourraient vérifier cette hypothèse.

Les résultats de cette première étude suggèrent que l'effet de notre modèle animal du TSPT n'influence positivement la sensibilisation locomotrice à l'éthanol que pour une dose effective, c'est-à-dire induisant une sensibilisation locomotrice dans des conditions normales. Ces résultats laissent aussi penser qu'un modèle animal de TSPT augmente l'amplitude de la sensibilisation locomotrice pour des doses sensibilisantes. Néanmoins, ces conclusions doivent être nuancées et cela pour au moins deux raisons. D'une part, la multiplication des manipulations lors de la procédure du modèle animal de TSPT aurait pu émousser l'intensité du stress et ainsi atténuer ses effets sur la sensibilisation locomotrice à l'éthanol, particulièrement pour la dose de 1 g/kg. En effet, la manipulation des animaux réduit le stress des animaux (Couto-Pereira et al., 2019 ; Deslauriers et al., 2018 ; Madruga et al., 2006). D'autre part, l'absence d'acquisition et d'expression de la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de l'éthanol chez le groupe contrôle ne permet pas d'apprécier pleinement les effets du TPST sur la sensibilisation locomotrice à l'éthanol. Ces préoccupations ont été prises en compte au cours de deux études ultérieures de la présente thèse, l'une portant sur la cocaïne et l'autre sur l'éthanol.

La deuxième étude de la présente thèse a cherché à évaluer si un modèle animal de TSPT induit par un choc électrique modulerait l'expression de la sensibilisation locomotrice à la cocaïne. L'une des rares études, si pas la seule, consacrée à l'effet modulateur du stress unique prolongé, un modèle animal du TSPT validé, sur la sensibilisation locomotrice à la cocaïne avait conduit à des résultats ambigus (Eagle et al., 2015). En effet, les résultats de cette étude avaient montré un effet amplificateur du stress unique prolongé sur l'expression d'une sensibilisation locomotrice intragroupes, évaluée par la différence des activités locomotrices du dernier et du premier jour de la procédure de sensibilisation, mais aucun effet sur la mesure intergroupes de la sensibilisation locomotrice, évaluée par la comparaison des activités locomotrices du dernier jour de la sensibilisation à la cocaïne. Néanmoins, dans cette étude, l'analyse de la mesure intra-sujets de la sensibilisation locomotrice montre que l'effet observé était lié à une faible activité locomotrice des souris stressées le premier jour de la procédure de la sensibilisation locomotrice à la cocaïne. Cet effet réducteur du stress sur l'activité locomotrice des animaux est bien documenté (Macedo et al., 2018 ; Schwendt et al., 2018 ; Taylor et al., 2016). La

conclusion correcte de cette étude aurait dû être que le stress unique prolongé n'avait pas modulé la sensibilisation locomotrice à la cocaïne. Ainsi, les résultats de la deuxième étude de la présente thèse montrant une absence de modulation d'un modèle animal de TSPT sur la sensibilisation locomotrice à la cocaïne auraient été conformes aux résultats de l'étude de Eagle et collaborateurs (2015). Subsidiairement, la problématique soulevée dans le paragraphe précédent d'un éventuel effet des manipulations des souris lors de la procédure du modèle animal de TSPT a été évaluée. Il était question de vérifier si les manipulations des souris lors de la procédure du modèle animal de TSPT émousseraient son expression et/ou moduleraient la sensibilisation locomotrice à la cocaïne. Conformément aux données de la littérature (Couto-Pereira et al., 2019 ; Deslauriers et al., 2018 ; Madruga et al., 2006), les résultats de notre étude ont montré que les manipulations des souris modulaient négativement, sans l'annihiler, l'expression du TSPT induit par un choc électrique. Cette deuxième étude a aussi montré que les manipulations de souris ne modulaient ni l'acquisition ni l'expression de la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de la cocaïne. Ce résultat est aussi conforme aux données de la littérature qui révèlent que la manipulation des souris n'impacte pas la sensibilisation locomotrice à la cocaïne, contrairement à celle à l'éthanol (Garcia et al., 2017 ; Didone et al., 2016a ; Boehm II et al., 2008).

Les résultats de la deuxième étude de notre thèse, en accord à ceux de l'étude de Eagle et collaborateurs (2015), montrent que notre modèle animal de TSPT ne module ni l'acquisition ni l'expression de la sensibilisation locomotrice à la cocaïne. En montrant une atténuation, par la manipulation des souris, de l'intensité du modèle animal de TSPT induit par un choc électrique, les résultats de cette deuxième étude ont relancé une des problématiques suscitées par la première étude. Les manipulations répétées des souris pourraient avoir, d'une certaine façon, masqué les effets du choc électrique sur la sensibilisation locomotrice de l'éthanol avec la dose infra-seuil de 1 g/kg. Cette préoccupation a été intégrée dans la dernière étude de cette thèse.

La troisième étude de la présente thèse a cherché à évaluer l'effet d'un stress, induit par un choc électrique, sur la sensibilisation locomotrice à l'éthanol chez des souris non manipulées. Les résultats ont montré, d'une part, qu'un modèle animal du TSPT n'amplifiait ni le développement ni l'expression de la sensibilisation locomotrice à l'éthanol dans ces conditions. Ce résultat contredit ainsi l'hypothèse selon laquelle le TSPT majore l'acquisition ou l'expression de la sensibilisation locomotrice à l'éthanol dans un modèle murin. D'autre part, cette étude a montré qu'un modèle animal de TSPT

n'induisait pas une sensibilisation locomotrice à la dose de 1 g/kg d'éthanol. Les souris DBA/2J choquées n'acquièrent ni n'expriment une sensibilisation locomotrice à la dose de 1 g/kg d'éthanol. Cette étude a ainsi permis de clarifier deux questions irrésolues dans les deux premières études.

Globalement les résultats de ces trois études mis en perspective avec les données de la littérature ne soutiennent pas, du moins dans les conditions habituelles, un effet amplificateur des modèles animaux du TSPT sur la sensibilisation locomotrice des effets stimulants de drogues. Pourtant l'analyse des trois études de la présente thèse et de la revue de littérature montre que les effets des modèles animaux de TSPT sur la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants des drogues sont solides mais agissent en arrière-plan. En effet, leurs effets semblent n'apparaître au premier plan qu'aux limites des conditions de l'acquisition et de l'extinction de la sensibilisation locomotrice aux drogues. Le stress occasionné par ces modèles animaux de TSPT agirait sur la sensibilisation locomotrice aux drogues par plusieurs mécanismes. Dans certaines conditions, il réduirait les doses seuils nécessaires pour une acquisition et une expression de la sensibilisation locomotrice des drogues. Ce mécanisme expliquerait l'observation d'une sensibilisation locomotrice à la méthamphétamine chez des rats TSPT à une dose non sensibilisante chez les animaux contrôles (Eagle et Perrine, 2013). Ce mécanisme serait similaire à l'observation d'un conditionnement de préférence de place chez des animaux stressés à des doses ne le permettant pas chez les animaux contrôles (Kreibich et al., 2009 ; Moffett et Goeders, 2005 ; Goeders et Guerin, 1994). En plus de cet effet facilitateur, le stress du modèle animal de TSPT empêcherait ou réduirait les effets des processus modulant négativement l'acquisition et ou l'expression de la sensibilisation locomotrice aux drogues. Ce mécanisme serait responsable de l'observation, exposée dans la première étude de la présente thèse, d'une acquisition et d'une expression de la sensibilisation locomotrice à l'éthanol chez des souris TSPT malgré les nombreuses manipulations de ces animaux. Tout se passe comme si le stress faisait obstacle à certains mécanismes empêchant la sensibilisation locomotrice induite par les drogues. Ce mécanisme serait semblable à celui qui explique l'observation de la persistance d'un comportement d'auto-administration de cocaïne chez des rats stressés alors que les animaux contrôles ont arrêté de se l'auto-administrer (Holly et al., 2016 ; Quadros et Miczek, 2009 ; Covington et Miczek, 2005). Ces effets facilitateurs et renforçateurs du TPST sur la sensibilisation locomotrice aux drogues pourraient être les mêmes ou proches de ceux qui, respectivement, favorisent les rechutes ou empêchent les extinctions des comportements d'addiction induites par le stress. En effet, de nombreuses études montrent que le stress facilite les rechutes et empêche l'extinction d'un comportement d'auto-administration de

drogues dans les modèles animaux (Blacktop et al., 2016). Néanmoins, ces aspects de rechute et d'extinction n'ont à ce jour pas encore été intégrés dans les relations entre le TSPT et la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de drogues. Cela pourrait se faire, par exemple, en évaluant la durée de persistance de la sensibilisation locomotrice de drogues chez des animaux de TSPT.

10.3.2. Influence de la sensibilisation locomotrice aux drogues sur l'expression du modèle animal de TSPT

L'influence de l'addiction aux drogues sur l'expression du TSPT est devenue une préoccupation croissante aussi bien des études cliniques que précliniques (Gilpin et Wainer, 2017 ; Lisieski et Perrine, 2017). Ces études montrent, chez l'homme, qu'une exposition préalable à une drogue induit ou aggrave des troubles anxieux (Langdon et al., 2016 ; Wielchelt et al., 2011). De surcroît, une étude expérimentale sur la peur conditionnée a montré que les personnes souffrant d'une addiction à la cocaïne, comparées à celles qui ne souffrent d'aucune addiction, ont une sensibilité plus élevée aux stimuli aversifs (Kaag et al., 2016). Ces observations trouvent un écho dans les études animales qui observent qu'une exposition préalable à une drogue induit des comportements de peur dans des modèles animaux (Luikinga et al., 2019). Ainsi, la présente thèse s'est aussi penchée sur l'effet modulateur de la sensibilisation locomotrice sur l'expression des « symptômes » du TSPT. Rappelons qu'il existe une homologie entre les processus neurobiologiques de l'addiction aux drogues chez l'homme et de sensibilisation locomotrice aux effets stimulants des drogues chez les rongeurs (Brabant et al., 2014 ; Pastor et al., 2012). Dans ce travail, cette relation a été étudiée sur une série de six expériences, dont cinq sur l'éthanol et une sur la cocaïne, réparties dans trois études différentes.

La première étude avait pour but d'explorer les effets de la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de l'éthanol sur l'expression des clusters du TSPT dans un modèle animal de TSPT. Les résultats de cette étude ont montré que les effets de la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de l'éthanol modulaient l'expression du modèle animal de TSPT utilisé dans la présente thèse. Cet effet n'était pas la conséquence d'un sevrage à l'éthanol car il a été observé plusieurs semaines après la dernière injection d'éthanol. En effet, le sevrage à l'alcool ne s'observe pas au-delà de quarante-huit heures chez les rongeurs (Quiñones-Laracuente et al., 2015). Toutefois, cette modulation ne s'était pas observée sur tous les clusters de notre modèle animal de TSPT. En effet, seule la peur sensibilisée, évaluée dans un contexte différent de celui dans lequel était survenu l'événement traumatique, était

aggravée par la sensibilisation locomotrice à l'éthanol. Ce résultat est similaire aux études sur les effets aigus de l'éthanol sur la peur sensibilisée (Gulick et Gould, 2007). À l'inverse, l'absence de modulation de la sensibilisation locomotrice à l'éthanol sur la peur conditionnée contraste avec les études consacrées à l'influence des effets aigus de l'exposition à l'éthanol sur la peur conditionnée. En effet, ces études montrent qu'une exposition aiguë à l'éthanol préalable, quelques minutes à vingt-quatre heures, à une exposition à un choc électrique, module l'expression de la peur conditionnée lorsque celle-ci est évaluée moins de trois jours après le choc. Des faibles doses d'éthanol, 0,25 g/kg à 1 g/kg, majorent la peur conditionnée (Gulick et Gould, 2007), alors que des doses plus élevées, entre 1 g/kg et 4 g/kg, réduisent l'expression de la peur conditionnée (Tipps et al., 2015).

Cette différence dans l'influence de la sensibilisation locomotrice à l'éthanol sur les peurs conditionnée et sensibilisée pourrait tenir des spécificités des mécanismes de chacune d'elles. En effet ces peurs ont des supports anatomiques différents (Kamprath et Wotjak, 2004). L'expression de la peur conditionnée, une mémoire associative, est principalement dépendante de l'hippocampe et de l'amygdale alors que la peur sensibilisée, une mémoire non associative, est essentiellement dépendante de l'amygdale (Shin et al., 2006). Leurs expression et extinction sont toutes aussi différentes. La peur conditionnée s'exprime au maximum quasi immédiatement après l'exposition au traumatisme alors que la peur sensibilisée nécessite une période d'incubation pour s'exprimer et plusieurs jours ou semaines pour atteindre son maximum (Siegmund et Wotjak, 2007b). L'extinction de la peur conditionnée, notamment par un mécanisme d'habituation telle qu'on peut l'observer lors des procédures de désensibilisation, ne s'accompagne pas d'une extinction de la peur sensibilisée (Kamprath et Wotjak, 2004). Il se peut donc que l'effet de la sensibilisation locomotrice à l'éthanol impacte différemment les structures cérébrales qui sous-tendent l'expression de ces peurs. Au minimum, l'effet délétère de l'exposition répétée à l'éthanol sur l'hippocampe associé aux altérations fonctionnelles de l'amygdale et de l'hippocampe liées aux conséquences du traumatisme réduirait la capacité des souris à distinguer un nouvel environnement de celui où elles ont subi le choc électrique.

De cette première étude nous pouvons retenir qu'une exposition répétée à une dose sensibilisante d'éthanol peut moduler l'expression des clusters d'un modèle animal de TSPT plusieurs semaines après le choc électrique. Cet effet de la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de l'éthanol est durable dans le temps car il a été observé 35 jours après la dernière injection d'éthanol. Toutefois ce long intervalle de temps entre la dernière injection d'éthanol et l'évaluation de la peur sensibilisée

suscite des questionnements. En effet, la durée de la sensibilisation locomotrice à cette substance est controversée. Selon les auteurs, cette durée est estimée entre quatorze et soixante jours (Camarini et al., 2016 ; Boehm et al., 2008). Une évaluation des clusters du modèle animal du TSPT plus précoce et plus tardive que l'intervalle de temps choisi dans cette étude permettrait une meilleure compréhension de l'influence de la sensibilisation locomotrice à l'éthanol sur l'expression des clusters du modèle animal de TSPT. D'autre part, il a été démontré que l'expression de la peur conditionnée varie selon que l'exposition à une drogue s'est faite avant ou après l'exposition à un événement traumatique (Quiñones-Laracuate et al., 2015). Ainsi, un protocole intercalant une procédure d'administration chronique de drogue entre l'exposition à un stresser et l'expression des clusters du TPST serait pertinent, d'autant plus que 50 à 67% de personnes qui souffrent de la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues débutent par le TSPT (Lisieski et Perrine, 2017 ; Eagle et al., 2015). Cette façon de faire reflèterait donc ce qui se passe chez la majorité des sujets souffrant de la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues. Enfin, les résultats de cette étude ne peuvent pas être généralisés aux autres drogues. À ce jour il n'existe pas de données sur l'effet de la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants d'autres drogues que l'éthanol sur l'expression de tous les clusters d'un modèle animal de TSPT (Matonda et al., 2019 ; Lisieski et al., 2017).

La deuxième étude de cette thèse avait pour but d'explorer les effets de la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de la cocaïne sur l'expression des clusters du TSPT d'un modèle animal de TSPT. Comme pour l'éthanol, il n'y a pas beaucoup de données sur l'influence de la sensibilisation locomotrice à la cocaïne sur les clusters d'un modèle animal de TSPT (Matonda et al., 2019 ; Lisieski et Perrine, 2017). La seule étude disponible à ce jour a montré que la sensibilisation locomotrice à la cocaïne induit une peur sensibilisée chez les rats indépendamment d'une exposition à un stress unique prolongé (Lisieski et Perrine, 2017). Les effets de la cocaïne avaient donc un effet additif, plutôt qu'interactif, avec le TSPT sur la peur sensibilisée. Autrement dit, l'administration chronique de cocaïne seule est capable de produire un phénomène de peur sensibilisée similaire à celle observée suite à un TSPT. Cependant, dans cette étude, les auteurs se sont basés sur le temps de latence, plus court pour les rats sensibilisés à la cocaïne avant leur première entrée dans l'un des bras du labyrinthe en croix surélevée, comme indicateur de la peur sensibilisée. Néanmoins, stricto sensu, le test du labyrinthe en croix surélevé, particulièrement le temps de latence, ne fait pas partie des tests spécifiques pour évaluer la peur sensibilisée. De plus, ni cette étude ni nulle autre publication n'a tenté d'évaluer les effets de la sensibilisation locomotrice à la cocaïne sur l'expression de tous les clusters

d'un modèle animal de TSPT. La deuxième étude de cette thèse, grâce à un test approprié pour évaluer la peur sensibilisée, a confirmé les résultats de l'étude de Lisieski et Perrine (2017). En effet, avec un intervalle libre plus long après la dernière administration de cocaïne (35 jours versus 14 jours) et une autre procédure de modèle animal de TSPT (choc électrique versus stress unique prolongé), notre étude a montré que, indépendamment du stress, la sensibilisation locomotrice à la cocaïne, particulièrement pour la dose de 7,5 mg/kg, induit un freezing plus important que celui des souris contrôles aussi bien dans un nouveau contexte que dans le contexte du choc. Toutefois l'interprétation de ces résultats en termes de peur conditionnée et sensibilisée doit être prudente. En effet, cette augmentation de freezing indépendamment du TSPT dans les deux contextes doit être considérée comme une anxiété généralisée ou une forme de peur sensibilisée et non pas comme l'expression d'une peur conditionnée à un choc électrique. Comme l'ont aussi observé d'autres auteurs, bien que travaillant sur des effets aigus de cocaïne, c'est effet semble s'observer plutôt pour les faibles doses que les doses élevées. En effet, Wood et collaborateurs (2007) avaient précédemment montré que les faibles doses majoraient la peur conditionnée et la peur sensibilisée alors que les doses élevées les réduisaient. Toutefois, similairement à l'étude de Lisieski et Perrine (2017), il n'est pas très clair pourquoi dans notre étude la dose de 15 mg/kg de cocaïne avait réduit la latence pour la première entrée dans les bras du labyrinthe en croix surélevée alors que la dose de 7,5 mg/kg n'avait pas conduit à l'observation d'un comportement significativement différent de celui des souris contrôles. Rappelons que pour Lisieski et Perrine (2017) cette réduction du temps de latence pour l'entrée dans les bras du labyrinthe en croix surélevée est une expression de la peur sensibilisée. Se pourrait-il que la peur sensibilisée, qui chez l'homme est un ensemble de plusieurs symptômes, soit un cluster hétéroclite avec différents comportements dont le profil d'expression varierait avec la dose de la cocaïne ? La carence d'études sur la relation entre la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de la cocaïne et un modèle animal de TSPT empêche une discussion plus approfondie. Et ici, comme pour notre première étude avec l'éthanol, la longue période entre la dernière exposition à la drogue et l'évaluation des clusters du modèle animal de TSPT, ne permet pas une pleine compréhension de cette relation. Une étude évaluant l'expression des clusters du modèle animal de TSPT plus précocement et plus tardivement que les délais utilisés dans cette deuxième étude clarifierait la question.

La troisième étude de cette thèse s'est focalisée sur l'analyse dans le temps de l'influence de la sensibilisation à l'éthanol sur l'expression des clusters de notre modèle animal de TPST. En effet les résultats des deux premières études discutées ci-dessus avaient incité à une analyse temporelle de

l'influence de la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de drogues sur l'expression des clusters d'un modèle animal de TSPT. Cette préoccupation est particulièrement prégnante pour l'éthanol pour lequel existe une controverse concernant la durée de la sensibilisation après la dernière exposition à l'éthanol. En effet, contrairement à la cocaïne dont la sensibilisation locomotrice dure plusieurs mois (Boehm II et al., 2008), pour certains auteurs la durée de sensibilisation locomotrice à l'éthanol n'excède pas vingt-huit jours (Camarini et al., 2016 ; Boehm et al., 2008). Ainsi la troisième étude de cette thèse, à partir d'une série de trois expériences indépendantes, a analysé à trois intervalles de temps différents l'influence de la sensibilisation locomotrice à l'éthanol sur les clusters de notre modèle animal de TSPT. Les résultats de ces trois expériences mis ensemble confirment que la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants de l'éthanol induit un freezing dans différents contextes, aussi bien nouveaux que celui de l'exposition au traumatisme, et cela même bien avant la survenue du choc électrique. L'analyse temporelle de cet effet confirme donc partiellement les résultats de la première étude qui avait montré que la sensibilisation à l'éthanol influence l'expression de la peur sensibilisée. Partiellement car en effet les résultats de cette troisième étude, contrairement à ceux de la première étude, ont montré que l'effet de la sensibilisation locomotrice à l'éthanol n'a pas majoré la peur sensibilisée des souris TSPT (effet d'interaction) mais a provoqué en soi des comportements de peur sensibilisée (effet d'addition). Toutefois, cette différence ne constitue pas une contradiction. En effet, l'exposition répétée de l'éthanol, comme celle d'autres drogues, induit un stress qui s'ajoute à celui du modèle animal de TSPT sans nécessairement amplifier l'expression de ce dernier. Il y aurait un effet additif dont l'ampleur, en fonction des facteurs à déterminer, permettrait parfois l'observation d'une interaction. Il n'est pas encore clair si le freezing lié au modèle animal de TSPT et celui lié aux drogues relèvent totalement ou partiellement des mêmes mécanismes. Néanmoins, les résultats de la troisième étude, comme ceux de la deuxième étude avec la cocaïne, pose la problématique de l'interprétation du comportement de freezing induit par la sensibilisation locomotrice à l'éthanol. Ce freezing correspond plus à l'expression d'une peur sensibilisée.

La quatrième expérience de la troisième étude avait pour but d'explorer les effets de la sensibilisation locomotrice à la cocaïne sur l'expression d'un modèle animal de TSPT sur des souris préalablement traumatisées. Ce protocole modélise la situation de la majorité des personnes qui souffrent de la comorbidité entre l'addiction à l'éthanol et le TSPT. En effet, il faut se rappeler que deux tiers de ces sujets débutent par l'exposition à un stressor avant la survenue d'une addiction (Lisieski et Perrine, 2017 ; Eagle et al., 2015). Il est donc plus écologique d'étudier l'expression du TPST à l'aide d'une

procédure intercalant la sensibilisation locomotrice à l'éthanol entre le choc électrique et l'expression des clusters du modèle animal de TSPT (Quiñones-Laracuate et al., 2015). Ceci est d'autant pertinent que plusieurs études ont montré que l'exposition aiguë ou répétée à l'éthanol modifie différemment l'expression d'un modèle animal du TSPT selon qu'elle est appliquée avant ou après l'exposition à un stressor (Quiñones-Laracuate et al., 2015). À nouveau, les résultats de cette dernière expérience ont montré que la sensibilisation locomotrice à l'éthanol induit, indépendamment du choc électrique, un freezing plus important que celui observé chez les souris du groupe contrôle. Néanmoins, le freezing observé dans cette expérience est moins élevé que celui observé dans les précédentes expériences de cette thèse, et il n'a été observé que dans un nouveau contexte. En accord avec les études antérieures (Quiñones-Laracuate et al., 2015), il n'a été observé aucune influence sur l'expression de la peur conditionnée. L'absence d'effet de la sensibilisation locomotrice à l'éthanol dans le contexte du choc électrique reproduit les résultats des études sur les effets aigus ou des expositions répétées aux drogues sur la peur conditionnée. Dans tous les cas, cette expérience en accord avec les trois précédentes, montre que la sensibilisation locomotrice à l'éthanol ne majore pas l'expression des clusters d'un modèle animal de TSPT.

Globalement, les résultats des trois études montrent une certaine consistance, cohérence et robustesse. Il ressort de ces trois études que la sensibilisation locomotrice aux drogues peut induire un comportement similaire à celui qu'induit le modèle animal de TSPT utilisant comme stressor un choc électrique. Ainsi l'expression du freezing chez les souris TSPT est le résultat des effets combinés de la sensibilisation locomotrice aux drogues et du modèle animal de TSPT qui s'additionnent. Néanmoins, ces résultats suscitent quelques interrogations. Il n'est pas clair pourquoi l'augmentation de la dose d'éthanol et la réduction de la dose de cocaïne conduisent à une augmentation du freezing. Les études antérieures montrent que le freezing est d'autant plus intense chez les rongeurs stressés lorsqu'ils reconnaissent des indices annonçant la survenue d'un événement traumatique (Broadwater et Spear, 2013). Le freezing plus élevé chez les souris sensibilisées à une drogue pourrait être l'expression d'une plus faible capacité à distinguer des milieux dangereux des milieux sûrs. L'éthanol, particulièrement, est une substance associée à une perturbation des processus d'apprentissage et à des altérations des fonctions cognitives dont la mémoire. Il est donc compréhensible qu'une augmentation de la dose conduise à une augmentation du freezing. À l'inverse, la cocaïne est une substance qui « augmente » les capacités mnésiques. Il n'est donc pas clair pourquoi elle induit le freezing particulièrement à faible dose. Des études précliniques ultérieures

sur le thème de la relation entre le TSPT et l'addiction aux drogues permettront une meilleure compréhension de ces résultats.

10.4. Limites, perspectives futures et aspects translationnels

La présente thèse s'est focalisée sur les influences réciproques entre un modèle animal de TSPT induit par un choc électrique et la sensibilisation locomotrice aux effets stimulants des drogues. La rareté de données dans ce domaine nous a conduits à la réalisation de plusieurs études préliminaires. À ce jour, ce thème de recherche ne semble avoir intéressé que très peu d'équipes scientifiques, ce que confirme la rareté de publications (Gilpin et Wainer, 2017 ; Lisieski et Perrine, 2017). Ce travail tire son originalité en ce qu'il constitue la première étude à avoir analysé l'effet de la sensibilisation locomotrice aux drogues sur l'ensemble des clusters d'un modèle animal de TSPT. Le petit nombre d'articles publiés dans ce domaine fait de ce thème de recherche un domaine quasi inexploré. De nombreux aspects de la relation entre un modèle animal de TSPT et la sensibilisation locomotrice aux drogues ne sont donc pas connus. Outre l'approfondissement du rôle des doses des drogues et de l'intensité du stress, des sujets encore plus complexes n'ont pas encore été abordés. Ces sujets comprennent, entre autres, l'utilisation des protocoles simultanés des deux conditions et l'utilisation de plusieurs drogues à la fois (Seo et al., 2018 ; Pizzimenti et al., 2017). D'une part, des procédures simultanées permettraient d'étudier la problématique de la coexistence des effets aigus et chroniques des drogues. Cette thèse, comme toutes les études précliniques des relations entre l'addiction des drogues et le TSPT, utilise des procédures séquentielles des deux conditions. De telles procédures séquentielles correspondent à évaluer, chez l'homme, soit les effets pharmacologiques des drogues sur l'expression des clusters du TPST, soit l'expression du TSPT chez des sujets souffrant d'addiction en période de sevrage ou d'abstinence en fonction du moment où la drogue est administrée. Ainsi, dans le présent travail, notre procédure séquentielle modélise une analyse, en période d'abstinence, des conséquences d'une exposition chronique aux drogues sur l'expression du TSPT. Pourtant, l'addiction est une condition complexe associant simultanément des effets aigus quotidiens des drogues avec une neuro-adaptation consécutive à leur exposition chronique. Les procédures séquentielles ne modélisent donc pas la situation de toutes les personnes qui souffrent de la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues. D'autre part, cette thèse a cherché à comprendre la spécificité de chaque drogue dans les relations entre le TSPT et l'addiction aux drogues. Toutefois chez la majorité des personnes souffrant de la comorbidité entre ces deux conditions, il y a une notion

de polytoxicomanie ou d'une « monotoxicomanie » associée à une consommation non addictive d'une ou de plusieurs drogues (Dworkin et al., 2018 ; Ruglass et al., 2017). Cette polyconsommation est certainement responsable d'un tableau clinique qui ne peut se comprendre par des études ne portant que sur une seule drogue. Néanmoins la mise au point de protocoles intégrant ces différents aspects posera de nombreux défis méthodologiques.

La principale limite des trois études de cette thèse a porté sur l'absence de contribution des tests d'anxiété, c'est-à-dire le labyrinthe en croix surélevé et le test de la chambre claire-obscur, pour l'évaluation du cluster de l'évitement du TSPT. Leurs résultats étaient inconstants d'une expérience à une autre et pas toujours « cohérents » au paradigme de la peur conditionnée. Ces observations ont également été faites par plusieurs auteurs (Berardi et al., 2014 ; Chen, et al., 2014 ; Corral-Frias et al., 2013 ; Ihne et al., 2012 ; Mozhui et al., 2010 ; Muñoz-Abellán et al., 2009 ; Cohen et al., 2008 ; Siegmund et Wotjak, 2007). Ces tests donnent des résultats particulièrement variables chez les animaux plusieurs fois manipulés. Ainsi le présent travail confirme les données de la littérature sur l'ambiguïté des résultats des tests d'évitement des modèles animaux de TSPT. Plusieurs moyens pourraient permettre de palier à cette carence des tests d'évitement utilisés dans la présente thèse. Chaque test du protocole du TSPT ne devrait être passé que par un seul groupe de souris plutôt que de faire passer à tous les animaux l'ensemble de la procédure du TSPT. Ces différents tests se dérouleraient soit le même jour soit sur des intervalles de temps très rapprochés. L'utilisation d'autres tests d'évitement alternatifs pourraient se révéler plus pertinents que ceux utilisés dans le présent travail (Siegmund et Wotjak, 2007b). Enfin, des études ultérieures évalueraient la pertinence de maintenir ou de raccourcir la période d'incubation de vingt-huit jours utilisée dans ce travail. En effet, cette durée correspond au moment de l'expression maximale de la peur sensibilisée mais pas forcément celui de l'expression maximale des autres clusters du TSPT (Siegmund et Wotjak, 2007b).

L'objectif ultime de cette étude est de permettre une meilleure compréhension de l'influence de l'addiction aux drogues sur l'expression des symptômes du TSPT chez l'homme. Il est évident que les données de ce travail ne sont pas directement transposables à l'homme. Ni le modèle animal de TSPT, affection subjective par essence, ni la sensibilisation locomotrice, dont une des faiblesses est la difficulté à la démontrer chez l'homme, ne peuvent pas être transposés directement à l'homme. Néanmoins certains des résultats de nos études peuvent conduire à des pistes de réflexion sur la

comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues chez l'homme. Quelques faits peuvent notamment être mentionnés.

Premièrement, ces études montrent que la sensibilisation locomotrice aux drogues induit intrinsèquement des comportements de peur similaires à ceux observés dans un modèle animal de TSPT. Les effets de ces deux conditions s'additionnent dans l'expression des clusters du modèle animal de TSPT. Ce fait pourrait expliquer l'observation d'un TSPT plus sévère chez les personnes qui souffrent d'une addiction à une drogue (Anderson et al., 2018 ; Langdon et al., 2016 ; Kline et al., 2014 ; Sullivan et Holt, 2008). Ceci pourrait aussi expliquer la difficulté des cliniciens de faire la part de ce qui revient à chacune des conditions de la comorbidité dans l'expression des clusters du TSPT. Cet effet additif pourrait aussi rendre compte des meilleurs résultats des traitements qui prennent en charge les deux conditions simultanément comparativement aux traitements séquentiels des deux conditions. L'observation d'un effet additif de la sensibilisation locomotrice, bien longtemps après la fin d'un sevrage, suggère que l'influence d'une addiction à une drogue sur le TSPT ne cesse pas avec un sevrage. Cet aspect devrait être pris en compte dans la prise en charge des sujets souffrant de la comorbidité.

En outre, la majorité d'études sur la comorbidité entre le TSPT et l'addiction aux drogues soutiennent la théorie de l'automédication. Et parmi ces études, de nombreux chercheurs soutiennent que la surexpression de certains symptômes du TSPT explique le choix de la drogue consommée. Toutefois, la présente thèse en observant un effet additif de la sensibilisation sur le TSPT offre une autre hypothèse de recherche. La surexpression de certains symptômes du TSPT pourrait être une conséquence du type de drogue consommée. Les résultats de cette thèse suggèrent que l'observation d'une surexpression des symptômes du TSPT, longtemps après une période de sevrage à une drogue, serait consécutive aux effets de l'exposition chronique aux substances d'abus. Cette hypothèse mériterait d'être explorée aussi bien par des études précliniques que cliniques.

Enfin, l'expression des clusters de TSPT peut varier selon que l'exposition à une drogue s'est faite avant ou après l'exposition au stresser mais aussi selon la durée de l'intervalle libre entre la dernière administration d'une drogue et l'évaluation des clusters du modèle animal de TSPT. Ceci peut expliquer les différences des résultats observés avec les études cliniques. Il se pourrait que ces études cliniques incluent des groupes de sujets de différents profils. En effet, les symptômes du TSPT

pourraient varier en fonction du temps mais aussi en fonction de l'ordre d'occurrence de chacune des deux conditions de la comorbidité. Il y a donc une vraie nécessité de la réalisation d'autres études précliniques pour améliorer la compréhension de la cooccurrence du TSPT et de l'addiction aux drogues.

L'un des objectifs généraux de cette thèse était de comprendre les mécanismes neurobiologiques qui expliqueraient l'influence du TSPT sur l'addiction aux drogues. Cependant les résultats obtenus n'ont pas permis d'atteindre pleinement cet objectif. Néanmoins, sur base de nos résultats sur l'éthanol et ceux de la revue de littérature, nous pouvons proposer une ébauche d'explication. Bien que l'ordre d'occurrence puisse jouer un rôle, nous nous baserons sur un schéma débutant par le TSPT car cette situation correspond à la majorité des personnes souffrant de la comorbidité entre le TSPT et l'addiction à l'éthanol (Lisieski et Perrine, 2017 ; Eagle et al., 2015). Les études animales montrent que les effets pharmacologiques de l'éthanol, particulièrement pour les doses élevées, conduisent à une réduction de la peur sensibilisée. Chez l'homme, il a été démontré que les personnes souffrant de TSPT soulagent leur souffrance par la consommation d'alcool. Le présent travail montre que le TSPT, à son tour, agit sur la consommation de l'éthanol en bloquant les facteurs ou les mécanismes censés empêcher la transition vers l'addiction. L'exposition à des doses élevées d'éthanol et l'effet renforçateur du TSPT agissent en synergie pour favoriser la transition de la consommation vers l'addiction. Cette synergie pourrait jouer un rôle plus crucial que l'ordre d'occurrence des deux conditions. Finalement, l'expression du TSPT, particulièrement de la peur généralisée, telle que modélisée dans le présent travail, est aggravée en période d'abstinence à l'éthanol. Des études ultérieures sont nécessaires pour confirmer cette théorie mais aussi pour l'adapter aux spécificités d'autres drogues.

Bibliographie

- Abrahao KP, Ariwodola OJ, Butler TR, Rau AR, Skelly MJ, Carter E, Alexander NP, McCool BA, Souza-Formigoni ML, Weiner JL. Locomotor sensitization to ethanol impairs NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in the nucleus accumbens and increases ethanol self-administration. *J Neurosci*. 2013;33(11):4834-42. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5839-11.2013.
- Afful SE, Strickland JR, Cottler L, Bierut LJ. Exposure to trauma: a comparison of cocaine-dependent cases and a community-matched sample. *Drug Alcohol Depend*. 2010;112(1-2):46-53. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2010.05.012.
- Afifi TO, Asmundson GJ, Taylor S, Jang KL. The role of genes and environment on trauma exposure and posttraumatic stress disorder symptoms: a review of twin studies. *Clin Psychol Rev*. 2010;30(1):101-12. doi: 10.1016/j.cpr.2009.10.002.
- Allouche S, Le Marec T, Noble F, Marie N. Different patterns of administration modulate propensity of methadone and buprenorphine to promote locomotor sensitization in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2013;40:286-91. doi: 10.1016/j.pnpbp.2012.10.013.
- American Psychiatric Association: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 5th ed. Arlington (Virginia), American Psychiatric Publishing, 2013.
- Anderson EM, Larson EB, Guzman D, Wissman AM, Neve RL, Nestler EJ, Self DW. Overexpression of the Histone Dimethyltransferase G9a in Nucleus Accumbens Shell Increases Cocaine Self-Administration, Stress-Induced Reinstatement, and Anxiety. *J Neurosci*. 2018;38(4):803-813. doi: 10.1523/JNEUROSCI.1657-17.2017.
- Anderson EM, Wissman AM, Chemplanikal J, Buzin N, Guzman D, Larson EB, Neve RL, Nestler EJ, Cowan CW, Self DW. BDNF-TrkB controls cocaine-induced dendritic spines in rodent nucleus accumbens dissociated from increases in addictive behaviors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2017;114(35):9469-9474. doi: 10.1073/pnas.1702441114.
- Anderson ML, Ziedonis DM, Najavits LM. Posttraumatic stress disorder and substance use disorder comorbidity among individuals with physical disabilities: findings from the National Comorbidity Survey Replication. *J Trauma Stress*. 2014;27(2):182-91. doi: 10.1002/jts.21894.
- Aspesi D, Pinna G. Animal models of post-traumatic stress disorder and novel treatment targets. *Behav Pharmacol*. 2019;30(2 and 3-Spec Issue):130-150. doi: 10.1097/FBP.0000000000000467.

- Avant EM, Davis JL, Cranston CC. Posttraumatic stress symptom clusters, trauma history, and substance use among college students. *Journal of Aggression, Maltreatment & Trauma*. 2011;20:539-55. doi: 10.1080/10926771.2011. 588153.
- Back SE, Killeen TK, Teer AP, Hartwell EE, Federline A, Beylotte F, Cox E. Substance use disorders and PTSD: an exploratory study of treatment preferences among military veterans. *Addict Behav*. 2014;39(2):369-73. doi: 10.1016/j.addbeh.2013.09.017.
- Back SE, Brady KT, Jaanimägi U, Jackson JL. Cocaine dependence and PTSD: a pilot study of symptom interplay and treatment preferences. *Addict Behav*. 2006;31(2):351-4. doi: 10.1016/j.addbeh.2005.05.008.
- Back S, Dansky BS, Coffey SF, Saladin ME, Sonne S, Brady KT. Cocaine dependence with and without post-traumatic stress disorder: a comparison of substance use, trauma history and psychiatric comorbidity. *Am J Addict*. 2000;9(1):51-62. doi: 10.1080/10550490050172227.
- Bates ME, Buckman JF, Nguyen TT. A role for cognitive rehabilitation in increasing the effectiveness of treatment for alcohol use disorders. *Neuropsychol Rev*. 2013;23(1):27-47. doi: 10.1007/s11065-013-9228-3.
- Berardi A, Trezza V, Palmery M, Trabace L, Cuomo V, Campolongo P. An updated animal model capturing both the cognitive and emotional features of post-traumatic stress disorder (PTSD). *Front Behav Neurosci*. 2014;8:142. doi: 10.3389/fnbeh.2014.00142.
- Bernardi RE, Lattal KM. A role for alpha-adrenergic receptors in extinction of conditioned fear and cocaine conditioned place preference. *Behav Neurosci*. 2010;124(2):204-10. doi: 10.1037/a0018909.
- Berridge KC, Robinson TE. Liking, Wanting and the Incentive-Sensitization Theory of Addiction. *Am Psychol*. 2016;71(8): 670–679. doi:10.1037/amp0000059.
- Bertotto ME, Bustos SG, Molina VA, Martijena ID. Influence of ethanol withdrawal on fear memory: Effect of D-cycloserine. *Neuroscience*. 2006;142(4):979-90. doi: 10.1016/j.neuroscience.2006.07.013.
- Blacktop JM, Vranjkovic O, Mayer M, Van Hoof M, Baker DA, Mantsch JR. Antagonism of GABA-B but not GABA-A receptors in the VTA prevents stress- and intra-VTA CRF-induced reinstatement of extinguished cocaine seeking in rats. *Neuropharmacology*. 2016;102:197-206. doi: 10.1016/j.neuropharm.2015.11.013.
- Boehm SL 2nd, Goldfarb KJ, Serio KM, Moore EM, Linsenbardt DN. Does context influence the duration of locomotor sensitization to ethanol in female DBA/2J mice? *Psychopharmacology (Berl)*. 2008;197(2):191-201. doi: 10.1007/s00213-007-1022-6.

- Borghans B, Homberg JR. Animal models for posttraumatic stress disorder: An overview of what is used in research. *World J Psychiatry*. 2015;5(4):387-96. doi: 10.5498/wjp.v5.i4.387.
- Brabant C, Guarnieri DJ, Quertemont E. Stimulant and motivational effects of alcohol: Lessons from rodent and primate models. *Pharmacol Biochem Behav*. 2014;122:37-52. doi: 10.1016/j.pbb.2014.03.006.
- Brodnik ZD, Black EM, Clark MJ, Kornsey KN, Snyder NW, España RA. Susceptibility to traumatic stress sensitizes the dopaminergic response to cocaine and increases motivation for cocaine. *Neuropharmacology*. 2017;125:295-307. doi: 10.1016/j.neuropharm.2017.07.032.
- Bryant RA, Creamer M, O'Donnell M, Silove D, McFarlane AC, Forbes D. A comparison of the capacity of DSM-IV and DSM-5 acute stress disorder definitions to predict posttraumatic stress disorder and related disorders. *J Clin Psychiatry*. 2015;76(4):391-7. doi: 10.4088/JCP.13m08731
- Bunting BP, Murphy SD, O'Neill SM, Ferry FR. Lifetime prevalence of mental health disorders and delay in treatment following initial onset: evidence from the Northern Ireland Study of Health and Stress. *Psychol Med*. 2012;42(8):1727–1739
- Burke AR, Miczek KA. Stress in adolescence and drugs of abuse in rodent models: rôle of dopamine, CRF, and HPA axis. *Psychopharmacology (Berl)*. 2014;231(8):1557-80. doi: 10.1007/s00213-013-3369-1.
- Burke AR, Watt MJ, Forster GL. Adolescent social defeat increases adult amphetamine conditioned place preference and alters D2 dopamine receptor expression. *Neuroscience*. 2011;197:269-79. doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.09.008.
- Camarini R, Pautassi RM. Behavioral sensitization to ethanol: Neural basis and factors that influence its acquisition and expression. *Brain Res Bull*. 2016;125:53-78. doi: 10.1016/j.brainresbull.2016.04.006.
- Carrara-Nascimento PF, Griffin WC 3rd, Pastrello DM, Olive MF, Camarini R. Changes in extracellular levels of glutamate in the nucleus accumbens after ethanol-induced behavioral sensitization in adolescent and adult mice. *Alcohol*. 2011;45(5):451-60. doi: 10.1016/j.alcohol.2011.01.002.
- Castelló S, Molina JC, Arias C. Long-term contextual memory in infant rats as evidenced by an ethanolconditioned tolerance procedure. *Behav Brain Res*. 2017;332:243-249. doi: 10.1016/j.bbr.2017.06.007.

- Chaaya N, Battle AR, Johnson LR. An update on contextual fear memory mechanisms: Transition between Amygdala and Hippocampus. *Neurosci Biobehav Rev.* 2018;92:43-54. doi: 10.1016/j.neubiorev.2018.05.013.
- Chang JS, You YH, Park SY, Kim JW, Kim HS, Yoon KH, Cho JH. Pattern of Stress-Induced Hyperglycemia according to Type of Diabetes: A Predator Stress Model. *Diabetes Metab J.* 2013;37(6):475-83. doi: 10.4093/dmj.2013.37.6.475.
- Chang SD, Liang KC. The hippocampus integrates context and shock into a configural memory in contextual fear conditioning. *Hippocampus.* 2017;27(2):145-155. doi: 10.1002/hipo.22679.
- Charlier Y, Tirelli E. Differential effects of histamine H(3) receptor inverse agonist thioperamide, given alone or in combination with the N-methyl-d-aspartate receptor antagonist dizocilpine, on reconsolidation and consolidation of a contextual fear memory in mice. *Neuroscience.* 2011;193:132-42. doi: 10.1016/j.neuroscience.2011.07.034.
- Chen LJ, Shen BQ, Liu DD, Li ST. The effects of early-life predator stress on anxiety- and depression-like behaviors of aduiltrats. *Neural Plast.* 2014;2014:163908. doi: 10.1155/2014/163908.
- Cohen H, Geva AB, Matar MA, Zohar J, Kaplan Z. Post-traumatic stress behavioural responses in inbred mouse strains: can genetic predisposition explain phenotypic vulnerability? *Int J Neuropsychopharmacol.* 2008;11(3):331-49. doi: 10.1017/S1461145707007912.
- Cohen H, Zohar J. An animal model of posttraumatic stress disorder: the use of cut-off behavioral criteria. *Ann N Y Acad Sci.* 2004;1032:167-78. doi: 10.1196/annals.1314.014.
- Corral-Frias NS, Lahood RP, Edelman-Vogelsang KE, French ED, Fellous JM. Involvement of the ventral tegmental area in a rodent model of post-traumatic stress disorder. *Neuropsychopharmacology.* 2013;38(2):350-63. doi: 10.1038/npp.2012.189.
- Couto-Pereira NS, Lampert C, Vieira ADS, Lazzaretti C, Kincheski GC, Espejo PJ, Molina VA, Quillfeldt JA, Dalmaz C. Resilience and Vulnerability to Trauma: Early Life Interventions Modulate Aversive Memory Reconsolidation in the Dorsal Hippocampus. *Front Mol Neurosci.* 2019;12:134. doi: 10.3389/fnmol.2019.00134.
- Covington HE 3rd, Miczek KA. Intense cocaine self-administration after episodic social defeat stress, but not after aggressive behavior: dissociation from corticosterone activation. *Psychopharmacology (Berl).* 2005;183(3):331-40.
- Creamer M, Burgess P, McFarlane AC. Posttraumatic stress disorder: findings from the Australian National Survey of Mental Health and Well-Being. *Psychol Med.* 2001;31(7):1237–1247.

- Crocq MA, Crocq L. From shell shock and war neurosis to posttraumatic stress disorder: a history of psychotraumatology. *Dialogues Clin Neurosci*. 2000;2(1):47-55.
- Darves-Bornoz JM, Alonso J, de Girolamo G, de Graaf R, Haro JM, Kovess-Masfety V, Lepine JP, Nachbaur G, Negre-Pages L, Vilagut G, Gasquet I, ESEMeD/MHEDEA 2000 Investigators. Main traumatic events in Europe: PTSD in the European study of the epidemiology of mental disorders survey. *J Trauma Stress*. 2008;21(5):455-62.
- Davis TA, Jovanovic T, Norrholm SD, Glover EM, Swanson M, Spann S, Bradley B. Substance Use Attenuates Physiological Responses Associated With PTSD among Individuals with Co-Morbid PTSD and SUDs. *J Psychol Psychother*. 2013;Suppl 7:006. doi: 10.4172/2161-0487.S7-006.
- de Lange RP, Wiegant VM, Stam R. Altered neuropeptide Y and neurokinin messenger RNA expression and receptor binding in stress-sensitized rats. *Brain Res*. 2008;1212:35-47. doi: 10.1016/j.brainres.2008.03.018.
- de Vries GJ, Olff M. The lifetime prevalence of posttraumatic stress disorder in the Netherlands. *J Trauma Stress*. 2009;22(4):259–267.
- Deslauriers J, Toth M, Der-Avakian A, Risbrough VB. Current Status of Animal Models of Posttraumatic Stress Disorder: Behavioral and Biological Phenotypes, and Future Challenges in Improving Translation. *Biol Psychiatry*. 2018;83(10):895-907. doi: 10.1016/j.biopsych.2017.11.019.
- Didone V, van Ingelgom T, Tirelli E, Quertemont E. Long-term exposure to daily ethanol injections in DBA/2J and Swiss mice: Lessons for the interpretation of ethanol sensitization. *PLoS One*. 2019;14(11):e0214696. doi: 10.1371/journal.pone.0214696.
- Didone V, Quoilin C, Dieupart J, Tirelli E, Quertemont E. Differential effects of context on psychomotor sensitization to ethanol and cocaine. *Behav Pharmacol*. 2016;27(2-3 Spec Issue):173-81. doi: 10.1097/FBP.0000000000000161.
- Didone V, Masson S, Quoilin C, Seutin V, Quertemont E. Correlation between ethanol behavioral sensitization and midbrain dopamine neuron reactivity to ethanol. *Addict Biol*. 2016;21(2):387-96. doi: 10.1111/adb.12216.
- Didone V. Sensibilisation à l'alcool : Facteurs comportementaux, contextuels et neurobiologiques. Thèse de doctorat. Université de Liège. 2014.
- Didone V, Quoilin C, Tirelli E, Quertemont E. Parametric analysis of the development and expression of ethanol-induced behavioral sensitization in female Swiss mice: effects of dose, injection schedule, and test context. *Psychopharmacology (Berl)*. 2008;201(2):249-60. doi: 10.1007/s00213-008-1266-9.

- Doremus-Fitzwater TL, Spear LP. Age-related differences in amphetamine sensitization: effects of prior drug or stress history on stimulant sensitization in juvenile and adult rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 2010;96(2):198-205. doi: 10.1016/j.pbb.2010.05.005.
- Dworkin ER, Wanklyn S, Stasiewicz PR, Coffey SF. PTSD symptom presentation among people with alcohol and drug use disorders: Comparisons by substance of abuse. *Addict Behav.* 2018;76:188-194. doi: 10.1016/j.addbeh.2017.08.019.
- Eagle AL, Singh R, Kohler RJ, Friedman AL, Liebowitz CP, Galloway MP, Enman NM, Jutkiewicz EM, Perrine SA. Single prolonged stress effects on sensitization to cocaine and cocaine self-administration in rats. *Behav Brain Res.* 2015;284:218-24. doi: 10.1016/j.bbr.2015.02.027.
- Eagle AL, Perrine SA. Methamphetamine-induced behavioral sensitization in a rodent model of posttraumatic stress disorder. *Drug Alcohol Depend.* 2013;131(1-2):36-43. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2013.04.001.
- Edwards S, Baynes BB, Carmichael CY, Zamora-Martinez ER, Barrus M, Koob GF, Gilpin NW. Traumatic stress reactivity promotes excessive alcohol drinking and alters the balance of prefrontal cortex-amygdala activity. *Transl Psychiatry.* 2013;3:e296. doi: 10.1038/tp.2013.70.
- Eisener-Dorman AF, Grabowski-Boase L, Tarantino LM. Cocaine locomotor activation, sensitization and place preference in six inbred strains of mice. *Behav Brain Funct.* 2011;7:29. doi: 10.1186/1744-9081-7-29.
- Enman NM, Zhang Y, Unterwald EM. Connecting the pathology of posttraumatic stress and substance use disorders: monoamines and neuropeptides. *Pharmacol Biochem Behav.* 2014;117:61-9. doi: 10.1016/j.pbb.2013.12.001.
- Ferland CL, Reichel CM, McGinty JF. Effects of oxytocin on methamphetamine-seeking exacerbated by predator odor pre-exposure in rats. *Psychopharmacology (Berl).* 2016;233(6):1015-24. doi: 10.1007/s00213-015-4184-7.
- Fish EW, DeBold JF, Miczek KA. Repeated alcohol: behavioral sensitization and alcohol-heightened aggression in mice. *Psychopharmacology (Berl).* 2002;160(1):39-48. doi: 10.1007/s00213-001-0934-9.
- Flagel SB, Robinson TE. Quantifying the psychomotor activating effects of cocaine in the rat. *Behav Pharmacol.* 2007;18(4):297-302. doi: 10.1097/FBP.0b013e3281f522a4.
- Frans O, Rimmo P-A, Aberg L, Fredrikson M. Trauma exposure and post-traumatic stress disorder in the general population. *Acta Psychiatr Scand.* 2005;111(4):291-299. doi: 10.1111/j.1600-0447.2004.00463.x.

- Fukushima H, Zhang Y, Archbold G, Ishikawa R, Nader K, Kida S. Enhancement of fear memory by retrieval through reconsolidation. *Elife*. 2014;3:e02736. doi: 10.7554/eLife.02736.
- Ganella DE, Kim JH. Developmental rodent models of fear and anxiety: from neurobiology to pharmacology. *Br J Pharmacol*. 2014;171(20):4556-74. doi: 10.1111/bph.12643.
- Garcia EJ, Haddon TN, Saucier DA, Cain ME. Differential housing and novelty response: Protection and risk from locomotor sensitization. *Pharmacol Biochem Behav*. 2017;154:20–30. doi: 10.1016/j.pbb.2017.01.004.
- García Pardo MP, Roger Sánchez C, De la Rubia Ortí JE, Aguilar Calpe MA. Animal models of drug addiction. *Adicciones*. 2017;29(4):278-292. doi: 10.20882/adicciones.862.
- Garcia-Keller C, Martinez SA, Esparza MA, Bollati F, Kalivas PW, Cancela LM. Cross-sensitization between cocaine and acute restraint stress is associated with sensitized dopamine but not glutamate release in the nucleus accumbens. *Eur J Neurosci*. 2013;37(6):982-95. doi: 10.1111/ejn.12121.
- Gawlińska K, Frankowska M, Gawliński D, Piechota M, Korostyński M, Filip M. Cocaine Administration and Its Abstinence Conditions Modulate Neuroglia. *Int J Mol Sci*. 2020;21(21):E7970. doi: 10.3390/ijms21217970.
- GBD 2017 Risk Factor Collaborators. Global, regional, and national comparative risk assessment of 84 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*. 2018;392(10159):1923-1994. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32225-6.
- Gilbertson MW, McFarlane AC, Weathers FW, Keane TM, Yehuda R, Shalev AY, Lasko NB, Goetz JM, Pitman RK; Harvard/VA PTSD Twin Study Investigators. Is trauma a causal agent of psychopathologic symptoms in posttraumatic stress disorder? Findings from identical twins discordant for combat exposure. *J Clin Psychiatry*. 2010;71(10):1324-30. doi: 10.4088/JCP.10m06121blu.
- Gilpin NW, Weiner JL. Neurobiology of comorbid post-traumatic stress disorder and alcohol-use disorder. *Genes Brain Behav*. 2017;16(1):15-43. doi: 10.1111/gbb.12349.
- Goeders NE, Guerin GF. Non-contingent electric footshock facilitates the acquisition of intravenous cocaine self-administration in rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 1994;114(1):63-70. doi: 10.1007/BF02245445.
- Goldstein RB, Smith SM, Chou SP, Saha TD, Jung J, Zhang H, Pickering RP, Ruan WJ, Huang B, Grant BF. The epidemiology of DSM-5 posttraumatic stress disorder in the United States: results from

the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions-III. Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol. 2016;51(8):1137-48. doi: 10.1007/s00127-016-1208-5.

- Goswami S, Rodríguez-Sierra O, Cascardi M, Paré D. Animal models of post-traumatic stress disorder: face validity. Front Neurosci. 2013;7:89. doi: 10.3389/fnins.2013.00089.

- Gradus JL. Prevalence and prognosis of stress disorders: a review of the epidemiologic literature. Clin Epidemiol. 2017;9: 251–260. doi: 10.2147/CLEP.S106250.

- Grant BF, Saha TD, Ruan WJ, Goldstein RB, Chou SP, Jung J, Zhang H, Smith SM, Pickering RP, Huang B, Hasin DS. Epidemiology of DSM-5 Drug Use Disorder: Results From the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions-III. JAMA Psychiatry. 2016;73(1):39-47. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2015.2132.

- Gulick D, Gould TJ. Acute ethanol has biphasic effects on short- and long-term memory in both foreground and background contextual fear conditioning in C57BL/6 mice. Alcohol Clin Exp Res. 2007;31(9):1528-37.

- Gunnar MR, Herrera A, Hostinar CE. Stress et développement précoce du cerveau. 2009. <http://www.enfant-encyclopedie.com/cerveau/selon-experts/stress-et-developpement-precoce-du-cerveau>. Page consultée le 30/09/2020.

- Hasin DS, Grant BF. The National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions (NESARC) Waves 1 and 2: review and summary of findings. Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol. 2015;50(11):1609-40. doi: 10.1007/s00127-015-1088-0.

- Hauffa R, Rief W, Brähler E, Martin A, Mewes R, Glaesmer H. Lifetime traumatic experiences and posttraumatic stress disorder in the German population. J Nerv Ment Dis. 2011;199(12):934–939.

- Hofford RS, Prendergast MA, Bardo MT. Modified single prolonged stress reduces cocaine self-administration during acquisition regardless of rearing environment. Behav Brain Res. 2018;338:143-152. doi: 10.1016/j.bbr.2017.10.023.

- Holly EN, Boyson CO, Montagud-Romero S, Stein DJ, Gobrogge KL, DeBold JF, Miczek KA. Episodic Social Stress-Escalated Cocaine Self-Administration: Role of Phasic and Tonic Corticotropin Releasing Factor in the Anterior and Posterior Ventral Tegmental Area. J Neurosci. 2016;36(14):4093-105. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2232-15.2016.

- Howell DC. (2008). Méthodes statistiques en sciences humaines. Louvain-la-Neuve: Deboeck, 762 pg.

- Hughes, A., Williams, M.R., Lipari, R.N. and Van Horn, S. *State estimates of past year cocaine use among young adults: 2014 and 2015*. The CBHSQ Report: December 20, 2016. Center for

Behavioural Health Statistics and Quality, Substance Abuse and Mental Health Services Administration, Rockville, MD.

- Ihne JL, Fitzgerald PJ, Hefner KR, Holmes A. Pharmacological modulation of stress-induced behavioral changes in the light/dark exploration test in male C57BL/6J mice. *Neuropharmacology*. 2012; 62(1): 464–473. doi: 10.1016/j.neuropharm.2011.08.045.
- Jacobsen LK, Southwick SM, Kosten TR. Substance use disorders in patients with posttraumatic stress disorder: a review of the literature. *Am J Psychiatry*. 2001;158(8):1184-90. doi: 10.1176/appi.ajp.158.8.1184.
- Johnson K, Scott J, Rughita B, Kisielewski M, Asher J, Ong R, Lawry L. Association of sexual violence and human rights violations with physical and mental health in territories of the Eastern Democratic Republic of the Congo. *JAMA*. 2010;304(5):553-62. doi: 10.1001/jama.2010.1086.
- Kaag AM, Levar N, Woutersen K, Homberg J, van den Brink W, Reneman L, van Wingen G. Hyperresponsiveness of the Neural Fear Network During Fear Conditioning and Extinction Learning in Male Cocaine Users. *Am J Psychiatry*. 2016;173(10):1033-1042. doi: 10.1176/appi.ajp.2016.15040433.
- Karam EG, Friedman MJ, Hill ED, Kessler RC, McLaughlin KA, Petukhova M, Sampson L, Shahly V, Angermeyer MC, Bromet EJ, de Girolamo G, de Graaf R, Demyttenaere K, Ferry F, Florescu SE, Haro JM, He Y, Mint MH, Karam AN, Kawakami N, Kovess-Masfety V, Medina-Mora ME, Oakley Browne MA, Posada-Villa JA, Shalev AY, Stein DJ, Viana MC, Zarkov Z, Koenen KC. Cumulative traumas and risk thresholds: 12-month PTSD in the World Mental Health (WMH) Surveys. *Depress Anxiety*. 2014;31(2):130–142. doi: 10.1002/da.22169.
- Kardesler A, Çetin M, Beyhan S. Monitoring of Anxiety-Like Behaviors on Rats with Video Tracking Technology. *International Journal of Applied Mathematics, Electronics and Computers*. 2016;161-161. 10.18100/ijamec.269192.
- Kessler RC, Berglund P, Demler O, Jin R, Merikangas KR, Walters EE. Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch Gen Psychiatry*. 2005;62(6):593-602. doi: 10.1001/archpsyc.62.6.593.
- Kida S. Reconsolidation/destabilization, extinction and forgetting of fear memory as therapeutic targets for PTSD. *Psychopharmacology (Berl)*. 2019;236(1):49-57. doi: 10.1007/s00213-018-5086-2.
- Kidorf M, Disney ER, King VL, Neufeld K, Beilenson PL, Brooner RK. Prevalence of psychiatric and substance use disorders in opioid abusers in a community syringe exchange program. *Drug Alcohol Depend*. 2004;74(2):115-22. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2003.11.014.

- Kilpatrick DG, Resnick HS, Milanak ME, Miller MW, Keyes KM, Friedman MJ. National estimates of exposure to traumatic events and PTSD prevalence using DSM-IV and DSM-5 criteria. *J Trauma Stress*. 2013;26(5):537-47. doi: 10.1002/jts.21848.
- Kline A, Weiner MD, Ciccone DS, Interian A, St Hill L, Losonczy M. Increased risk of alcohol dependency in a cohort of National Guard troops with PTSD: a longitudinal study. *J Psychiatr Res*. 2014;50:18-25. doi: 10.1016/j.jpsychires.2013.11.007.
- Kong E, Monje FJ, Hirsch J, Pollak DD. Learning not to fear: neural correlates of learned safety. *Neuropsychopharmacology*. 2014;39(3):515-27. doi: 10.1038/npp.2013.191.
- Kreibich AS, Briand L, Cleck JN, Ecker L, Rice KC, Blendy JA. Stress-induced potentiation of cocaine reward: a role for CRF R1 and CREB. *Neuropsychopharmacology*. 2009;34(12):2609-17. doi: 10.1038/npp.2009.91.
- Koob GF, Volkow ND. Neurobiology of addiction: a neurocircuitry analysis. *Lancet Psychiatry*. 2016;3(8): 760–773. doi: 10.1016/S2215-0366(16)00104-8.
- Graziane NM, Polter AM, Briand LA, Pierce RC, Kauer JA. Kappa opioid receptors regulate stress-induced cocaine seeking and synaptic plasticity. *Neuron*. 2013;77(5):942-54. doi: 10.1016/j.neuron.2012.12.034.
- Lam KCY, Jadavji NM. Seeking Happiness: Understanding the Mechanisms of Mixing Music and Drugs. *JYI*. 2018;34(5):31-38.
- Langdon KJ, Fox AB, King LA, King DW, Eisen S, Vogt D. Examination of the dynamic interplay between posttraumatic stress symptoms and alcohol misuse among combat-exposed Operation Enduring Freedom (OEF)/Operation Iraqi Freedom (OIF) Veterans. *J Affect Disord*. 2016;196:234-42. doi: 10.1016/j.jad.2016.02.048.
- Lasseter HC, Xie X, Arguello AA, Wells AM, Hodges MA, Fuchs RA. Contribution of a mesocorticolimbic subcircuit to drug context-induced reinstatement of cocaine-seeking behavior in rats. *Neuropsychopharmacology*. 2014;39(3):660-9. doi: 10.1038/npp.2013.249.
- Le Dorze C, Tassin JP, Chauveau F, Gisquet-Verrier P. Behavioral and Noradrenergic Sensitizations in Vulnerable Traumatized Rats Suggest Common Bases with Substance Use Disorders. *Mol Neurobiol*. 2019;56(1):611-620. doi: 10.1007/s12035-018-1053-5.
- LeDoux JE. Emotion circuits in the brain. *Annu Rev Neurosci*. 2000;23:155-84. doi: 10.1146/annurev.neuro.23.1.155.

- Lessov CN, Palmer AA, Quick EA, Phillips TJ. Voluntary ethanol drinking in C57BL/6J and DBA/2J mice before and after sensitization to the locomotor stimulant effects of ethanol. *Psychopharmacology (Berl)*. 2001;155(1):91-9. doi: 10.1007/s002130100699.
- Lessov CN, Risinger FO, Phillips TJ. Attenuation of ethanol-induced conditioned taste aversion in mice sensitized to the locomotor stimulant effects of ethanol. *Behav Neurosci*. 2001;115(1):146-53. doi: 10.1037/0735-7044.115.1.146.
- Lewis CR, Staudinger K, Tomek SE, Hernandez R, Manning T, Olive MF. Early life stress and chronic variable stress in adulthood interact to influence methamphetamine self-administration in male rats. *Behav Pharmacol*. 2016;27(2-3 Spec Issue):182-4. doi: 10.1097/FBP.0000000000000166.
- Liberzon I, Krstov M, Young EA. Stress-restress: effects on ACTH and fast feedback. *Psychoneuroendocrinology*. 1997;22:443–53. doi: 10.1016/s0306-4530(97)00044-9.
- Lisieski MJ, Eagle AL, Conti AC, Liberzon I, Perrine SA. Single-Prolonged Stress: A Review of Two Decades of Progress in a Rodent Model of Post-traumatic Stress Disorder. *Front Psychiatry*. 2018;9:196. doi: 10.3389/fpsyt.2018.00196.
- Lisieski MJ, Perrine SA. Binge-pattern cocaine administration causes long-lasting behavioral hyperarousal but does not enhance vulnerability to single prolonged stress in rats. *Psychiatry Res*. 2017;257:95-101. doi: 10.1016/j.psychres.2017.07.026.
- Logrip ML, Zorrilla EP, Koob GF. Stress modulation of drug self-administration: implications for addiction comorbidity with post-traumatic stress disorder. *Neuropharmacology*. 2012;62(2):552-64. doi: 10.1016/j.neuropharm.2011.07.007.
- Lopez-Quintero C, Pérez de los Cobos J, Hasin DS, Okuda M, Wang S, Grant BF, Blanco C. Probability and predictors of transition from first use to dependence on nicotine, alcohol, cannabis, and cocaine: results of the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions (NESARC). *Drug Alcohol Depend*. 2011;115(1-2):120-30. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2010.11.004
- Lu L, Liu Z, Huang M, Zhang Z. Dopamine-dependent responses to cocaine depend on corticotropin-releasing factor receptor subtypes. *J Neurochem*. 2003;84(6):1378-86. doi: 10.1046/j.1471-4159.2003.01635.x.
- Luikinga SJ, Perry CJ, Madsen HB, Lawrence AJ, Kim JH. Effects of Methamphetamine Exposure on Fear Learning and Memory in Adult and Adolescent Rats. *Neurochem Res*. 2019;44(9):2081-2091. doi: 10.1007/s11064-019-02845-x.
- Lynch WJ, Nicholson KL, Dance ME, Morgan RW, Foley PL. Animal models of substance abuse and addiction: implications for science, animal welfare, and society. *Comp Med*. 2010;60(3):177-88.

- Macedo GC, Morita GM, Domingues LP, Favoretto CA, Suchecki D, Quadros IMH. Consequences of continuous social defeat stress on anxiety- and depressive-like behaviors and ethanol reward in mice. *Horm Behav.* 2018;97:154-161. doi: 10.1016/j.yhbeh.2017.10.007.
- Madruga C, Xavier LL, Achaval M, Sanvitto GL, Lucion AB. Early handling, but not maternal separation, decreases emotional responses in two paradigms of fear without changes in mesolimbic dopamine. *Behav Brain Res.* 2006;166(2):241-6. doi: 10.1016/j.bbr.2005.08.005.
- Maeda T, Yoshimatsu T, Hamabe W, Fukazawa Y, Kumamoto K, Ozaki M, Kishioka S. Involvement of serine/threonine protein phosphatases sensitive to okadaic acid in restraint stress-induced hyperlocomotion in cocaine-sensitized mice. *Br J Pharmacol.* 2006;148(4):405-12. doi: 10.1038/sj.bjp.0706769.
- Mahan AL, Ressler KJ. Fear conditioning, synaptic plasticity and the amygdala: implications for posttraumatic stress disorder. *Trends Neurosci.* 2012;35(1):24-35. doi: 10.1016/j.tins.2011.06.007.
- Makris N, Oscar-Berman M, Jaffin SK, Hodge SM, Kennedy DN, Caviness VS, Marinkovic K, Breiter HC, Gasic GP, Harris GJ. Decreased volume of the brain reward system in alcoholism. *Biol Psychiatry.* 2008;64(3):192-202. doi: 10.1016/j.biopsych.2008.01.018.
- Malikowska-Racia N, Salat K. Recent advances in the neurobiology of posttraumatic stress disorder: A review of possible mechanisms underlying an effective pharmacotherapy. *Pharmacol Res.* 2019;142:30-49. doi: 10.1016/j.phrs.2019.02.001.
- Mantsch JR, Baker DA, Francis DM, Katz ES, Hoks MA, Serge JP. Stressor-and corticotropin releasing factor-induced reinstatement and active stress-related behavioral responses are augmented following long-access cocaine self-administration by rats. *Psychopharmacol.* 2008;195(4):591-603. doi: 10.1007/s00213-007-0950-5.
- Marel C, Sunderland M, Mills KL, Slade T, Teesson M, Chapman C. Conditional probabilities of substance use disorders and associated risk factors: Progression from first use to use disorder on alcohol, cannabis, stimulants, sedatives and opioids. *Drug Alcohol Depend.* 2019;194:136-142. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2018.10.010.
- Matchynski-Franks JJ, Susick LL, Schneider BL, Perrine SA, Conti AC. Impaired Ethanol-Induced Sensitization and Decreased Cannabinoid Receptor-1 in a Model of Posttraumatic Stress Disorder. *PLoS One.* 2016;11(5):e0155759. doi: 10.1371/journal.pone.0155759.
- Matthews DB, Morrow AL, O'Buckley T, Flanigan TJ, Berry RB, Cook MN, Mittleman G, Goldowitz D, Tokunaga S, Silvers JM. Acute mild footshock alters ethanol drinking and plasma

- corticosterone levels in C57BL/6J male mice, but not DBA/2J or A/J male mice. *Alcohol*. 2008;42(6):469-76. doi: 10.1016/j.alcohol.2008.05.001.
- McCauley JL, Killeen T, Gros DF, Brady KT, Back SE. Posttraumatic Stress Disorder and Co-Occurring Substance Use Disorders: Advances in Assessment and Treatment. *Clin Psychol (New York)*. 2012;19(3). doi: 10.1111/cpsp.12006.
 - McEwen BS. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol Rev*. 2007;87(3):873-904. doi: 10.1152/physrev.00041.2006.
 - Melón LC, Boehm SL 2nd. Role of genotype in the development of locomotor sensitization to alcohol in adult and adolescent mice: comparison of the DBA/2J and C57BL/6J inbred mouse strains. *Alcohol Clin Exp Res*. 2011;35(7):1351-60. doi: 10.1111/j.1530-0277.2011.01471.x.
 - Meyer EM, Long V, Fanselow MS, Spigelman I. Stress increases voluntary alcohol intake but does not alter established drinking habits in a rat model of post-traumatic stress disorder. *Alcohol Clin Exp Res*. 2013; 37(4): 566–574. doi: 10.1111/acer.12012..
 - Maldonado R. Le système opioïde endogène et l'addiction aux drogues. *Ann Pharm Fr*. 2010;68(1):3–11. doi:10.1016/j.pharma.2009.12.001.
 - Mello NK, Negus SS, Rice KC, Mendelson JH. Effects of the CRF1 antagonist antalarmin on cocaine self-administration and discrimination in rhesus monkeys. *Pharmacol Biochem Behav*. 2006;85(4):744-51. doi: 10.1016/j.pbb.2006.11.008.
 - Moffett MC, Goeders NE. Neither non-contingent electric footshock nor administered corticosterone facilitate the acquisition of methamphetamine self-administration. *Pharmacol Biochem Behav*. 2005;80(2):333-9. doi: 10.1016/j.pbb.2004.12.003.
 - Morena M, Aukema RJ, Leitel KD, Rashid AJ, Vecchiarelli HA, Josselyn SA, Hill MN. Upregulation of Anandamide Hydrolysis in the Basolateral Complex of Amygdala Reduces Fear Memory Expression and Indices of Stress and Anxiety. *J Neurosci*. 2019;39(7):1275-1292. doi: 10.1523/JNEUROSCI.2251-18.2018.
 - Mozhui K, Karlsson RM, Kash TL, Ihne J, Norcross M, Patel S, Farrell MR, Hill EE, Graybeal C, Martin KP, Camp M, Fitzgerald PJ, Ciobanu DC, Sprengel R, Mishina M, Wellman CL, Winder DG, Williams RW, Holmes A. Strain differences in stress responsivity are associated with divergent amygdala gene expression and glutamate-mediated neuronal excitability. *J Neurosci*. 2010;30(15):5357-67. doi: 10.1523/JNEUROSCI.5017-09.2010.

- Mukhara D, Banks ML, Neigh GN. Stress as a Risk Factor for Substance Use Disorders: A Mini-Review of Molecular Mediators. *Front Behav Neurosci.* 2018;12:309. doi: 10.3389/fnbeh.2018.00309.
- Muñoz-Abellán C, Daviu N, Rabasa C, Nadal R, Armario A. Cat odor causes long-lasting contextual fear conditioning and increased pituitary-adrenal activation, without modifying anxiety. *Horm Behav.* 2009;56(4):465-71. doi: 10.1016/j.yhbeh.2009.08.002.
- Najavits LM, Runkel R, Neuner C, Frank AF, Thase ME, Crits-Christoph P, Blaine J. Rates and symptoms of PTSD among cocaine-dependent patients. *J Stud Alcohol.* 2003;64(5):601-6. doi: 10.15288/jsa.2003.64.601.
- Najavits LM, Gastfriend DR, Barber JP, Reif S, Muenz LR, Blaine J, Frank A, Crits-Christoph P, Thase M, Weiss RD. Cocaine dependence with and without PTSD among subjects in the National Institute on Drug Abuse Collaborative Cocaine Treatment Study. *Am J Psychiatry.* 1998;155(2):214-9. doi: 10.1176/ajp.155.2.214.
- Newton-Howes G, Cook S, Martin G, Foulds JA, Boden JM. Comparison of age of first drink and age of first intoxication as predictors of substance use and mental health problems in adulthood. *Drug Alcohol Depend.* 2019;194:238-243. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2018.10.012.
- Nugent NR, Amstadter AB, Koenen KC. Genetics of post-traumatic stress disorder: informing clinical conceptualizations and promoting future research. *Am J Med Genet C Semin Med Genet.* 2008;148C(2):127-32. doi: 10.1002/ajmg.c.30169.
- Pastor R, Reed C, Meyer PJ, McKinnon C, Ryabinin AE, Phillips TJ. Role of corticotropin-releasing factor and corticosterone in behavioural sensitization to ethanol. *J Pharmacol Exp Ther.* 2012;341(2):455-63. doi: 10.1124/jpet.111.190595.
- Pastor R, McKinnon CS, Scibelli AC, Burkhart-Kasch S, Reed C, Ryabinin AE, Coste SC, Stenzel-Poore MP, Phillips TJ. Corticotropin-releasing factor-1 receptor involvement in behavioral neuroadaptation to ethanol: a urocortin1-independent mechanism. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(26):9070-5. doi: 10.1073/pnas.0710181105.
- Pietrzak RH, Goldstein RB, Southwick SM, Grant BF. Prevalence and Axis I comorbidity of full and partial posttraumatic stress disorder in the United States: results from Wave 2 of the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions. *J Anxiety Disord.* 2011;25(3):456-65. doi: 10.1016/j.janxdis.2010.11.010.

- Pitman RK, Rasmusson AM, Koenen KC, Shin LM, Orr SP, Gilbertson MW, Milad MR, Liberzon I. Biological studies of post-traumatic stress disorder. *Nat Rev Neurosci.* 2012;13(11):769-87. doi: 10.1038/nrn3339.
- Pizzimenti CL, Navis TM, Lattal KM. Persistent effects of acute stress on fear and drug-seeking in a novel model of the comorbidity between post-traumatic stress disorder and addiction. *Learn Mem.* 2017;24(9):422-431. doi: 10.1101/lm.044164.116.
- Quadir SG, Santos JR, Campbell RR, Wroten MG, Singh N, Holloway JJ, Bal SK, Camarini R, Szumlinski KK. Homer2 regulates alcohol and stress cross-sensitization. *Addict Biol.* 2016;21(3):613-33. doi: 10.1111/adb.12252.
- Quadros IM, Miczek KA. Two modes of intense cocaine bingeing: increased persistence after social defeat stress and increased rate of intake due to extended access conditions in rats. *Psychopharmacology (Berl).* 2009;206(1):109-20. doi: 10.1007/s00213-009-1584-6.
- Quiñones-Laracuente K, Hernández-Rodríguez MY, Bravo-Rivera C, Melendez RI, Quirk GJ. The effect of repeated exposure to ethanol on pre-existing fear memories in rats. *Psychopharmacology (Berl).* 2015;232(19):3615-22. doi: 10.1007/s00213-015-4016-9.
- R Core Team (2020). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rademacher DJ, Mendoza-Elias N, Meredith GE. Effects of context-drug learning on synaptic connectivity in the basolateral nucleus of the amygdala in rats. *Eur J Neurosci.* 2015;41(2):205-15. doi: 10.1111/ejn.12781.
- Reznikov R, Diwan M, Nobrega JN, Hamani C. Towards a better preclinical model of PTSD: characterizing animals with weak extinction, maladaptive stress responses and low plasma corticosterone. *J Psychiatr Res.* 2015;61:158-65. doi: 10.1016/j.jpsychires.2014.12.017.
- Richter-Levin G, Stork O, Schmidt MV. Animal models of PTSD: a challenge to be met. *Mol Psychiatry.* 2019;24(8):1135-1156. doi: 10.1038/s41380-018-0272-5.
- Roberto M, Spierling SR, Kirson D, Zorrilla EP. Corticotropin-Releasing Factor (CRF) and Addictive Behaviors. *Int Rev Neurobiol.* 2017;136:5-51. doi: 10.1016/bs.irm.2017.06.004.
- Robinson TE, Berridge KC. The incentive sensitization theory of addiction: some current issues. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2008;363(1507): 3137–3146. doi: 10.1098/rstb.2008.0093.
- Robinson TE, Berridge KC. The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Res Brain Res Rev.* 1993;18(3):247-91. doi: 10.1016/0165-0173(93)90013-P.

- Roelofs K. Freeze for action: neurobiological mechanisms in animal and human freezing. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2017 Apr 19;372(1718):20160206. doi: 10.1098/rstb.2016.0206.
- Rosenman S. Trauma and posttraumatic stress disorder in Australia: findings in the population sample of the Australian National Survey of Mental Health and Well-Being. *Aust N Z J Psychiatry.* 2002;6(4):515–520. doi: 10.1046/j.1440-1614.2002.01039.x.
- Ruglass LM, Shevorykin A, Brezing C, Hu MC, Hien DA. Demographic and clinical characteristics of treatment seeking women with full and subthreshold PTSD and concurrent cannabis and cocaine use disorders. *J Subst Abuse Treat.* 2017;80:45-51. doi: 10.1016/j.jsat.2017.06.007.
- Saladin ME, Brady KT, Dansky BS, Kilpatrick DG. Understanding comorbidity between PTSD and substance use disorders: two preliminary investigations. *Addict Behav.* 1995;20(5):643-55. doi: 10.1016/0306-4603(95)00024-7.
- Sanders MJ, Wiltgen BJ, Fanselow MS. The place of the hippocampus in fear conditioning. *Eur J Pharmacol.* 2003;463(1-3):217-23. doi: 10.1016/s0014-2999(03)01283-4.
- Santos-Rocha JB, Rae M, Teixeira AMA, Teixeira SA, Munhoz CD, Muscará MN, Marcourakis T, Szumlinski KK, Camarini R. Involvement of neuronal nitric oxide synthase in cross-sensitization between chronic unpredictable stress and ethanol in adolescent and adult mice. *Alcohol.* 2018;68:71-79. doi: 10.1016/j.alcohol.2017.10.004.
- Saunders EC, Lambert-Harris C, McGovern MP, Meier A, Xie H. The Prevalence of Posttraumatic Stress Disorder Symptoms among Addiction Treatment Patients with Cocaine Use Disorders. *J Psychoactive Drugs.* 2015;47(1):42-50. doi: 10.1080/02791072.2014.977501.
- Schöner J, Heinz A, Endres M, Gertz K, Kronenberg G. Post-traumatic stress disorder and beyond: an overview of rodent stress models. *J Cell Mol Med.* 2017;21(10):2248-2256. doi: 10.1111/jcmm.13161.
- Schwendt M, Shallcross J, Hadad NA, Namba MD, Hiller H, Wu L, Krause EG, Knackstedt LA. A novel rat model of comorbid PTSD and addiction reveals intersections between stress susceptibility and enhanced cocaine seeking with a role for mGlu5 receptors. *Transl Psychiatry.* 2018;8(1):209. doi: 10.1038/s41398-018-0265-9.
- Scuvée-Moreau J. Neurobiologie de l'addiction. *Rev Med Liège.* 2013;68:5-6: 211-217.
- Seal KH, Cohen G, Waldrop A, Cohen BE, Maguen S, Ren L. Substance use disorders in Iraq and Afghanistan veterans in VA healthcare, 2001-2010: Implications for screening, diagnosis and treatment. *Drug Alcohol Depend.* 2011;116(1-3):93-101. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2010.11.027.

- Secades-Villa R, Garcia-Rodríguez O, Jin CJ, Wang S, Blanco C. Probability and predictors of the cannabis gateway effect: a national study. *Int J Drug Policy*. 2015;26(2):135-42. doi: 10.1016/j.drugpo.2014.07.011.
- Seligman ME, Beagley G. Learned helplessness in the rat. *J Comp Physiol Psychol*. 1975;88: 534–41. doi: 10.1037/h0076430.
- Seligman ME. Learned helplessness. *Annu Rev Med*. 1972;23:407–12. doi: 10.1146/annurev.me.23.020172.002203.
- Seo JY, Ko YH, Ma SX, Lee BR, Lee SY, Jang CG. Repeated restraint stress reduces the acquisition and relapse of methamphetamine-conditioned place preference but not behavioral sensitization. *Brain Res Bull*. 2018;139:99-104. doi: 10.1016/j.brainresbull. 2018.01.018.
- Shin LM, Rauch SL, Pitman RK. Amygdala, medial prefrontal cortex, and hippocampal function in PTSD. *Ann N Y Acad Sci*. 2006;1071:67-79. doi: 10.1196/annals.1364.007.
- Shimizu C, Oki Y, Mitani Y, Nakamura T, Nabeshima T. Factors Affecting Ethanol-Induced Conditioned Place Preference and Locomotor Sensitization in Mice. *Biol Pharm Bull*. 2015;38(12):1935-45. doi: 10.1248/bpb.b15-00626.
- Siegmund A, Dahlhoff M, Habersetzer U, Mederer A, Wolf E, Holsboer F, Wotjak CT. Maternal inexperience as a risk factor of innate fear and PTSD-like symptoms in mice. *J Psychiatr Res*. 2009;43(14):1156-65. doi: 10.1016/j.jpsychires.2009.02.003.
- Siegmund A, Wotjak CT. A mouse model of posttraumatic stress disorder that distinguishes between conditioned and sensitised fear. *J Psychiatr Res*. 2007a;41(10):848-60. doi: 10.1016/j.jpsychires.2006.07.017.
- Siegmund A, Wotjak CT. Hyperarousal does not depend on trauma-related contextual memory in an animal model of Posttraumatic Stress Disorder. *Physiol Behav*. 2007b;90(1):103-7. doi: 10.1016/j.physbeh.2006.08.032.
- Stelly CE, Pomrenze MB, Cook JB, Morikawa H. Repeated social defeat stress enhances glutamatergic synaptic plasticity in the VTA and cocaine place conditioning. *Elife*. 2016;5: e15448. doi: 10.7554/eLife.15448.
- Stevenson RA, Besheer J, Hodge CW. Comparison of ethanol locomotor sensitization in adolescent and adult DBA/2J mice. *Psychopharmacology (Berl)*. 2008;197(3):361-70. doi: 10.1007/s00213-007-1038-y.

- Substance Abuse and Mental Health Services Administration (SAMHSA). Results from the 2006 National Survey on Drug Use and Health: National findings Office of Applied Studies, Rockville, MD (2007).
- Sullivan TP, Holt LJ. PTSD symptom clusters are differentially related to substance use among community women exposed to intimate partner violence. *J Trauma Stress*. 2008;21(2):173-80. doi: 10.1002/jts.20318.
- Tambour S, Didone V, Tirelli E, Quertemont E. Locomotor effects of ethanol and acetaldehyde after peripheral and intraventricular injections in Swiss and C57BL/6J mice. *Behav Brain Res*. 2006;172(1):145-54. doi: 10.1016/j.bbr.2006.05.010.
- Taylor SB, Watterson LR, Kufahl PR, Nemirovsky NE, Tomek SE, Conrad CD, Olive MF. Chronic variable stress and intravenous methamphetamine self-administration - Role of individual differences in behavioral and physiological reactivity to novelty. *Neuropharmacology*. 2016;108:353-63. doi: 10.1016/j.neuropharm.2016.05.003.
- Török B, Sipos E, Pivac N, Zelena D. Modelling posttraumatic stress disorders in animals. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2019;90:117-133. doi: 10.1016/j.pnpbp.2018.11.013.
- Toyoda A. Social defeat models in animal science: What we have learned from rodent models. *Anim Sci J*. 2017;88(7):944-952. doi: 10.1111/asj.12809.
- Tull MT, Gratz KL, Aklin WM, Lejuez CW. A preliminary examination of the relationships between posttraumatic stress symptoms and crack/cocaine, heroin, and alcohol dependence. *J Anxiety Disord*. 2010;24(1):55-62. doi: 10.1016/j.janxdis.2009.08.006.
- Uhl GR, Koob GF, Cable J. The neurobiology of addiction. *Ann N Y Acad Sci*. 2019;1451(1):5-28. doi: 10.1111/nyas.13989.
- Valjent E, Bertran-Gonzalez J, Aubier B, Greengard P, Hervé D, Girault JA. Mechanisms of locomotor sensitization to drugs of abuse in a two-injection protocol. *Neuropsychopharmacology*. 2010;35(2):401-15. doi: 10.1038/npp.2009.143.
- van Ameringen M, Mancini C, Patterson B, Boyle MH. Post-traumatic stress disorder in Canada. *CNS Neurosci Ther*. 2008;14(3):171–181. doi: 10.1111/j.1755-5949.2008.00049.x.
- Van Dijken HH, Van der Heyden JA, Mos J, Tilders FJ. Inescapable footshocks induce progressive and long-lasting behavioural changes in male rats. *Physiol Behav*. 1992;51:787–94. doi: 10.1016/0031-9384(92)90117-k.
- Walf AA, Frye CA. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nat Protoc*. 2007;2(2):322-8. doi: 10.1038/nprot.2007.44.

- Webber-Waugh A, Thaxter Nesbeth K, Anderson-Johnson P, Salako-Akande A, Asemota H and Young L. Drug Seeking Behavior of Amphetamine Addicted Sprague-Dawley Rats Is Eliminated after Nutritional Supplementation. *Journal of Behavioral and Brain Science*. 2017;7:585-597. doi: 10.4236/jbbs.2017.712041.
- Wiechelt SA, Miller BA, Smyth NJ, Maguin E. Associations between post-traumatic stress disorder symptoms and alcohol and other drug problems: Implications for social work practice. *Practice (Birm)*. 2011;23(4):183-199. doi:10.1080/09503153.2011.597200.
- Witkiewitz K, Stein ER, Votaw VR, Wilson AD, Roos CR, Gallegos SJ, Clark VP, Claus ED. Mindfulness-Based Relapse Prevention and Transcranial Direct Current Stimulation to Reduce Heavy Drinking: A Double-Blind Sham-Controlled Randomized Trial. *Alcohol Clin Exp Res*. 2019;43(6):1296-1307. doi: 10.1111/acer.14053.
- Wood SC, Fay J, Sage JR, Anagnostaras SG. Cocaine and Pavlovian fear conditioning: dose-effect analysis. *Behav Brain Res*. 2007;176(2):244-50. doi: 10.1016/j.bbr.2006.10.008.
- Xue Y, Steketee JD, Rebec GV, Sun W. Activation of D₂-like receptors in rat ventral tegmental area inhibits cocaine-reinstated drug-seeking behavior. *Eur J Neurosci*. 2011;33(7):1291-8. doi: 10.1111/j.1460-9568.2010.07591.x.
- Yang TT, Simmons AN, Matthews SC, Tapert SF, Bischoff-Grethe A, Frank GK, Arce E, Paulus MP. Increased amygdala activation is related to heart rate during emotion processing in adolescent subjects. *Neurosci Lett*. 2007;428(2-3):109-14. doi: 10.1016/j.neulet.2007.09.039.
- Yang Y, Babygirija R, Zheng J, Shi B, Sun W, Zheng X, Zhang F, Cao Y. Central Neuropeptide Y Plays an Important Role in Mediating the Adaptation Mechanism Against Chronic Stress in Male Rats. *Endocrinology*. 2018;159(3):1525-1536. doi: 10.1210/en.2018-00045.
- Yap JJ, Chartoff EH, Holly EN, Potter DN, Carlezon WA Jr, Miczek KA. Social defeat stress-induced sensitization and escalated cocaine self-administration: the role of ERK signaling in the rat ventral tegmental area. *Psychopharmacology (Berl)*. 2015;232(9):1555-69. doi: 10.1007/s00213-014-3796-7.
- Yehuda R, Antelman SM. Criteria for rationally evaluating animal models of posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry*. 1993;33(7):479-86. doi: 10.1016/0006-3223(93)90001-t.
- Zapata A, Chefer VI, Ator R, Shippenberg TS, Rocha BA. Behavioural sensitization and enhanced dopamine response in the nucleus accumbens after intravenous cocaine self-administration in mice. *Eur J Neurosci*. 2003;17(3):590-6. doi: 10.1046/j.1460-9568.2003.02491.x.

- Zoladz PR, Eisenmann ED, Rose RM, Kohls BA, Johnson BL, Robinson KL, Heikkila ME, Mucher KE, Huntley MR. Predator-based psychosocial stress model of PTSD differentially influences voluntary ethanol consumption depending on methodology. *Alcohol*. 2018;70:33-41. doi: 10.1016/j.alcohol.2018.01.004.

