

Université de Liège

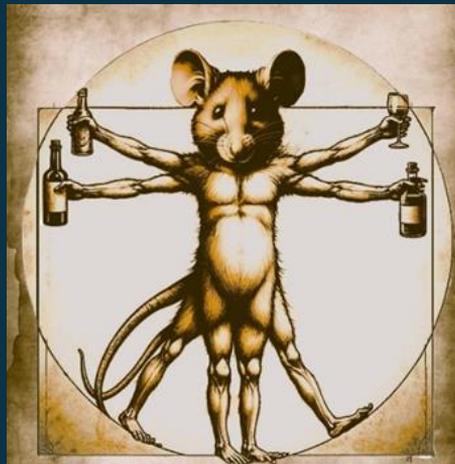
Faculté de Psychologie, Logopédie et Sciences de l'Éducation (FPLSE)

Département de Psychologie : Psychologie quantitative

Psychologie et Neuroscience Cognitives (PsyNCog) :

Psychopharmacologie et addictions / Modèles animaux de l'addiction

Effets de l'environnement social sur la vulnérabilité aux effets toxicomanogènes de l'alcool chez la souris



Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de

Doctorat en Sciences Psychologiques

Par

Théo van Ingelgom

Sous la direction du Pr. Étienne Quertemont et du Pr. Vincent Didone

Université de Liège

Faculté de Psychologie, Logopédie et Sciences de l'Éducation (FPLSE)

Département de Psychologie : Psychologie quantitative
Psychologie et Neuroscience Cognitives (PsyNCog) :
Psychopharmacologie et addictions / Modèles animaux de l'addiction

Effets de l'environnement social sur la vulnérabilité aux effets toxicomanogènes de l'alcool chez la souris

Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de
Doctorat en Sciences Psychologiques

Par

Théo van Ingelgom

Sous la direction du Pr. Étienne Quertemont et du Pr. Vincent Didone

Et

Sous l'évaluation du jury composé de

Pr. Olivier Pierrefiche
Pr. Pierre Maurage
Pr. André Ferrara (Président)
Pr. Ezio Tirelli (Secrétaire)
Pr. Étienne Quertemont
Pr. Vincent Didone

Liège, 2024

Les théories contemporaines de l'addiction postulent que la consommation chronique d'alcool entraîne des ajustements neurocomportementaux durables. Ainsi, certains effets de l'alcool diminuent progressivement, tandis que d'autres augmentent ou émergent. Ces phénomènes sont respectivement appelés « tolérance chronique » et « sensibilisation ». Ces processus adaptatifs constituent deux facettes importantes du passage d'une consommation modérée vers le syndrome d'addiction alcoolique. La vulnérabilité à ces adaptations dépend en partie des conditions de vie. Parmi celles-ci, on cite souvent les conditions environnementales dans lesquelles un individu subsiste, en particulier pendant la période sensible de l'adolescence. Il est cependant difficile d'étudier ces effets chez l'homme, faute de pouvoir les manipuler expérimentalement. Les modèles murins suggèrent que des environnements enrichis peuvent atténuer les comportements addictogènes de certaines substances, bien que les effets sur l'alcool soient moins clairs. Contrairement aux drogues stimulantes, l'impact de l'environnement sur la sensibilisation ou encore la tolérance à l'alcool reste largement sous étudié, malgré certaines indications démontrant que l'enrichissement pourrait avoir des effets préventifs ou thérapeutiques sur ces mêmes phénomènes. Afin de tester différentes hypothèses, des souris de souche Swiss ont été élevées en groupes de différentes tailles sociales. La première thématique était d'étudier l'influence de ces conditions d'hébergement sur la sensibilisation locomotrice et la tolérance aux effets sédatifs et hypothermiques induits par une exposition chronique à l'éthanol. La deuxième thématique cherchait à investiguer l'influence conjointe de ces hébergements et d'une dose unique d'éthanol sur les comportements liés à l'anxiété, la réponse et l'habituation à la nouveauté. Nos principaux résultats démontrent que ces conditions d'hébergement influent sur les effets stimulants aigus de l'éthanol ; les individus isolés manifestant des réponses locomotrices renforcées, mettant en évidence l'impact négatif de l'isolement sur la réponse à l'éthanol. Bien que le développement de la sensibilisation ne varie pas entre les groupes, les niveaux sensibilisés sont réduits chez les individus hébergés en grands groupes. Malgré un taux de tolérance similaire entre les groupes, l'isolement potentialise le score de tolérance à l'alcool par rapport à l'hébergement social. Ces résultats suggèrent que l'environnement social peut réguler la vulnérabilité de ces deux phénomènes. En outre, une faible dose d'éthanol réduit les comportements liés à l'anxiété indépendamment de l'hébergement. De plus, les individus hébergés en groupes plus importants manifestent une adaptation à la nouveauté, tandis que l'isolement conduit à une activité locomotrice persistante élevée. Cette thèse met en évidence l'interaction complexe entre les facteurs comportementaux et environnementaux dans l'addiction alcoolique et souligne l'importance de considérer les conditions environnementales dans les études sur l'addiction. Ces résultats soulignent par ailleurs l'importance de l'enrichissement environnemental et des interactions sociales dans la promotion de comportements adaptatifs et l'atténuation des conséquences négatives du stress.

Remerciements

Ainsi donc, j'ai survécu à l'ascension de cette montagne académique, atteignant enfin son sommet (le dénouement de cette thèse). Toutefois, je ne pourrais prétendre l'avoir gravi seul. Oh que non ! J'ai été hissé, poussé, voire parfois légèrement traîné par une troupe extraordinaire de personnes. Chacun d'entre vous, mentionné ici dans un ordre traditionnel, mais totalement arbitraire, a joué un rôle capital. Que ce soit en me fournissant des interludes, de l'oxygène intellectuel ou en me sauvant des avalanches de doutes, vous avez tous été aussi indispensables les uns que les autres. Pour paraphraser un certain Michael Scott (de la série « The Office »), « *I'm not superstitious, but I am a little stitious* », ce qui signifie que même si je ne suis certainement pas enclin à croire aux porte-bonheurs, aux charmes ou tout autre symbole de chance, je suis fermement convaincu que votre soutien m'a été essentiel pour arriver au bout de ce projet. Alors, si vous vous reconnaissez dans les quelques mots qui vont suivre, sachez que c'est aussi votre faute si j'en suis arrivé au dépôt de ce manuscrit !

Tout d'abord, je tiens à remercier le Professeur Étienne Quertemont, mon premier promoteur. La porte de votre bureau fut toujours ouverte, ou presque, suggérant une invitation permanente à la connaissance, à la sagesse et à l'humour. Votre disponibilité inébranlable et votre sainte patience m'ont aidé à naviguer dans les eaux parfois troubles de la recherche. Le Professeur Quertemont est le genre de promoteur qui, en plus de partager son expertise et ses conseils avisés, garde toujours dans sa poche arrière des sujets de discussion et des anecdotes autant intéressantes qu'insolites, ces derniers ont ce précieux pouvoir d'alléger les moments de stress et de doute. Je pense par exemple à ses cours de psychostatistique, où il se présente fréquemment aux étudiants de premier cycle avec un humour pince-sans-rire, dont lui-seul a le secret, comme « *l'horrible et méchant professeur de statistiques* ». Ses compétences académiques autant que pédagogiques participent par ailleurs activement à la déconstruction des

stéréotypes et à la régulation des préjugés que peuvent engendrer cette discipline. Pour ceci, Étienne, je vous remercie de m'avoir donné l'envie de me lever le matin pour assister à tous vos cours, notamment lorsqu'il s'agissait de monter la côte du Sart-Tilman à pied lors des jours de grève du TEC. Merci également de m'avoir appris que l'absence de preuves statistiques n'équivaut pas à la preuve de l'absence, et de m'avoir rappelé qu'il ne faut certainement pas se décourager face à l'absence de résultats ou sous la pression de devoir en obtenir. Votre capacité bienveillante à me guider a vraiment été une ressource inestimable dans ce voyage académique. Je vous remercie infiniment pour avoir contribué à me donner goût à la méthodologie quantitative, pour la curiosité que vous avez éveillé en moi pour l'étude des addictions et pour l'intérêt profond que vous avez porté à ce projet qui a germé il y a maintenant six ans, à l'époque où mes cheveux étaient bien plus longs et où mes projets de Master semblaient aussi frais que le « rosé du matin ». Que ce voyage ait été long, c'est une évidence, mais grâce à vous, il a été incroyablement enrichissant, et pas seulement pour nos sujets d'étude... Merci Étienne !

Ensuite, je tiens à adresser ces quelques mots à Vincent Didone, le co-promoteur de cette thèse. Mon cher Vincent, « Chef », ou encore « Vincent B32 », comme j'aimais t'appeler, un immense merci ! Tu as endossé avec brio bien des rôles : « *l'assistant de Quertemont qui donne les TP de stats* », formateur, superviseur, maître de stage, co-promoteur, chauffeur occasionnel, directeur de l'animalerie, professeur associé, mentor et certainement bien d'autres encore. Fort heureusement pour moi, au-delà de toutes ces casquettes, tu es devenu aujourd'hui un ami. Merci d'avoir été plus qu'un guide, un véritable compagnon de route dans ce périple. Chaque rôle que tu as pu jouer a constitué une pièce essentielle dans le puzzle de mon parcours académique. Depuis près de huit ans, tu as été cette encyclopédie bipède à laquelle je me réfère. Nos petites trêves dans le patio, la kitchenette, à la photocopieuse ou encore sur le quai de déchargement, agrémentées de conversations toujours très variées, vont véritablement me manquer. Ta contribution dépasse largement les frontières de l'universitaire. Ton

expertise, couplée à une patience d'ange (notamment face à mes milliers de questions et d'incompréhensions, parfois farfelues), a constitué un solide pilier dans mon parcours. Tu as pu déconstruire certaines de mes pensées désordonnées pour créer une symphonie d'idées structurées, ou presque. Merci d'avoir été à l'origine de nombreux protocoles expérimentaux, de m'avoir accompagné et soutenu, dans les bons comme dans les mauvais moments, merci pour ta confiance, tes enseignements et tes précieux conseils. Mais surtout, merci de m'avoir donné goût, toi aussi, aux statistiques minutieuses débouchant sur de la recherche scientifique solide. À cet instant, je couche ces mots péniblement, mais je suis certain qu'en les relisant plus tard, s'il me prend l'idée impérieuse de revisiter cet essai, je me remémorerai avec nostalgie tous ces bons souvenirs. Je sais que tu vas probablement réagir avec ton habituelle humilité en lisant ceci, mais je pense très sincèrement que sans toi, ce travail aurait probablement pu être comparé à un *primi piatto* sans pâtes ou encore à Vincent Didone sans son bonnet à la mi-décembre... Je suis convaincu que ceci ne constitue en rien des adieux. En attendant, prends soin de toi et bon vent !

Mes plus sincères remerciements vont également à mes deux membres de comité d'accompagnement de thèse, les Professeurs Ezio Tirelli et André Ferrara. Professeur Tirelli, j'ai eu le plaisir de vous côtoyer depuis 2016, l'année de ma dernière année de bachelier. Vos cours ont été une source d'inspiration et c'est en partie grâce à votre enseignement passionnant que j'ai développé un vif intérêt pour la psychopharmacologie et la « bonne » recherche. Merci pour vos cours d'éthique en recherche, pour nos discussions sur la reproductibilité des résultats et pour vos principes d'intégrité scientifique, ces derniers m'ont convaincu de l'importance centrale de réfuter le principe, malheureusement de plus en plus populaire, du « *publish or perish* », et également d'accepter de faire de la recherche sans pression de résultats. Merci de m'avoir conforté dans le fait que l'absence de preuves statistiques ne signifie pas la preuve de l'absence (bis). Par ailleurs, je ne peux m'empêcher de noter avec un soupçon de sarcasme que le Professeur Tirelli est désormais émérite, ce qui signifie qu'avec cette promotion, il

a atteint le statut légendaire de la sagesse académique, tout en conservant son charme virevoltant. Mes sincères remerciements au Professeur André Ferrara. Pour anecdote, mon tout premier cours de bachelier fût dispensé par André. Malgré mes appréhensions, c'est grâce à lui que j'ai appris à mettre le mot « sciences » avant celui de « psychologie ». André, vous m'avez appris que les sciences psychologiques dépassaient largement les idées reçues et qu'il existait une voie passionnante de recherche préclinique à l'université. Cette découverte a grandement influencé mon orientation académique et professionnelle. Merci pour vos précieux enseignements. Au-delà du cadre formel de cette thèse, j'ai profondément apprécié nos discussions sur une multitude de sujets divers et variés, enrichissant ainsi ma perspective et ma réflexion personnelle. Prenez bien soin de vous !

Mes remerciements se tournent également vers les deux derniers membres de mon jury, les Professeurs Olivier Pierrefiche et Pierre Maurage. Je vous remercie chaleureusement d'avoir accepté de composer ce jury et d'avoir pris de votre temps pour la lecture et l'évaluation de ce manuscrit. Je vous prie par ailleurs d'accepter mes excuses pour le parcours d'obstacles urbain offert par notre chère Ville de Liège : les travaux interminables, les nids-de-poule dignes de la transsibérienne et le chantier du tram, qui semble être le plus long feuilleton liégeois... tout ceci aura probablement rendu votre voyage jusqu'à nous plus épique que prévu, n'ajoutant que plus de valeur à votre dévouement. Merci d'honorer de votre présence ce moment important de mon parcours.

Je souhaite aussi adresser mes remerciements à l'ensemble des étudiants et mémorants pour leur contribution significative à ce projet. Un merci tout particulier à Leeloo Godefroid, Anaïs Gillet, Simon Marcin et Camille Wilkin pour leur rôle crucial dans la récolte des données et l'aide apportée lors des manipulations expérimentales. Si j'ai pu les épauler dans la réussite de leurs stages et leur mémoire, ils me l'ont finalement bien rendu dans l'aboutissement de ce projet. Merci à mes collègues passés et présents : Jessica, Thierry, Richard, Aurélie, Valentine, Sacha, Charlotte, Michelle, Héloïse, François et Leeloo. Merci pour leur

camaraderie tout au long de mon parcours. Leur esprit d'équipe, leurs conseils statistiques et méthodologiques et les échanges enrichissants lors de congrès ou simplement le temps d'une pause ont été des sources d'inspiration constantes et ont grandement contribué à mon épanouissement. Je tiens aussi à vous dire que la transition de café consommé en tant qu'étudiant à celui bu en tant que collègue ne change pas grand-chose au goût, mais certainement à la perspective ! Au-delà des nombreuses heures passées ensemble entre les murs de l'université, je souhaite à tous les concernés une aventure doctorale riche en découvertes et en succès. Merci à nos techniciens animaliers qui travaillent inlassablement dans l'ombre, mais dont le rôle est absolument crucial dans l'obtention de nos résultats scientifiques. En veillant à ce que chaque animal soit traité avec soin et respect, ils nous aident à poser des bases éthiques solides pour notre travail scientifique. Un merci particulier à France Dartois, Nathalie Deprez et Jeni Atanassova pour les commandes de matériels et de souris. Leur capacité à naviguer dans l'océan bureaucratique pour nous procurer ces précieux rongeurs a été rien de moins que très efficace. Merci d'avoir toujours suivi nos sollicitations de commandes, aussi étranges qu'elles puissent paraître. Merci également à Joëlle Kinon, pour sa brillante gestion du suivi administratif des doctorants de la faculté, et au Professeur Francis Pérée, pour ses conseils statistiques incessamment utiles. Enfin, une pensée toute particulière à Michel, la mascotte légendaire de la faculté de psychologie, qui arpente les couloirs depuis plus longtemps que le bâtiment lui-même. Véritable couteau suisse sur pattes, il est à la fois le guide des étudiants perdus dans le dédale des couloirs de la faculté, le confident des doctorants en crise existentielle et, osons-le dire, le gardien du grand grimoire des secrets de la psychologie.

Mes remerciements s'étendent également à un cercle d'amis éclectiques, mais tellement précieux. Merci à mes plus vieux acolytes : Babas et Jean-Phi, alias Jean ou Gros Jean selon les caprices de l'humeur collective. Merci à vous deux, mes amis, depuis que j'ai l'âge d'en avoir. Merci à Tony, ma précieuse « bulle » des années Covid marquant malencontreusement le début de cette thèse. Merci à

Manon, récemment couronnée docteure en psychologie, dont la défense de thèse était tout autant une inspiration précieuse. Merci infiniment à Emma, Nico, Lucien, Gilles, l'autre Gilles, Alex, l'autre Alex, Nelson, Cyril et bien d'autres... À vous tous, merci d'avoir été les complices de rires, de soutien inconditionnel, et de distractions bienvenues dans les moments difficiles. Vous avez contribué à faire de cette période de ma vie une aventure non seulement supportable, mais franchement agréable, surtout lorsque qu'il s'agissait de siroter quelques verres et de penser simplement à autre chose. Enfin, merci infiniment au « Boss » pour ses shows d'anthologie et sa musique fortifiante, ceux-ci ont grandement facilité mes entractes...

Je remercie bien évidemment mes deux frangins, Élie et Noé, qui ont apporté cette dose récurrente de répit et de réconfort dans mon parcours. Élie, mon cadet, jongle habilement entre son rôle d'éducateur passionné et son statut d'étudiant infatigable, incarnant parfaitement l'idée que l'apprentissage est un voyage sans fin. Sa capacité à rester toujours enthousiaste est absolument remarquable. Contrairement à lui, ma bonne humeur semblait trop souvent prendre des congés sabbatiques. Élie, avec son éternel optimisme, me fait constamment réaliser que la vie peut être emplie de joie et de légèreté, selon notre manière de l'appréhender. Merci pour cette inaliénable dose de bonne humeur qui agit comme un rappel que, même au quotidien de nos vies chargées, un sourire est parfois la meilleure attention que l'on puisse partager. Noé, quant à lui, avec son groupe de rock (→ *PanKart*) et un emploi du temps très fourni, m'a rappelé quotidiennement lors de la rédaction de ce manuscrit que la vraie musique se joue probablement plus fort que ne le tolèrent nos oreilles, et que le rock n'est pas mort. « *C'est ça le Rock ! Le Rock c'est, t'arrives, t'as une guitare et tu sais pas si elle va marcher. C'est ça le Rock, tu prends des risques, t'as peur. Ce soir, tu vas jouer, p't-être que ton batteur il va pas venir. Tu sais pas ! Mais toi faut qu't'assures... C'est ça le Rock...* ». Merci à vous deux pour ces moments de détente, que ce soit autour d'un repas dans nos restaurants favoris, ou lors de réunions de famille, espacées, mais tellement précieuses. Vos personnalités uniques ajoutent une couleur

particulière à ma vie, et je m'efforce parfois à vous en remercier. Continuez à être vous-mêmes, sans jamais baisser le volume de vos passions. Je vous remercie d'être les frères que tout le monde rêverait d'avoir, même si vous êtes et resterez des « gros laids ».

Trop peu de mots pour exprimer toute ma gratitude envers mes chers parents. Tenter de les remercier ici en quelques mots, c'est un peu comme essayer de résumer une thèse de doctorat en un tweet, ou plutôt « un post sur X » : mission quasi impossible, mais challenge accepté. À mes parents, piliers indéfectibles de ma vie, dont l'amour inconditionnel m'a fidèlement guidé dans chaque étape de ce long voyage académique. Leur soutien inébranlable et leur affection constituent les fondations solides sur lesquelles repose ce travail. Écrire ces mots reflète ma manière maladroite, mais profondément sincère, de vous exprimer toute la gratitude que mon cœur peine souvent à vous dire de vive voix. Mon père, en particulier, a joué un rôle crucial dans la finalisation de ce manuscrit, se transformant en relecteur assidu pour apporter son œil critique et sa patience sans limites. Sa disponibilité à s'engager dans les détails les plus minutieux, parfois à des heures improbables, montre une dévotion qui va bien au-delà des responsabilités parentales. Sa capacité à transformer notre jargon scientifique, souvent irritant, en prose compréhensible a été un atout inestimable. Quant à ma mère, comment exprimer ma reconnaissance quand « merci » paraît si insuffisant face à tout ce qu'elle a accompli et continue d'accomplir. Merci pour absolument tout, la liste est tellement longue... Elle a été la gardienne de mon bien-être, veillant à ce que rien ne (me) manque, de l'encouragement moral aux repas réconfortants lors de mes retours dans ma cambrousse ardennaise bien-aimée. Sa force et sa tendresse ont joué un rôle central dans les moments de doute, me rappelant que peu importe la difficulté du chemin, la chaleur d'un foyer reste le plus doux des refuges. Leur duo complémentaire a tissé autour de moi un réseau de sécurité émotionnel et intellectuel. Papa, Maman, vous êtes bien plus que des soutiens, vous êtes aussi les co-auteurs de cette aventure, et chaque page de ce travail, y compris les pages vierges, reflète votre empreinte. Cette thèse est autant votre

réussite que la mienne. Ainsi donc, à mes parents, va ma reconnaissance éternelle, et l'assurance que, oui, j'ai enfin terminé !

En dernier lieu, mais non des moindres, un immense merci à toi, le si beau prénom qui brille trois fois dans ces remerciements, à la hauteur de ton évolution spectaculaire : d'étudiante à collègue, et finalement, à la personne qui partage ma vie au quotidien. Je ne pourrai jamais assez exprimer ma gratitude envers le laboratoire pour t'avoir amenée dans ma vie. Entre litières sales et croquettes, c'est sûr, notre lieu de rencontre est pour le moins inédit. Par ailleurs, je te lègue dès à présent mon bureau. J'espère qu'il sera le témoin de tes propres réussites et de ton épanouissement, et que tu y trouveras l'inspiration et la persévérance nécessaires pour naviguer à travers ton propre voyage doctoral. En passant, garde un œil sur le store, ce dernier est en train de quitter ce monde. Au cas où tu trouverais cachés dans un tiroir, un vieux paquet de cacahuètes oublié, des capsules de café périmé ou quelques pièces de monnaie, considère-les comme des vestiges archéologiques de ma période doctorale. Je te souhaite plein succès dans ton parcours, non que tu en aies besoin, car avec ta détermination, ta capacité d'apprentissage et ton incroyable compétence à me supporter, tu es déjà solidement armée pour affronter bien des défis. Leeloo, ma reconnaissance pour ton soutien inestimable est immense, celui-ci a eu un impact profond sur mon quotidien. Ton rôle a été crucial, non seulement dans le dénouement de cette dernière ligne droite, mais également dans ta générosité d'esprit et dans ton empathie remarquable. Merci d'avoir partagé cette expérience avec moi. Tu as réussi à m'armer d'une confiance robuste et d'un réconfort inégalé, contribuant fortement à mon bien-être, même lorsque j'avais l'air d'un zombie dans mes moments de fatigue. Je me sens inspiré par ce que l'idole des jeunes disait, « *Je vis au jour le jour, pour demain, pas pour hier* ». Très franchement, pour conclure, j'aurais pu trouver mieux à dire, mais au fond, il n'avait pas totalement tort le Johnny. J'ai hâte d'embrasser cette philosophie, et d'avancer vers ce futur avec toi.

Avant-propos

Alors que j'en arrive au seuil de la conclusion d'un projet scientifique qui a teinté les dernières années de ma vie académique d'une palette émotionnelle plutôt riche, je me retrouve à jongler entre une profonde réflexion et une gamme d'émotions plutôt complexes. Il est assez étonnant de constater comment ce parcours, qui trouve son point culminant dans cette thèse, se révèle être bien plus qu'une simple pile de papiers reliés remplis de mots compliqués. Il représente une véritable aventure intellectuelle et humaine riche en défis, en découvertes et en croissance. En me repassant le film de ces quatre années (et un quart), je réalise combien cette expédition m'a transformé. Ce projet, qui a su évoluer entre quelques moments de doute et trois pannes d'ordinateur, est beaucoup plus qu'un testament d'endurance ; c'est la preuve vivante de ma quête acharnée pour la vérité (ou tout au moins, une tentative de comprendre un peu mieux un des coins du spectre de la recherche). Ce manuscrit, distillé au fil de nombreuses heures de dévouement et de persévérance, a donné naissance à un cocktail savoureux : un mélange détonnant de camaraderie, de rigueur et surtout d'enseignements, savouré gorgée après gorgée au cours de cette aventure mémorable. Ceci est le témoignage de mon engagement envers la poursuite de la connaissance, ainsi qu'un hommage complice aux âmes si bienveillantes qui ont jalonné et enrichi ce parcours.

La présente thèse, « *Effets de l'environnement social sur la vulnérabilité aux effets toxicomanogènes de l'alcool chez la souris* », n'est pas uniquement le fruit d'un projet de recherche bien ficelé et de la poursuite de l'étude des mystères de l'addiction. Elle est aussi l'émanation d'un intérêt scientifique et d'une quête personnelle visant à comprendre comment l'alcool nous imbibe et comment nos interactions sociales et notre environnement peuvent considérablement influencer la consommation de la boisson et les comportements addictogènes qui, dans certains cas, s'en suivent. Cette recherche se niche précisément là où la curiosité

scientifique et la détermination à démêler un casse-tête préclinique de grande taille se croisent : le syndrome d'addiction alcoolique. Le présent travail est animé par l'ambition de contribuer significativement à une compréhension plus approfondie des mécanismes fondamentaux responsables de la vulnérabilité aux comportements addictogènes, en se focalisant principalement sur l'usage des modèles murins, mais également, par désir d'extrapolation, sur les troubles liés à l'usage d'alcool chez l'être humain. Cette démarche vise à la poursuite de la compréhension des processus psychosociaux qui sous-tendent l'addiction alcoolique, afin de mieux saisir comment certains facteurs contribuent à la prédisposition individuelle face à ces troubles.

Ce projet de recherche est d'autant plus pertinent que la modalité sociale de l'environnement, en tant que facteur déterminant dans la santé mentale et plus spécifiquement dans la résilience face aux addictions, reste largement sous-étudiée dans le domaine des neurosciences et de la psychopharmacologie. Cette lacune notable dans le corpus actuel de la recherche souligne de manière criante la nécessité d'approfondir notre compréhension des dynamiques complexes entre l'environnement social et les mécanismes comportementaux et neurobiologiques qui s'entrecroisent. Ces interactions jouent un rôle déterminant dans la sensibilité et la résilience face à l'émergence des affres associés à la consommation de substances. Il nous semble donc vital d'élargir notre exploration pour saisir pleinement ces facteurs, afin de mieux comprendre comment ces derniers contribuent à la vulnérabilité ou, inversement, offrent une protection contre ces troubles. Dans cette étude préclinique, l'accent mis sur l'environnement social vise à combler partiellement ce vide, en explorant comment les modifications de l'environnement social peuvent moduler les effets toxicomanogènes de la substance d'abus la plus ancienne, la plus consommée et, sans nul doute, la plus destructrice. L'objectif est de comprendre comment ces ajustements environnementaux peuvent modifier les parcours et les trajectoires de l'addiction, en atténuant ou en exacerbant les effets délétères de l'alcool. À travers une série d'expériences menées chez la souris de laboratoire, cette recherche ambitieuse

d'évaluer les mécanismes par lesquels l'environnement social d'hébergement, dans sa qualité appauvrie ou enrichie, peut respectivement exercer son influence sur le stress ou le support social, et sur la vulnérabilité aux comportements addictogènes induits par une exposition répétée à l'alcool. Cet angle d'investigation pourrait en outre ouvrir la voie à l'élaboration de protocoles expérimentaux innovants, jetant les bases pour de nouvelles avenues dans la conception de stratégies préventives et thérapeutiques. Ainsi, un autre objectif éventuel est de parvenir à des interventions plus ciblées et efficaces, en tirant parti de notre compréhension plus approfondie de l'impact de l'environnement social sur les comportements addictogènes liés à l'alcool. L'urgence et la pertinence de cette question de recherche prennent une dimension particulièrement critique dans le contexte sociétal actuel, où les troubles liés à l'usage d'alcool représentent non seulement un fardeau économique extrêmement lourd pour les sociétés à l'échelle mondiale, mais exercent surtout un impact profond sur la santé, la qualité de vie et le bien-être de millions d'individus à travers le globe. La nécessité de comprendre et de traiter efficacement ces troubles s'impose avec force, soulignant l'importance capitale de poursuivre et d'approfondir nos investigations sur les influences environnementales et sociales susceptibles de moduler la vulnérabilité à l'addiction. En s'attaquant à ces questions complexes avec une méthodologie préclinique rigoureuse, cette thèse espère contribuer à une meilleure compréhension de cette dynamique. En définitive, ce travail de recherche aspire à marquer un jalon significatif dans la poursuite des réponses aux interrogations essentielles concernant l'impact de l'environnement social sur l'origine, le développement et la régulation du syndrome d'addiction alcoolique chez la souris. Il témoigne également de l'importance de croiser des approches scientifiques pour déchiffrer les enjeux complexes de la santé mentale et du syndrome d'addiction, avec l'espoir de contribuer à la reconstruction d'une société où la compréhension et le soutien remplacent le stigmatiser et l'exclusion face au syndrome d'addiction alcoolique. Ironiquement, malgré sa nature de trouble psychiatrique, l'addiction alcoolique restera la conséquence de nos propres pratiques culturelles et d'un

mode de vie créé par nous-mêmes dans le but d'améliorer nos interactions sociales.

Enfin, cette préface ne serait pas complète sans rendre hommage à nos souris de laboratoire, véritables acteurs silencieux de notre travail. Leur contribution essentielle à la progression de la science et à notre compréhension des processus biologiques et comportementaux mérite d'être soulignée et célébrée. Sans elles, les avancées de la recherche préclinique auraient été utopiques.

*Théo van Ingelgom
Tenneville, le 26 avril 2024*

“Science seeks the truth. And it does not discriminate. For better or worse it finds things out. Science is humble. It knows what it knows and it knows what it doesn’t know. It bases its conclusions and beliefs on hard evidence, evidence that is constantly updated and upgraded. It doesn’t get offended when new facts come along. It embraces the body of knowledge. It doesn’t hold on to medieval practices because they are tradition”

- Ricky Gervais -

Table des matières

Remerciements	I
Avant-propos	IX

CADRE THÉORIQUE

Chapitre 1. Les grandes lignes enchanteresses de l'alcool	1
1. Une brève histoire de l'ivresse	1
2. Épidémie alcoolique : de l'ivresse aux chiffres	5
3. Pharmacocinétique et pharmacodynamique	13
4. Intoxication alcoolique	19
Chapitre 2. Au-delà de la soif : Le syndrome d'addiction alcoolique	23
1. Addiction et dépendance	23
2. L'addiction comme maladie cérébrale	29
3. Tolérance, dépendance physique et sevrage alcoolique	33
3.1. Physiopathologie du sevrage	39
3.2. Modélisation chez la souris de laboratoire	42
4. Dépendance psychique et théories de l'addiction	49
4.1. Théorie du renforcement négatif	50
4.2. Théorie du renforcement positif	52
4.3. The incentive-sensitization theory of addiction (ISTA)	56
4.3.1. Contexte général	57
4.3.2. Sensibilisation comportementale et sensibilisation motivationnelle	59
4.3.3. Neurobiologie de l'addiction	64
4.3.4. La dopamine dans le processus de désir et non de plaisir	69
4.3.5. Rôle du craving, du stress et des facteurs contextuels dans la rechute	77
4.3.6. Résumé succinct de la théorie de l'ISTA	81

Chapitre 3. Sensibilisation comportementale à l'alcool -----	83
1. Cadre historique _____	83
2. Neurobiologie de la sensibilisation à l'éthanol _____	87
2.1. Dopamine _____	87
2.2. Glutamate et GABA _____	90
2.3. Opioïdes endogènes _____	92
2.4. Cannabinoïdes endogènes _____	93
2.5. Sérotonine _____	94
2.6. Hormones de stress et œstrogènes _____	95
2.7. Acétaldéhyde _____	96
3. Facteurs intervenant dans la sensibilisation locomotrice à l'éthanol _____	99
3.1. Souche et sexe _____	100
3.2. Caractéristiques de l'administration et durée d'exposition _____	104
3.3. Âge _____	107
3.4. Expériences préexistantes et contexte d'exposition _____	110
Chapitre 4. Influences environnementales :	
L'enrichissement et ses implications -----	119
1. Rôle catalytique du stress dans le syndrome d'addiction alcoolique _____	119
2. Entre vulnérabilité et tentations : l'adolescence comme période critique _____	127
3. Rôle préventif de l'enrichissement : une perspective prometteuse _____	135
3.1. Optimiser le bien-être des rongeurs de laboratoire : enrichissement et raffinement _____	138
3.2. Stratégies de raffinement et d'enrichissement _____	146
3.2.1. Modalité physique _____	147
3.2.2. Modalité psychomotrice _____	151
3.2.3. Modalité sociale _____	153
3.2.4. Environnement semi-naturel _____	160

4. Effets de l'enrichissement environnemental chez le rongeur	163
4.1. Effets neuroanatomiques et neurobiologiques	165
4.2. Effets comportementaux, cognitifs et psychologiques	169
4.3. Effets ontogénétiques	176
4.4. Isolement social et surpopulation	180
Chapitre 5. Effets de l'enrichissement de l'hébergement sur les processus toxicomanogènes de l'alcool	191
Chapitre 6. Conclusions provisoires et objectifs	205

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Chapitre 7. "Effects of social housing conditions on ethanol-induced behavioral sensitization in Swiss mice"	219
Abstract	219
1. Introduction	221
2. Materials and methods	227
2.1. Subjects	227
2.2. Experimental housing conditions	228
2.3. Drugs	228
2.4. Behavioral test chambers	229
2.5. Experimental design and procedure	229
2.6. Attrition	232
2.7. Statistical power analysis	232
2.8. Data analysis	232
3. Results	235
3.1. Habituation session	235
3.2. Acute session	235
3.3. Ethanol-induced behavioral sensitization	237
3.4. Sensitization test session	239
4. Discussion	241
Supplementary information	247

Chapitre 8. “Effects of social housing conditions on tolerance to the sedative and hypothermic effects of ethanol in female Swiss mice” -----253

Abstract	253
1. Introduction	255
2. Materials and methods	261
2.1. Subjects	261
2.2. Experimental housing conditions	262
2.3. Drugs	262
2.4. Experimental design and procedure	262
Experiment 1: tolerance to ethanol-induced sedation	262
Experiment 2: tolerance to ethanol-induced hypothermia	263
2.5. Attrition	265
2.6. Data analysis	265
3. Results	267
Experiment 1: tolerance to ethanol-induced sedation	267
3.1. Acute ethanol challenge	267
3.2. Tolerance to ethanol-induced sedation	267
Experiment 2: tolerance to ethanol-induced hypothermia	269
3.3. Acute ethanol challenge	269
3.4. Tolerance to ethanol-induced hypothermia	269
4. Discussion	271

Chapitre 9. “Effects of social housing conditions on anxiety-like behaviors, response to novelty and habituation in female Swiss mice” -----277

Abstract	277
1. Introduction	279
2. Materials and methods	283
2.1. Subjects	283
2.2. Experimental housing conditions	284
2.3. Drugs	284
2.4. Elevated plus maze (EPM)	284

2.5. Open field (OF) _____	285
2.6. Experimental design and procedure _____	285
2.7. Attrition _____	288
2.8. Data analysis _____	288
3. Results _____	291
3.1. Anxiety-related behaviors (EPM) _____	291
3.2. Response to novelty and habituation (OF) _____	294
3.3. Acute locomotor effects of ethanol (OF) _____	296
4. Discussion _____	299

DISCUSSION & CONCLUSIONS

Chapitre 10. Conclusions et limites de notre travail -----	307
1. Résumé succinct des résultats _____	309
<i>Article 1 : “Effects of social housing conditions on ethanol-induced behavioral sensitization in Swiss mice” _____</i>	<i>309</i>
<i>Article 2 : “Effects of social housing conditions on tolerance to the sedative and hypothermic effects of ethanol in female Swiss mice” _____</i>	<i>311</i>
<i>Article 3 : “Effects of social housing conditions on anxiety-like behaviors, response to novelty and habituation in female Swiss mice” _____</i>	<i>313</i>
2. Influences de l’environnement social sur la réponse à l’éthanol ____	317
2.1. Sensibilisation, sensibilité et limites du phénomène dans les études précliniques _____	318
2.2. Tolérance et vulnérabilité aux comportements toxicomanogènes _____	327
2.3. Stress chronique, anxiété et réponse à la nouveauté _____	334
3. Effets de l’enrichissement sur la variabilité expérimentale _____	339
4. Recherches limitées à un sexe _____	345

BIBLIOGRAPHIE

Bibliographie personnelle-----355
Bibliographie générale -----357

ANNEXES

Annexe A : coefficients de variations (article 1) -----481
Annexe B : coefficients de variations (article 2) -----483
Annexe C : coefficients de variations (article 3) -----485

CADRE THÉORIQUE

Chapitre 1

Les grandes lignes enchantées de l'alcool

1. Une brève histoire de l'ivresse

L'éthanol, alcool éthylique ou plus largement vulgarisé sous le nom d'alcool ($\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$), est une substance psychoactive incluse dans la famille des sédatifs, hypnotiques et déprimeurs du système nerveux central. Cette substance constitue un sous-produit de la fermentation, c'est-à-dire le processus métabolique de conversion des glucides induit par des levures. La fermentation est l'une des plus anciennes biotechnologies utilisées par l'homme pour obtenir des boissons modérément alcoolisées, comme le vin, le cidre ou la bière, obtenues à partir de fruits ou de céréales (McIlveen & Gross, 1996; Nathan et al., 2016). L'éthanol peut également être obtenu via la technique de distillation, qui consiste alors en l'extraction de l'éthanol issu d'un mélange modérément alcoolisé par un processus d'évaporation et de condensation. La boisson obtenue, dénommée comme spiritueux ou eaux-de-vie, comme le whisky, la vodka ou le cognac, sera alors nettement plus concentrée en éthanol que la boisson fermentée.

Nous estimons aujourd'hui que la production d'alcool est employée depuis plus de 10 000 ans (Vallee, 1994), sa consommation sous forme de boissons alcoolisées fait de cette substance l'une des plus anciennes drogues récréatives adoptée par l'homme, constituant également l'une des substances psychotropes les plus consommées à travers le monde. Bien que certains scientifiques et historiens estiment que les premières consommations d'alcool remontent à environ 400 000 ans, les premières preuves concrètes de la production de boissons alcoolisées datent du Néolithique. C'est aux alentours de 9600 ans av. J.-C., sur le site

préhistorique de Göbekli Tepe en Turquie, que le premier bistrot de l'humanité a ouvert ses portes. Ce lieu de rassemblement aurait fait office de sanctuaire à des tribus de chasseurs-cueilleurs lors de fêtes communautaires. La consommation d'alcool pendant ces festivités a pu être conclue grâce à la découverte d'un vaste attirail de contenants en pierre, notamment des tasses et des cuves, dans lesquels des traces d'oxalate de calcium furent retrouvées. Ce cristal résulte en général du rinçage, du broyage et de la fermentation de céréales (Curry, 2021; L. Dietrich et al., 2019; O. Dietrich et al., 2012). D'autres preuves ont été découvertes, datant plus récemment, aux alentours de 8000 ans av. J.-C., au cours de la période de sédentarisation des communautés stables et de l'émergence de l'agriculture. Des archéologues ont réussi à prouver la présence de composés organiques issus de boissons fermentées à base de riz, de miel et de diverses baies, contenues dans des poteries au nord de la Chine (Khaderi, 2019). Selon la majorité des scientifiques, l'origine du mot « alcool » est dérivé du mot arabe « *al-kuḥl* » (le khol étant une poudre minérale noire à base de soufre largement utilisée dans l'Antiquité pour le maquillage des yeux). La dénomination de l'alcool issue de l'arabe moderne est « *al-ġawl* » signifiant « démon » ou « esprit », qui, lut entre les lignes, nous renseigne intuitivement sur les propriétés « maléfiques », « démoniaques » ou destructrices des boissons alcoolisées (Rajendram et al., 2016).

La consommation d'alcool n'a cessé d'évoluer au fil de notre propre évolution. La difficulté des communautés sédentaires à trouver de l'eau courante propre à la consommation entraînait beaucoup de peuples à la substituer par de l'alcool, notamment par de la bière et du vin. L'eau contaminée, ne provenant ni de sources, ni de puits profonds, était considérée par certaines autorités comme néfaste pour la digestion, ce qui était probablement le cas si elle était fortement contaminée. C'est à partir de ces observations que le terme moyenâgeux d'*aqua vitæ* (eau de vie) apparaît (Brust, 2007b). La consommation chronique d'alcool constituait ainsi une norme sociale, le vin était la boisson de prédilection à table dans la noblesse, tandis que la bière l'était dans les milieux plus modestes. En

outre, l'ivresse alcoolique fut longtemps considérée comme une « voie mystique », possédant même ses propres divinités telles que *Bacchus* dans la mythologie romaine, *Dionysos* dans la mythologie grecque, *Osiris* dans la mythologie égyptienne ou encore *Kvasir* dans la mythologie nordique. Ce n'est que bien plus tard que la conscience collective sur les ravages potentiels de l'alcool émergea, en grande partie grâce à l'influence de l'Église. On associera ainsi l'ivresse et la consommation chronique d'alcool aux maladies et aux accidents. La première mention du terme « alcoolisme » apparaît en 1849 dans les écrits du médecin suédois Magnus Huss (*Alkoolismus Chronicus*), et se verra par la suite reconnu comme une maladie et ainsi largement imposé dans le monde scientifique (Nourrisson, 1988). C'est notamment via ces différents écrits que germeront les premiers mouvements antialcooliques structurés et les sociétés de tempérance aux États-Unis et en Europe. À l'instar des premiers mouvements apparus aux États-Unis peu après leur indépendance, le premier grand mouvement antialcoolique naît dans les années 1870, fondé davantage sur la science que sur l'Église. Au fil du temps, la population prendra de plus en plus conscience des effets délétères de la consommation prolongée d'alcool, des dangers associés à l'excès et la « folie de l'ivresse », y compris ses répercussions nocives sur le foie et le système digestif, les troubles mentaux tels que le *delirium tremens*, les risques tératogènes, le fardeau financier considérable, ainsi que les comportements violents qu'elle peut engendrer. En 1920, les États-Unis adoptent le 18^{ème} amendement de la Constitution : la prohibition, interdisant formellement la vente, la fabrication, l'importation et l'exportation d'alcool. Ce mouvement législatif entraînera une réduction marquée de la consommation d'alcool, en dépit de l'émergence de circuits de production et de distribution clandestins, notamment le « *moonshine* » ou autre « *bootleg booze* », orchestrés par des organisations criminelles comme la mafia. La prohibition, malgré son rôle central dans l'augmentation de la criminalité, restera en vigueur jusqu'à son abrogation en 1933, témoignant de son impact profond et complexe sur la société américaine (Nathan et al., 2016).

À l'heure actuelle, il nous semble impératif de reconnaître l'alcool comme une drogue à part entière. Cependant, une large part de la population reste réticente à l'idée de le classer parmi les substances les plus toxiques, malgré qu'il figure parmi les substances les plus toxicomanogènes et les plus dangereuses pour la santé physique, psychologique, mais également pour la vie sociale, professionnelle et (inter)personnelle du consommateur. Malgré ces considérations, l'alcool reste légalement accessible, à la différence d'autres substances, telles que la cocaïne, l'héroïne, ou le cannabis. L'attitude de la société contemporaine vis-à-vis de la consommation d'alcool est empreinte d'ambivalence : elle est parfois encouragée, en quantités modérées, pour son rôle de facilitateur social et de désinhibiteur, et parfois découragée en raison de ses conséquences chroniques délétères sur la santé. Preuves de cette ambivalence, d'un côté les abstinents sont souvent considérés comme rabat-joie et doivent sans cesse se justifier sur le fait de ne pas consommer d'alcool lors d'une soirée festive, d'un autre côté les alcooliques chroniques, ne pouvant s'empêcher de boire en dehors des contextes festifs, ont mauvaise réputation et sont souvent qualifiés de piliers de comptoir, d'ivrognes, de pochetrans ou encore de poivrots. Ces différents comportements et croyances partagés par la communauté mènent notamment à réfléchir sur le cercle vicieux de l'éternel paradoxe de l'alcool où la société blâme ceux qui sont tombés dans le piège qu'elle-même a tendu (Seutin et al., 2015).

2. Épidémie alcoolique : de l'ivresse aux chiffres

Tout comme le vin pour les Français ou la vodka dans les pays slaves, la bière est ancrée culturellement dans les us et mœurs des Belges. En effet, au-delà du mode de vie et des traditions culturelles, la consommation d'alcool en Belgique, et par ailleurs dans la plupart des pays occidentaux et en voie de développement, dispose d'un impact non-négligeable sur de nombreux facteurs tels que la vie personnelle, le parcours professionnel, la santé physique et l'équilibre mental. En Europe, les troubles liés à la consommation abusive d'alcool sont les plus élevés dans les pays nordiques et les pays de l'est et sont moins dans les pays du bassin méditerranéen. En outre, on estime que le mésusage de l'alcool est responsable d'une grande partie de la charge des soins de santé dans la population mondiale (Schuckit, 2009).

Les pays européens présentent le plus haut niveau de consommation d'alcool au monde. En 2018, nous estimions la consommation moyenne hebdomadaire à environ 10 verres standards pour la population belge (Sciensano, 2018). Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), il est recommandé de ne pas dépasser une consommation maximale de 14 verres par semaine pour les femmes et de 21 verres pour les hommes. Un « verre standard » représente une unité d'alcool, équivalant à 10 grammes d'alcool pur, soit 10 cl de vin rouge ou de champagne, 7 cl d'apéritif, 2,5 cl de spiritueux ou 25 cl de bière. Au-delà de ces limites, l'OMS considère que la consommation peut être potentiellement dommageable pour la santé. Ces recommandations ne garantissent cependant pas l'absence totale de risque pour la santé et s'appliquent uniquement à une population en bonne santé, excluant les femmes enceintes, les enfants et les adolescents, ainsi que les personnes sous médication ou souffrant de certaines affections médicales. La proportion de consommateurs quotidiens n'a d'ailleurs cessé de progresser au fil du temps. Ainsi, la Belgique se situe dans la moyenne européenne en ce qui concerne la consommation quotidienne d'alcool, soit 14% de la population depuis 2013 (Garteiser, 2016). Avec une consommation moyenne annuelle de 10,8 litres

d'alcool pur par habitant de plus de 15 ans, la moyenne de la consommation en Belgique est inférieure à la consommation moyenne européenne (11,1 litres), toutefois, la Belgique fait partie des pays où le taux de morbidité lié à l'alcool est élevé (Organisation Mondiale de la Santé, 2019).

Selon une enquête de santé publique menée en 2018 chez les citoyens belges de plus de 15 ans, la proportion de surconsommateurs, c'est-à-dire une consommation de plus de 21 et 14 verres standards par semaine pour les hommes et les femmes respectivement, était de 5,9%, dont deux fois plus d'hommes que de femmes. Étant donné que le seuil de définition de la consommation dangereuse d'alcool chez les femmes est inférieur à celui des hommes, ces résultats indiquent une consommation beaucoup plus faible chez ces dernières. La prévalence la plus élevée est observée dans la tranche d'âge de 55 à 64 ans. La prévalence la plus faible se situe dans la tranche d'âge de 75 ans et plus. Selon cette même enquête, la prévalence de l'hyperalcoolisation hebdomadaire c'est-à-dire une consommation de plus de 6 verres standards lors d'une seule occasion, était de 7,6%. Elle était à nouveau beaucoup plus fréquente chez les hommes (11,5%) que chez les femmes (3,9%). La prévalence d'hyperalcoolisation hebdomadaire était la plus élevée chez les 15-24 ans (10,4%), puis chez les 55-64 ans (9,2%) et enfin les 25-34 ans (9%). Notons que les hauts pourcentages d'hyperalcoolisation de la tranche d'âge des 15-24 ans peut ne pas surprendre. En effet, le phénomène de *binge drinking* est le plus souvent recensé chez les adolescents et les jeunes adultes, souvent dans le but de recherche de sensations nouvelles et dans le désir de tester leurs limites. Le *binge drinking* est caractéristique d'un comportement ordalique, il désigne une forme de consommation aiguë répétée, c'est-à-dire, un mode de consommation rapide et excessif d'alcool sur une courte période de temps. Enfin, les données de consommation problématique d'alcool démontrent que la prévalence de la consommation problématique d'alcool au cours des 12

derniers mois était de 7% (définie sur base de réponses au questionnaire CAGE¹). Une nouvelle fois, cette consommation était plus élevée chez les hommes (9,5%) que chez les femmes (4,7%). La prévalence de la consommation problématique d'alcool était aussi plus élevée dans le groupe d'âge des adolescents et jeunes adultes (9,8%), puis dans le groupe d'âge des 25-44 ans et enfin des 45-54 ans (8,8%). La prévalence était similaire chez les hommes et les femmes dans la tranche d'âge 55-64 ans (Health Interview Survey, Sciensano, 2018).

Selon des données épidémiologiques largement étayées, nous estimons aujourd'hui qu'environ 10% de la population belge présenterait une consommation problématique (abus d'alcool), c'est-à-dire une consommation ayant au moins entraîné un dommage médical, psychologique ou social, indépendamment de la fréquence des quantités d'alcool consommées. Notons que l'abus d'alcool est généralement défini en fonction des conséquences sur la vie sociale, professionnelle et personnelle du consommateur. Concernant l'alcoolisation chronique, bien qu'il n'existe pas un seuil de consommation à partir duquel on considère un individu comme « alcoolique », la plupart des experts considère que l'abus d'alcool répété (fréquence et quantité de consommation pendant une période plus ou moins longue) peut constituer une des premières étapes de l'entrée dans l'addiction. Notons néanmoins que cette relation est influencée par de multiples facteurs comme l'âge, le sexe et les facteurs génétiques, individuels et sociaux (Greenfield et al., 2010; Schuckit, 2009). À ce jour, on estime qu'environ 6% de la population belge dépasserait drastiquement les seuils recommandés par l'OMS concernant leur consommation et répondrait à au moins deux symptômes liés au trouble de l'usage d'alcool (TUA) du *DSM-V* (cf. section 1 du chapitre 2).

¹ Le questionnaire CAGE (Cut-down, Annoyed, Guilty, Eye-opener) contient quatre questions "oui/non", deux réponses positives sont considérées comme un signal indicatif d'une potentielle consommation problématique d'alcool : Vous est-il déjà arrivé de ressentir le besoin de diminuer votre consommation d'alcool ? Vous a-t-on déjà fait des critiques au sujet de votre consommation d'alcool ? Vous êtes-vous déjà senti(e) coupable concernant votre consommation d'alcool ? Avez-vous déjà eu besoin d'alcool dès le lever pour vous sentir en forme ou vous remettre daplomb ?

En d'autres mots, 6% de la population belge pourrait être classé dans la catégorie des alcooliques chroniques.

La consommation abusive d'alcool peut être très néfaste à long terme. Pratiquement tous les scientifiques estiment que l'alcool fait partie des substances toxicomanogènes les plus délétères pour l'utilisateur et son entourage et qu'il constitue un réel problème de santé publique. Les problèmes liés à la consommation abusive d'alcool provoquent également un impact économique important et croissant dans la société mondiale, pourtant, les budgets investis en prévention, traitement et recherche ne sont pas à la mesure de la sévérité du problème sociétal (van Amsterdam & van den Brink, 2013a, 2013b). Selon une étude de 2010 au Royaume-Uni (cf. Figure 1), l'alcool était classé parmi les drogues les plus dangereuses pour le consommateur, derrière le crack, l'héroïne et la méthamphétamine. Cependant, si nous considérons l'impact pour le consommateur combiné à celui de son entourage direct et celui de la société globale, comme les impacts socioéconomiques et la criminalité, l'alcool se voit largement considéré comme la substance la plus dangereuse devant l'héroïne et le crack (Nutt et al., 2010).

Épidémie alcoolique : de l'ivresse aux chiffres

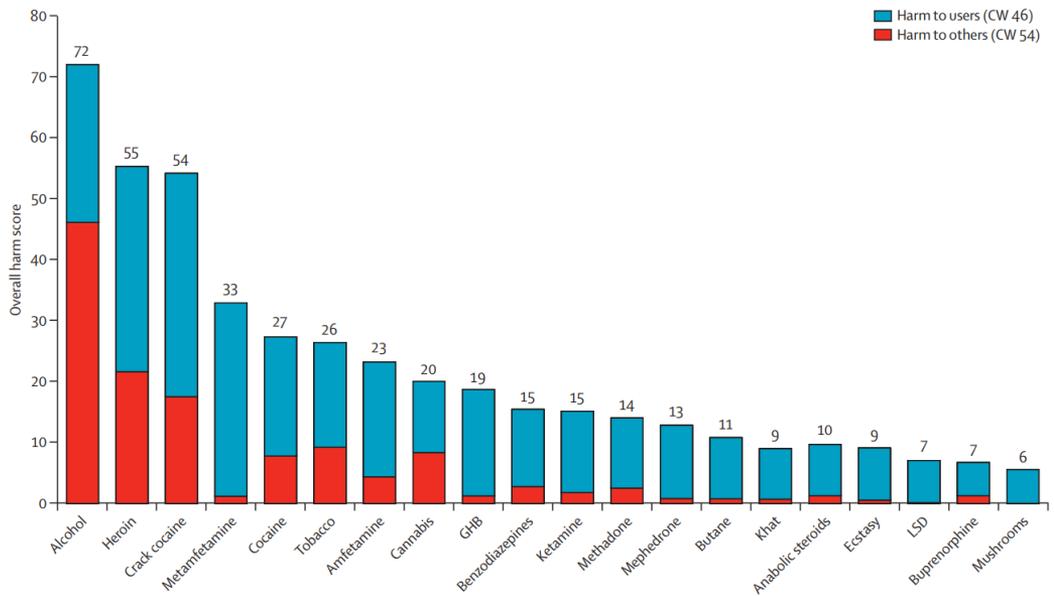


Figure 1.

Substances classées en fonction de leurs scores globaux de préjudices, montrant les contributions distinctes aux scores globaux de dommages pour les utilisateurs et de dommages pour les tiers (adapté de Nutt et al., 2010).

Selon l'OMS, on estime que l'alcool entraîne chaque année dans le monde plus de 3 millions de décès, représentant environ 5,9% de la totalité des décès recensés. Chez les 20-39 ans, environ 25% du nombre total de décès est engendré par la consommation abusive d'alcool (Organisation Mondiale de la Santé, 2018). Les complications et les traitements possibles liés à la consommation chronique d'alcool sont très diversifiés et pourraient faire l'objet d'une recherche doctorale à part entière. La mortalité résulte principalement d'une gamme variée de causes, notamment les accidents de la route, les incidents domestiques, les suicides, les troubles mentaux, les maladies et la violence. En outre, on estime aujourd'hui que l'alcoolisation chronique peut entraîner plus de 200 pathologies et traumatismes. Une large étude a récemment démontré que la consommation d'alcool possède un lien de cause à effet avéré avec beaucoup de maladies et troubles mentaux. La plupart des catégories de maladies partiellement attribuables à la consommation d'alcool sont proportionnelles à la quantité d'alcool consommée, en d'autres termes, plus la consommation d'alcool est élevée, plus le risque de maladie ou de décès l'est également (Rehm et al., 2017). Parmi les maladies les plus fréquemment rapportées induites par la consommation chronique d'alcool, nous retrouvons les maladies alcooliques du foie (stéatose, hépatite alcoolique et plus grave encore, la cirrhose alcoolique), les maladies cardiovasculaires (hypertension artérielle, cardiomyopathie, troubles du rythme), les maladies digestives (œsophagite, pancréatite, gastrite), les carences nutritionnelles (vitamines, fer) et certains cancers (cancer des voies supérieures, cancer du sein, cancer colorectal).

La consommation chronique d'alcool est également hautement tératogène, provoquant notamment le syndrome d'alcoolisation fœtale (SAF). Consommé régulièrement, l'alcool peut causer des effets préjudiciables au développement du fœtus lors de la grossesse, provoquer des avortements spontanés ou des naissances prématurées. Le syndrome d'alcoolisation fœtale se traduit notamment par un faible poids du nourrisson à la naissance, des anomalies des traits du visage, comme l'absence de philtrum, un nez aplati, des malformations cardiaques

et un retard mental. La consommation chronique d'alcool est également largement associée à la destruction progressive de la structure cérébrale. Les modifications structurelles et les conséquences fonctionnelles qui surviennent lors d'une consommation chronique d'alcool sont souvent accompagnées de diverses neuropathologies : polyneuropathie, démence alcoolique, encéphalopathie de Wernicke, démence de Korsakoff. Le syndrome de Wernicke-Korsakoff constitue par ailleurs la neuropathologie la plus souvent rencontrée. Ce syndrome est un trouble neurologique aigu, potentiellement réversible, causé par une grave diminution en thiamine (vitamine B1) provoquée en majeure partie par une des carences alimentaires (McKeon et al., 2008). La prévalence de ce syndrome dans la population générale varie de 0,1 à 2,5% et se situe entre 0,1 et 2,8% dans les pays occidentaux. On estime qu'elle peut atteindre 12,5% chez les patients souffrant d'addiction alcoolique. La carence en thiamine est généralement expliquée par une mauvaise alimentation due à un mode de vie inapproprié, couramment causé par la consommation excessive d'alcool. Le syndrome se caractérise par des anomalies oculomotrices, un dysfonctionnement cérébelleux et une altération de l'état mental général comme des confusions, hallucinations, fabulations et confabulations. D'autres troubles neurologiques peuvent également être causés par l'alcoolisation chronique comme des amnésies légères (*blackouts*), des déficits cognitifs temporaires, notamment des difficultés dans les fonctions exécutives comme la résolution de problèmes, l'abstraction, la mémoire et l'apprentissage (Brust, 2007b; Schuckit, 2009; Zahr et al., 2011). Notons que ces derniers symptômes peuvent se retrouver très fréquemment lors d'un épisode aigu d'alcoolisation (cf. section 3).

Par ailleurs, de nombreuses preuves scientifiques démontrent que les compétences requises pour la conduite automobile sont altérées à partir d'un taux d'imprégnation alcoolique de 0,5 g/L (gramme d'alcool par litre de sang), mais il a également été démontré que ces altérations pourraient déjà se produire à des niveaux d'alcoolémie inférieurs. Depuis 1994, la limite autorisée de la concentration d'alcool sanguine (*blood alcohol content, BAC*) et de la

concentration d'alcool dans l'air expiré (litre d'air alvéolaire expiré, LA AE) au volant est de 0,5 g/L et 0,22 mg/L (soit approximativement 2 verres standards consommés pour un homme moyen et 1,5 pour une femme). Selon une étude récente, la prévalence de l'état d'ébriété au volant est relativement élevée en Belgique, plaçant ainsi notre pays parmi les pires d'Europe. Un triste record a d'ailleurs été battu en 2006 sur nos routes avec une *BAC* avoisinant les 5,15 g/L (L'avenir, 2007), restant tout de même très loin derrière le (prétendu) record européen tenu par un Polonais depuis 2013 avec une *BAC* avoisinant les 14 g/L (Midi Libre, 2013). De nombreux facteurs tels que la croyance d'une faible probabilité de se faire contrôler par les forces de l'ordre et la banalisation culturelle de l'alcool au volant peuvent expliquer en partie pourquoi il s'agit d'un phénomène courant sur les routes belges (Moreau et al., 2022). Selon une étude à l'échelle européenne de 2019, un conducteur européen sur huit a avoué avoir conduit au moins une fois au-delà des limites légales au cours des 30 derniers jours. Dans ce cas-ci, la prévalence en Belgique (4,2%) était la plus importante avec une proportion deux fois plus élevée que les 13,1% de la moyenne européenne. Enfin, on estime que 6% des décès liés aux accidents de la route en Belgique sont directement attribuables à l'usage de l'alcool (European Transport Safety Control [ETSC], 2021).

Durant la crise sanitaire causée par la pandémie du COVID-19, une augmentation significative de la consommation de substances a été recensée en Belgique. Selon une étude récente de 2020, la période de confinement a engendré une augmentation significative de la consommation de tabac et d'alcool. Environ 30% des participants ont déclaré que leur consommation d'alcool avait augmenté durant le confinement. Une plus faible partie des participants (environ 6%) a déclaré qu'ils avaient commencé à consommer de l'alcool pour la première fois dans leur vie. Cette augmentation étant encore plus importante chez les jeunes, ainsi que dans les foyers à gros ménages (Vanderbruggen et al., 2020).

3. Pharmacocinétique et pharmacodynamique

L'éthanol ingéré est principalement absorbé par les voies digestives et, du fait de sa petite taille moléculaire, dans la circulation sanguine par diffusion progressive à travers la paroi gastrique. Environ 70% à 80% de l'éthanol ingéré est absorbé au niveau de l'intestin grêle, notamment au niveau du duodénum et du jéjunum. L'éthanol consommé à jeun, traverse rapidement l'estomac et atteint le petit intestin (Wilkinson et al., 1977), sa concentration sanguine maximale est généralement atteinte peu de temps après l'ingestion, tandis que la consommation de nourriture avant celle d'éthanol ralentit la cinétique d'absorption (Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale [Inserm], 2001). En conséquence, il est généralement fortement recommandé de manger avant de boire de l'alcool. Une alimentation appropriée, riche en glucides, protéines et électrolytes, peut non seulement contribuer à atténuer certains effets aversifs de l'alcool, mais peut également aider à contrôler la sensation de faim induite par la consommation d'alcool et équilibrer les électrolytes pour prévenir une déshydratation excessive (Forsander, 1988, 1994).

La distribution de l'éthanol dans l'organisme se fait très rapidement, sa demi-vie de distribution est d'environ 7 à 8 minutes (Jones et al., 1990), cette dernière représente le temps nécessaire pour que la concentration d'éthanol diminue de moitié dans la circulation sanguine après son absorption. À l'exception des os et des graisses, l'éthanol se distribue dans tous les tissus de manière homogène, mais cette distribution est particulièrement rapide vers les organes très vascularisés comme le cerveau et le foie. Cette diffusion se produit progressivement parallèlement aux mouvements de l'eau (Goullé & Guerbet, 2015). Ce phénomène de diffusion rapide est notamment expliqué par les protéines plasmatiques contenues dans le flux sanguin qui n'exercent aucune liaison envers les molécules d'éthanol. Ces dernières peuvent alors se diffuser facilement au travers des parois des capillaires sanguins et atteindre les organes via la circulation.

L'alcool est principalement éliminé par oxydation enzymatique (métabolisation), et en moindre mesure par excrétion sous forme inchangée (Lands, 1998). L'essentiel de la métabolisation de l'éthanol a lieu dans le foie, mais d'autres organes interviennent également dans des proportions plus faibles, comme les reins et le tractus gastro-intestinal. La métabolisation hépatique élimine généralement 80 à 90% de l'alcool ingéré et fait intervenir deux oxydations successives. L'éthanol est tout d'abord transformé en acétaldéhyde (éthanal) selon les trois voies enzymatiques suivantes : la voie de l'alcool déshydrogénase (ADH) qui constitue la voie principale, la voie du cytochrome P450 (isoenzyme CYP2E1) et une voie accessoire, celle de la catalase. L'acétaldéhyde est ensuite oxydé en acide acétique (acétate) par l'aldéhyde déshydrogénase (ALDH) (Cederbaum, 2012; Rajendram et al., 2016). L'acétate sera à son tour dégradée en eau via la sueur, la salive ou les urines et en gaz carbonique par l'air expiré (Brown, 1985; Lands, 1998). Notons que le phénomène de « gueule de bois » est dû en partie à un excès d'acétaldéhyde dans l'organisme, cette substance étant hautement toxique, voire cancérigène (Seitz & Stickel, 2010). Cette accumulation provoque généralement des sueurs, des nausées, des vomissements et de la tachycardie. Il est également bien connu que certaines populations, principalement asiatiques, expriment des intolérances à la métabolisation de l'alcool. Il semblerait que ces populations ne présentent pas de gène codant une enzyme ALDH fonctionnelle permettant de dégrader l'acétaldéhyde en acétate, provoquant ainsi des effets de « gueule de bois » assez sévères, pouvant également potentialiser les effets aigus de l'alcool ingéré et notamment augmenter ses effets hypothermiques (Closon et al., 2009; Quertemont et al., 2004). Remarquons encore que c'est via l'excrétion pulmonaire que se base l'estimation du taux d'imprégnation alcoolique (éthylotest) à partir des concentrations d'éthanol (LAAE) et que le taux moyen de métabolisation de l'éthanol chez un adulte est de 120 mg/kg/h (soit 8 g/h pour un homme sain de 70 kg), en d'autres mots, il faut environ une heure et quinze minutes pour éliminer une unité d'alcool consommée, c'est-à-dire un verre standard (cf. Figure 2).

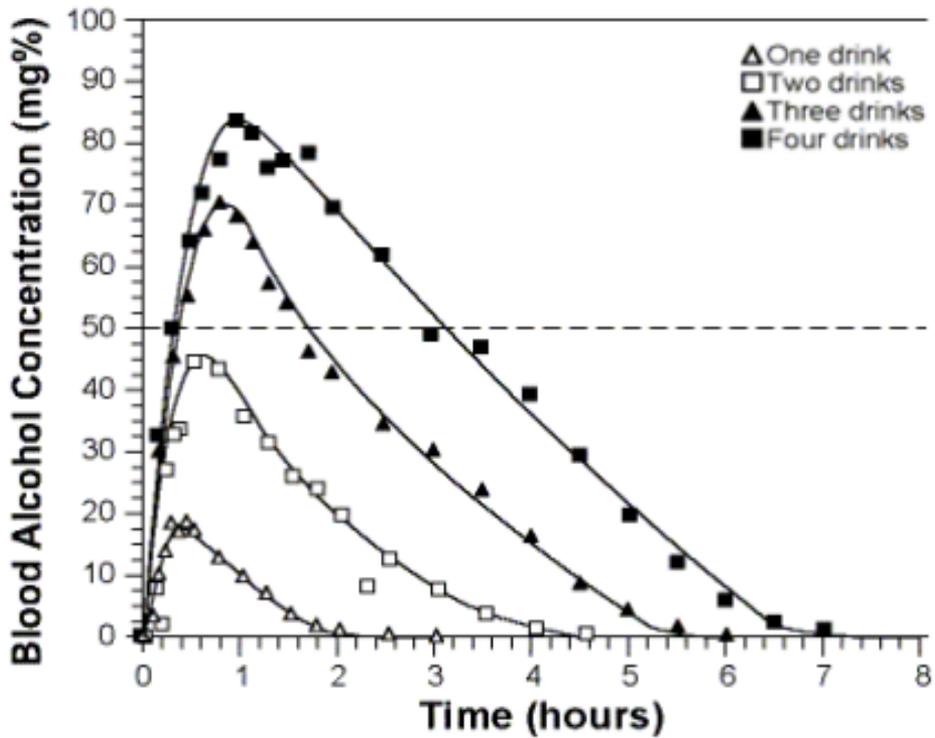


Figure 2.

Concentration d'alcool dans le sang après la consommation de différentes quantités d'alcool et durée de métabolisation, N = 8 (hommes à jeun). Points observés vs. modèle prédit (adapté de Wilkinson et al., 1977).

Les effets comportementaux induits par l'alcool résultent de son action sur le système nerveux central. La majorité des scientifiques estiment que l'intoxication alcoolique résulte de modifications dans la communication neuronale, via les transmissions synaptiques. Contrairement aux autres substances, la neurotoxicité produite par l'éthanol n'implique pas un type de récepteur spécifique, mais influence les récepteurs membranaires de plusieurs systèmes de neurotransmission différents. Il est à noter qu'encore à ce jour, le mode d'action de l'alcool sur le cerveau reste un phénomène non totalement élucidé.

Dans le cas d'une alcoolisation aiguë (intoxication), l'éthanol agit en grande partie sur le principal circuit neurotransmetteur inhibiteur, l'acide γ -aminobutyrique (GABA), en augmentant la sensibilité des récepteurs post-synaptiques. En amplifiant les mécanismes inhibiteurs du GABA, l'éthanol réduit en quelque sorte l'activité neuronale dans certaines régions (McIlveen & Gross, 1996). La prise aiguë entraîne également une diminution de la neurotransmission glutamatergique (récepteurs NMDA du glutamate, principal neurotransmetteur excitateur) et c'est par ce phénomène que découle l'amplification de la réponse de certains récepteurs du GABA comme GABA_A/GABA_B (Davies, 2003; McKeon et al., 2008). La consommation aiguë provoque aussi une augmentation de la libération de sérotonine (5-HT), modifiant alors la régulation émotionnelle, les réactions de stress et d'anxiété et la perception de la douleur, ainsi que la libération d'opioïdes endogènes comme les endorphines, responsables de l'euphorie, du bien-être et de la relaxation générale. Dans le cas d'une alcoolisation chronique, la consommation d'éthanol entraîne cette fois-ci une hypersensibilité des récepteurs NMDA du glutamate, ainsi qu'une désensibilisation de certains récepteurs GABAergiques. Les effets sont dès lors préférentiellement excitateurs et neurotoxiques, ce qui explique généralement les effets néfastes sur le comportement, sur la santé et sur la destruction neuronale (hyperactivité, tremblements, crises d'épilepsie, délirium tremens) pouvant être observés à l'arrêt de la consommation de boisson lors d'un sevrage (Lovinger, 2008; McKeon et al., 2008; Nagy et al., 2005).

La grande majorité des substances d'abus influence la neurotransmission dopaminergique responsable de l'éveil comportemental, de la motricité et de la motivation. La consommation d'alcool aiguë et chronique impacte elle aussi la transmission de la dopamine (Volkow et al., 2016). De nos jours encore, nous ne possédons qu'une partie de la compréhension des mécanismes d'action de l'éthanol sur la neurotransmission de la dopamine, cependant, les scientifiques s'accordent pour dire que la prise aiguë d'alcool potentialise la libération de dopamine dans la fente synaptique de certaines régions cérébrales. La dopamine joue également un rôle dans l'apprentissage des contextes et des indices environnementaux qui potentialisent la recherche d'alcool chez les gros buveurs. C'est généralement pour cette raison que l'on conseille fortement aux alcooliques sevrés de s'éloigner des lieux de consommation et des personnes avec lesquelles ils avaient l'habitude de consommer. La prise chronique d'alcool peut conduire à un état hypo-dopaminergique motivant le buveur à la recherche active de la consommation afin de rétablir les niveaux homéostatiques du neurotransmetteur (Volkow et al., 2007). Ces phénomènes ont généralement lieu dans le réseau dopaminergique méso-télencéphalique et méso-cortico-limbique, plus communément appelé « circuit de la récompense », comprenant les « centres de la motivation » : l'aire tegmentale ventrale, le noyau accumbens et le cortex préfrontal. Les mécanismes d'action de l'éthanol, et des autres substances addictogènes, sur la neurotransmission dopaminergique sont directement liés au phénomène de dépendance psychique primaire. Le chapitre 2 nous aidera à mieux comprendre les bases neurobiologiques et phénoménologiques de l'addiction, les mécanismes d'action de l'alcool sur la dopamine et les régions de la motivation associées.

4. Intoxication alcoolique

On désigne ordinairement par « intoxication alcoolique », « ivresse » ou encore « ébriété » un état aigu cliniquement dangereux qui survient généralement après l'ingestion d'une quantité relativement importante d'alcool (Vonghia et al., 2008). Divers facteurs peuvent influencer la gravité de l'intoxication alcoolique, comme la quantité d'alcool ingérée, le poids corporel individuel, le niveau de tolérance, le pourcentage d'alcool contenu dans la boisson et la période d'ingestion (Yost, 2002).

Les effets aigus de l'éthanol peuvent être classés selon la dose croissante ingérée. La quantité d'alcool ingérée est généralement proportionnelle à la gravité des symptômes de l'intoxication. Bien qu'étant considéré comme un dépresseur du système nerveux central, l'éthanol possède des effets biphasiques : une phase de stimulation suivie d'une phase d'inhibition suivant les quantités d'alcool absorbées. À faibles doses (*BAC* entre 0,5 et 1 g/L ou *LAAE* entre 0,22 et 0,45 mg/L), l'éthanol provoque communément des effets stimulants, euphorisants, désinhibants, anxiolytiques, une sensation de bien-être, une augmentation de l'appétit, etc. À des doses modérées (*BAC* entre 1 et 2 g/L ou *LAAE* entre 0,45 et 0,90 mg/L), les effets stimulants de l'éthanol se dissipent graduellement pour laisser s'exprimer les effets dépresseurs, ce qui explique généralement les pertes d'équilibre, l'ataxie, l'incoordination motrice (effets de dépression sur les neurones du cervelet), des altérations de l'attention, de la vigilance, des fonctions cognitives et mnésiques (*blackout*), du langage et de l'articulation, mais également une diminution de la température corporelle (hypothermie) et une inhibition de l'excrétion de l'hormone antidiurétique (vasopressine) contribuant fortement à la déshydratation. À des doses élevées (*BAC* entre 2 et 3 g/L ou *LAAE* entre 0,90 et 1,35 mg/L), les effets de l'éthanol deviennent potentiellement dangereux en provoquant des vomissements, des troubles du comportement (agressivité ou passivité), des troubles du jugement et de l'humeur, des déficits dans les fonctions sensorielles, de la confusion mentale et des risques importants de sédation. Enfin, à des doses

toxiques (*BAC* de 3-4 g/L ou LAEE entre 1,35 et 1,82 mg/L), le surdosage peut mener à un coma éthylique pouvant provoquer le décès (*BAC* supérieure à 4 g/L) dû à l'inhibition des centres de la respiration et du rythme cardiaque dans le tronc cérébral (Brust, 2007b; Dubowski, 1980; Vonghia et al., 2008; Yost, 2002), on parle alors de dose létale ou plus communément d'overdose.

Il est souvent complexe de poser un diagnostic parfaitement fiable de l'intoxication alcoolique étant donné les nombreuses autres circonstances pouvant mimer les mêmes signes cliniques (Vonghia et al., 2008), telles qu'une intoxication à une autre substance hypnotique, des altérations métaboliques, des causes neurologiques, ou encore des maladies infectieuses (Marco & Kelen, 1990; Yost, 2002). Le traitement d'une intoxication alcoolique sévère, appelée « alcoolopathie », est souvent très similaire à celle des autres substances hypnotiques ou déprimeurs (Brust, 2007b). Un examen des voies respiratoires et de la qualité de la respiration doit être effectué étant donné que le décès lié à l'overdose est provoqué par une dépression respiratoire sévère. Une solution intraveineuse contenant la plupart du temps un mélange de dextrose, magnésium, vitamine B9 et thiamine est systématiquement administrée afin de réhydrater le patient et de corriger le déséquilibre électrolytique et l'hypoglycémie. Ce mélange peut être combiné à des substances antiémétiques chez les individus présentant des nausées et des vomissements. Chez les individus agités et violents, des substances sédatives et/ou neuroleptiques peuvent être envisagées, notamment l'halopéridol², en contrôlant minutieusement les doses administrées au regard du risque d'interaction pharmacologique entre les deux substances, pouvant notamment entraîner une dépression respiratoire et une hypotension (Vonghia et al., 2008; Yost, 2002). Dans les cas où la *BAC* est très élevée, chez des individus présentant une acidose sévère ou dans le cas d'association avec d'autres

² Pour l'anecdote chauvine, l'halopéridol a été découvert par le pharmacologue belge Paul Janssen dans les années 1950. L'halopéridol, étant par ailleurs le premier neuroleptique à être utilisé en psychiatrie, a été synthétisé pour la première fois en 1958 par une équipe de chercheurs en psychiatrie à l'Université de Liège (Granger, 1999).

substances, une hémodialyse ou une dialyse péritonéale peut être envisagée afin d'accélérer l'élimination de l'éthanol (Koch-Weser et al., 1976). La métadoxine est utilisée dans le traitement des cas préoccupants en accélérant la métabolisation de l'alcool via la potentialisation de l'activité de l'ALDH, la clairance plasmatique de l'éthanol et de l'acétaldéhyde, ainsi que l'élimination des cétones dans les urines (Addolorato et al., 2003). Sans nous épancher davantage sur ce sujet, selon plusieurs études, la L-Dopa, l'aminophylline et l'éphédrine diminuent l'intoxication à l'éthanol (Alkana et al., 1977, 1982). Il semblerait également que la naloxone puisse inverser le coma éthylique momentanément (Brust, 2007b).

L'intoxication à l'alcool est si commune dans notre société moderne que les professionnels de la santé ont parfois tendance à oublier qu'elle peut être fatale et plus spécifiquement lorsque la consommation d'alcool est associée à celle d'autres substances. En effet, l'alcool est fréquemment consommé en association avec d'autres drogues, le plus souvent avec le tabac ; le tabagisme étant par ailleurs très répandu dans notre société, ainsi qu'un facteur de risque de syndrome alcoolique, et inversement (Lajtha & Sershen, 2010). À défaut d'un but récréatif, l'alcool est couramment associé à d'autres substances sédatives et déprimeurs du système nerveux central, comme les barbituriques ou encore l'hydrate de chloral, pouvant potentialiser le risque d'apnée et de dépression respiratoire sévère et entraîner plus rapidement le décès (Gessner, 1973; Gupta & Kofoed, 1966, cités par Brust, 2007). Ces effets synergiques peuvent se produire lorsqu'un consommateur associe la prise de boisson et d'antihistaminiques sédatifs, de neuroleptiques ou d'autres substances hypnotiques comme la méthaqualone ou les benzodiazépines. De surcroît, les benzodiazépines comme le diazépam et le flurazépam agissent en association avec l'alcool comme une véritable bombe à retardement étant donné leur demi-vie d'élimination sanguine de plus de 24 heures. Ainsi, lorsque de fortes quantités d'alcool sont consommées le jour suivant la prise de benzodiazépines, le risque d'intoxication alcoolique létale se voit drastiquement augmenté (Linnoila, 1990; Linnoila et al., 1979). L'association entre l'éthanol et les substances opioïdes comme l'héroïne, la morphine ou des

analgésiques narcotiques comme la méthadone, agissent en synergie, notamment en additionnant leurs effets anesthésiants et tranquillisants, ainsi, il n'est pas rare d'observer une aggravation du coma éthylique vers l'arrêt cardiaque et l'arrêt total des fonctions respiratoires. Enfin, l'association entre l'alcool et les boissons énergisantes, comme la très populaire « vodka-Red Bull », se révèle très nocive. Ce cocktail est de nos jours considéré comme la boisson stéréotypique de *binge drinking* et une véritable grenade dégoupillée. Cette mixologie très appréciée chez les adolescents et les jeunes adultes provoque une perception erronée des effets évolutifs de l'alcool par l'intermédiaire de la taurine et des nombreuses substances stimulantes contenues dans la boisson, comme la haute teneur en caféine, le guarana, le ginseng ou encore le glucuronolactone (Sefen et al., 2022). La consommation conjointe de boissons énergisantes et d'alcool possède de multiples effets contreproductifs tels qu'une diminution de la perte d'équilibre corporel, de fatigue et une perception déplétée des effets dépresseurs induits par l'alcool, ainsi qu'une sensation subjective accrue de vigilance. Ces éléments déguisés peuvent notamment entraîner une augmentation de la consommation d'alcool, une déshydratation et une diminution de la perception globale de l'intoxication. On considère aujourd'hui que cette pratique peut également contribuer au développement du syndrome d'addiction alcoolique (Brunborg et al., 2022; Roemer & Stockwell, 2017; Sefen et al., 2022).

Chapitre 2

Au-delà de la soif : Le syndrome d'addiction alcoolique

1. Addiction et dépendance

Les notions d'addiction, de toxicomanie, de dépendance ou encore d'assuétude font le plus souvent référence au même phénomène biologique : une accoutumance, un asservissement ou une soumission de l'organisme aux modifications du milieu dans lequel il évolue. En 1964, l'OMS souligne le mésusage du terme « addiction » et recommande de le substituer par le terme de « dépendance » dans la rédaction du *DSM-III* (Brust, 2007; Maddux & Desmond, 2000). Dans les années 80, le terme « addiction » portait une connotation négative, dissuadant fréquemment les toxicomanes de consulter ou de suivre un traitement (Coune, 2015). La dépendance, ou pharmacodépendance, est généralement définie comme accoutumance physique et psychique à une ou plusieurs substances pharmacologiques, dites drogues ou psychotropes, au fur et à mesure de leurs consommations répétées. Cependant, aujourd'hui, la majorité des scientifiques considère le terme de « dépendance » comme étant traditionnellement utilisé pour décrire la tolérance ou la dépendance physique, faisant référence aux adaptations neurologiques entraînant des symptômes de sevrage lors de l'interruption de la consommation répétée de drogues. Selon Wise & Koob (2014), le terme de « dépendance » demeure systématiquement inconsistant, reflétant l'accoutumance des aspects physiques ou parfois psychiques liés à la consommation chronique de substances. Selon O'Brien et collaborateurs (2006), les adaptations associées au sevrage de substances sont

différentes des adaptations qui entraînent une « addiction », faisant ici référence à une dépendance d'ordre psychique, une perte de contrôle sur les envies impérieuses et la motivation pathologique de recherche et de consommation de la substance d'abus en dépit de ses conséquences délétères. Par ailleurs, le mot « addiction » est d'étymologie latine, « *ad-dicere* » signifiant littéralement « dit à ». Ainsi, l'utilisation du terme « addiction » souligne l'idée d'une absence d'identité propre, d'autonomie et de liberté, mettant en lumière une forme d'assujettissement, homologue à un état de servitude (Maddux & Desmond, 2000). Dans la classification des alcooliques, certes dépassée, proposée par l'alcoolologue français Pierre Fouquet en 1950, les facteurs psychiques et physiques étaient déjà dissociés pour traduire différentes formes d'alcoolisme. Ainsi, le terme « alcoolose » était traditionnellement employé pour caractériser les consommateurs présentant une dépendance physique et consommant la boisson afin de soulager les malaises profonds, tandis que l'on associait le terme de « somalcoolose » à l'alcoolisme chronique, synonyme d'une forme ultime du syndrome, dont les symptômes étaient majoritairement d'ordre psychique tels qu'une envie irrésistible de boire, une recherche compulsive, irrationnelle et immédiate des effets les plus forts possibles, menant parfois à des comportements dipsomaniaques, « *celui qui n'a pas la liberté de s'abstenir de boire des boissons alcoolisées* ». Le terme de « dépendance » est encore largement utilisé pour décrire les manifestations physiques associées à l'alcoolisme. À l'heure actuelle, on considère populairement que la dépendance, l'addiction et la toxicomanie reflètent la même base phénoménologique, faute de pouvoir trouver des définitions plus abouties. Nous avançons que l'addiction est la conséquence d'altérations cérébrales induites par une exposition chronique à une substance, et reflète une envie irrésistible, échappant à la liberté et domptant la motivation, de réaliser un comportement devenu compulsif, ici la recherche et l'administration d'une dose de drogue, avec ou sans symptômes physiques. Ainsi, le terme « addiction » caractérise désormais un sens plus vaste englobant la dépendance et les aspects comportementaux de la pathologie. Dans le cadre de ce travail, nous associerons

plus fréquemment la dépendance ou pharmacodépendance au phénomène de tolérance chronique (cf. section 3 et 4.1) et l'addiction à la dépendance d'ordre psychique, reflétant le phénomène de sensibilisation motivationnelle (cf. section 4.3).

La consommation abusive et chronique d'alcool peut conduire à des états biopsychologiques rendant sa consommation indispensable pour son utilisateur. Le syndrome d'addiction alcoolique s'inscrit ainsi largement dans les théories actuelles de l'addiction. Ce phénomène se manifeste notamment par l'installation d'une emprise sur la vie quotidienne, caractérisée par une obsession pour la recherche de la boisson répétitivement consommée. Les effets de l'alcool chroniquement ressentis, qui peuvent fournir un profond plaisir ou ultérieurement un soulagement physique et/ou psychologique du manque, contribuent grandement à cette emprise, laquelle conduit à une dégénérescence de la santé physique et mentale et une détérioration de la vie sociale, professionnelle, personnelle et interpersonnelle du consommateur. Pour les manifestations cliniques précises de l'addiction alcoolique, il est recommandé de se référer aux tableaux diagnostiques des traités et manuels de psychopathologie et d'addictologie clinique du *DSM-V (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders)* de l'*American Psychiatric Association (APA)*. Aujourd'hui, selon le *DSM-V*, la dichotomie entre « dépendance » et « addiction » est devenue obsolète, étant donné que dans son approche dimensionnelle, ce manuel a cessé de hiérarchiser, considérant la pathologie dans un continuum d'évolution (Coune, 2015). Ainsi, il faudra alors se référer à la section « troubles liés à l'usage de substances ». Le *DSM-V* propose une section dédiée aux 10 classes de substances les plus fréquemment rencontrées dans les troubles du mésusage, telles que les anxiolytiques et sédatifs, le tabac, la caféine, les hallucinogènes, le cannabis, les psychostimulants, les opiacés, l'alcool, les solvants volatils et les autres substances. Dans le cas du syndrome d'addiction alcoolique, il faudra alors se référer à la section du trouble de l'usage d'alcool (TUA) ou « *alcohol use disorder (AUD)* ». Ainsi, tout individu remplissant au moins deux critères sur les

onze définis au cours d'une période de 12 mois peut être diagnostiqué comme présentant un TUA. Le *DSM-V* établit également la sévérité du TUA sur le nombre de critères remplis par l'individu³. Ainsi, la présence de 2 ou 3 symptômes définit un trouble léger, la présence de 4 ou 5, un trouble modéré, et la présence de 6 ou plus, un trouble grave (National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism [NIAAA], 2021).

L'addictologie clinique et la psychopharmacologie expérimentale préclinique distinguent plusieurs aspects du syndrome d'addiction alcoolique dont les principaux seront explicités dans les prochaines sections : le syndrome de sevrage et la dépendance physique, la dépendance psychique, la sensibilisation et la rechute. Le syndrome d'addiction alcoolique sera également discuté en lien avec

³ Les onze symptômes des troubles liés à l'usage d'alcool (TUA) selon le *DSM-V* (NIAAA, 2021) :

1. Une consommation d'alcool en plus grande quantité ou sur une plus longue durée que prévu.
2. Une volonté persistante ou des efforts vains pour réduire ou contrôler la consommation d'alcool.
3. Beaucoup de temps dépensé dans le but d'obtenir de l'alcool, d'en consommer ou de se remettre de ses effets.
4. Présence de *craving* : une envie incontrôlable ou un fort désir de boire de l'alcool.
5. Une consommation récurrente d'alcool entraînant une incapacité à remplir des obligations professionnelles, scolaires ou familiales.
6. Une consommation continue d'alcool malgré des problèmes sociaux ou interpersonnels récurrents et persistants causés ou exacerbés par les effets de l'alcool.
7. Un abandon ou une diminution de nombreuses activités sociales ou de loisir en raison de la consommation répétée d'alcool.
8. Une consommation récurrente d'alcool dans des situations où cela représente un danger physique.
9. Une consommation continue d'alcool malgré la connaissance d'un problème physique ou psychologique récurrent ou persistant possiblement causé ou exacerbé par l'alcool.
10. Une tolérance, définie comme suit :
 - Un besoin marqué de quantités d'alcool de plus en plus grandes pour atteindre l'intoxication ou l'effet désiré.
 - Un effet nettement diminué avec la consommation continue de la même quantité d'alcool.
11. Un syndrome de sevrage, manifesté comme suit :
 - Les signes caractéristiques de sevrage de l'alcool (voir critères A et B de la catégorie « sevrage »).
 - L'alcool (ou une autre substance relativement proche) est utilisé pour soulager ou éviter des symptômes du sevrage.

les grandes théories de l'addiction aux substances : la théorie du renforcement négatif (Blume, 2001; Conger, 1956; Khantzian, 2013; Koob, 2013; Koob & Le Moal, 1997; Solomon & Corbit, 1974; Young et al., 1990), la théorie du renforcement positif (Edwards et al., 1981; Stewart et al., 1984; Stewart & Wise, 1992; Wise & Bozarth, 1987) et, plus largement, avec la théorie de la « sensibilisation motivationnelle » (« *incentive-sensitization theory of addiction* ») (Berke & Hyman, 2000; Nestler, 2002; Robinson & Berridge, 1993, 2001, 2008).

2. L'addiction comme maladie cérébrale

Les avancées scientifiques des dernières décennies ont fait reconnaître l'addiction comme une pathologie chronique. Le syndrome d'addiction constitue ainsi une pathologie psychiatrique à part entière, traitable, mais généralement incurable, impliquant des interactions complexes entre les circuits cérébraux, la génétique, l'environnement et les expériences de vie d'un individu. Les individus « toxicomanes » ou « addictes » consomment des substances et adoptent des comportements dont le devenir compulsif continue souvent en dépit des conséquences néfastes qu'ils engendrent (American Society of Addictive Medicine [ASAM], 2019). Pratiquement toutes les substances addictogènes agissent sur le circuit cérébral de la récompense (cf. section 4.3.3). Par ailleurs, ce système explique partiellement pourquoi les toxicomanes continuent à consommer sur le long terme. Il a notamment été démontré que, globalement, le cerveau d'un individu toxicomane est différent de celui d'un individu sain, ces différences se marquant dans des changements métaboliques cérébraux, la disponibilité des récepteurs neuronaux, la masse cérébrale, ou encore l'expression de gènes (Koob, 1996; Volkow et al., 2016). Dans ce cas, il est ainsi nécessaire de traiter un toxicomane avec la même compréhension et la même empathie que l'on accorde à un patient atteint de démences, en reconnaissant les défis uniques auxquels ils sont confrontés sur le plan cérébral (Leshner, 1997). Si nous considérons la base biologique d'une maladie cérébrale, c'est-à-dire toute modification cérébrale, chimique ou structurelle engendrée, alors l'addiction constitue fondamentalement une maladie cérébrale. Cependant, il reste tout de même un gouffre considérable entre la conscience collective et les avancées scientifiques dans la vision que nous avons de l'addiction (ou le regard que nous portons sur l'addiction). Un exemple qui caractérise ce fossé entre preuves scientifiques et perception publique réside dans la nature sociale attribuée au phénomène d'addiction. En effet, encore une grande majorité de la population attribue l'addiction à une cause purement sociale devant se dénouer uniquement par le social ou par le judiciaire (Leshner, 1997), et perçoit le toxicomane trop largement comme une personne faible, mauvaise ou

criminelle étant en incapacité de contrôler ses pulsions et de s'inscrire dans une vie morale saine. Ici, le toxicomane est le seul responsable, il consomme des drogues car il aime ça (Heilig et al., 2021; Leshner, 1997). Ce stéréotype s'est largement diffusé sous la forme d'une déshumanisation ou d'une « addicto-stigmatisation » et son ton moraliste sous-jacent se superpose de manière significative à toutes les décisions liées à la consommation de drogues et aux consommateurs (Fontesse et al., 2019). Selon Leshner (1997), l'addiction n'est pas un problème social, mais n'est pas non plus qu'un problème cérébral. Ce phénomène constitue une pathologie cérébrale dans laquelle vient se greffer le contexte socio-environnemental dans lequel le syndrome s'est développé et où il s'exprime. Une minorité de consommateurs développera un syndrome d'addiction après la première utilisation. La vulnérabilité au développement de l'addiction diffère entre les individus car ils se discriminent également dans divers facteurs génétiques, environnementaux et développementaux (Burnett-Zeigler et al., 2012; Volkow et al., 2016). La liste non exhaustive des phénomènes d'influence et des facteurs potentialisant la vulnérabilité à l'addiction comprend notamment les antécédents familiaux (héritabilité, éducation), l'exposition précoce à la consommation de drogues (l'adolescence est l'une des périodes les plus critiques comme nous le verrons dans les chapitres suivants), l'exposition à des environnements à risque (environnements socialement stressants avec de faibles soutiens familiaux et sociaux, des alternatives comportementales restreintes, des environnements dans lesquels l'accès aux drogues est aisé et des attitudes normatives laxistes envers la consommation de substances) et certaines maladies mentales (troubles dépressifs, troubles de l'attention avec hyperactivité, psychoses, troubles anxieux).

Ces avancées et preuves scientifiques tangibles des dernières décennies nous amènent donc à réfléchir plus amplement sur de nouvelles pistes de traitements préventifs et thérapeutiques à envisager pour le syndrome d'addiction. Ce dernier doit être considéré comme étant une pathologie à part entière au regard de la gravité physique, psychologique, professionnelle, sociale et (inter)personnelle qu'il

inflige. Notons également que le phénomène d'addiction provoque un impact économique important et grandissant dans la société mondiale (cf. Figure 3). Une nouvelle preuve du scepticisme de la conscience collective au sujet de l'addiction vient également du fait que les budgets investis en prévention, traitement et recherche ne sont toujours pas à la mesure de la sévérité du problème sociétal, par conséquent, un large nombre de patients ne bénéficient toujours pas de traitements concluants (Heilig et al., 2021).

Obesity is one of the top three global social burdens generated by human beings

Estimated annual global direct economic impact and investment to mitigate selected global burdens, 2012¹

GDP, \$ trillion

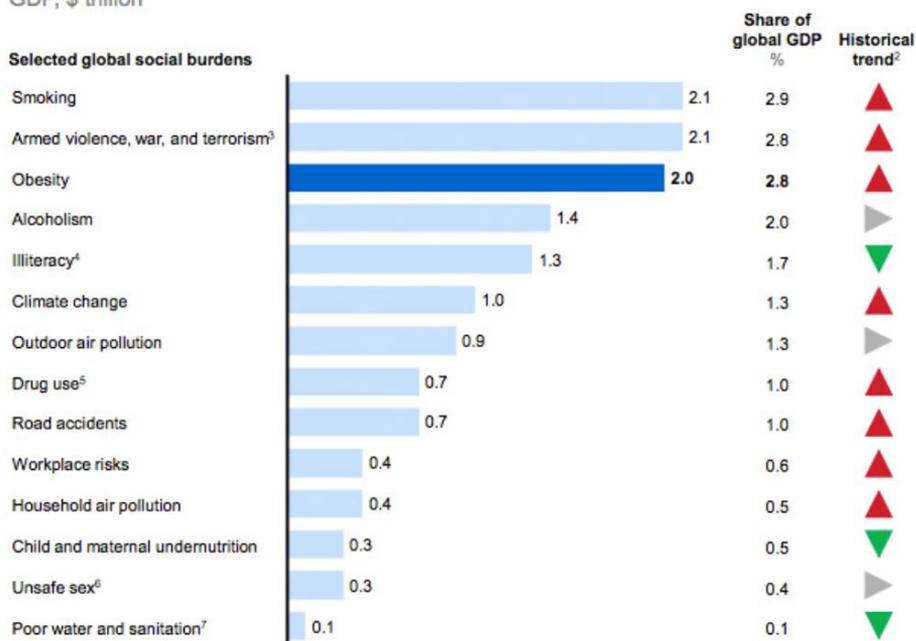


Figure 3.

Estimation des impacts économiques annuels et des investissements mis en œuvre afin de mitiger les charges mondiales (adapté de McKinsey & Company, 2014).

3. Tolérance, dépendance physique et sevrage alcoolique

Au sens large, la tolérance désigne la diminution des effets physiologiques, somatiques, mentaux ou comportementaux d'une substance consécutivement à son absorption plus ou moins régulièrement répétée. Pour récupérer l'ampleur de l'effet initial, une dose de substance plus forte que celle ayant produit la tolérance est nécessaire. Autrement dit, lorsqu'une même dose de drogue est chroniquement consommée, celle-ci produira des effets progressivement plus faibles. Plusieurs types de tolérance sont généralement décrites : la tolérance pharmacocinétique ou métabolique, se caractérise par une augmentation du métabolisme et une perte de biodisponibilité de la substance au sein de ses sites d'action. La tolérance pharmacodynamique ou cellulaire, se caractérise par une neuroadaptation (O'Brien, 2015), c'est-à-dire une réponse biopsychologique réduite en fonction des variations de la concentration et de la biodisponibilité de la substance. Dans une perspective plus globale, nous pouvons également citer la tolérance aiguë, la tachyphylaxie, la tolérance environnementale, la tolérance simple et la tolérance chronique. La tolérance aiguë et la tachyphylaxie caractérisent toutes deux une tolérance rapide, la tolérance aiguë désigne une diminution de l'effets de l'absorption d'une dose faible ou modérée d'une substance dont une forte quantité a été absorbée récemment, tandis que la tachyphylaxie s'emploie plutôt pour caractériser l'établissement soudain d'une tolérance à la suite d'une seule absorption d'une dose plutôt forte ou de quelques absorptions faibles ou modérées d'une substance séparées par de courts intervalles (quelques minutes ou quelques heures). Une diminution des effets provoqués peut éventuellement s'observer au cours de son administration, par exemple lors d'une infusion lente d'un médicament ou à la suite des premiers verres d'alcool lors d'un *binge drinking*. Les substances psychédéliques, comme le LSD, ou la psilocybine contenue dans les champignons hallucinogènes, sont susceptibles de provoquer des tolérances rapides. Ces deux phénomènes permettent généralement d'expliquer la raison pour laquelle une grande proportion de consommateurs ne parviennent pas à expérimenter deux épisodes de

« défonce » ou « trip » deux jours consécutifs et, par conséquent, soient contraints d'attendre relativement longtemps avant de pouvoir recouvrer les effets initialement recherchés. La tolérance environnementale ou contextuelle, quant à elle, possède une base pavlovienne, elle désigne la diminution progressive d'un effet lors de l'administration d'une substance à la suite d'évènements devenus familiers grâce à des expositions répétées. Une étude en psychopharmacologie a notamment démontré que des rats étaient beaucoup moins sensibles aux effets analgésiques et sédatifs de la morphine lorsque celle-ci fut administrée dans le contexte d'une suite d'indices environnementaux précédents son injection, par rapport à des rats recevant les mêmes administrations dans un contexte non familier. Certaines études ont démontré que le mode d'injection pouvait aussi provoquer une tolérance environnementale lorsque des souris traitées avec de l'éthanol via des injections cérébrales intraventriculaires développaient une tolérance aux effets hypothermiques et une forte réponse compensatoire conditionnée lors d'un test utilisant la même méthode d'injection, mais perdaient les effets comportementaux tolérés lorsque l'injection était réalisée via la voie intrapéritonéale (Melchior, 1988; Siegel et al., 1982; Siegel & MacRae, 1984). Nous discuterons du rôle des facteurs contextuels dans le phénomène de sensibilisation comportementale dans le chapitre 3.

Chez un gros consommateur, lorsque l'arrêt brutal de la consommation chronique d'alcool s'accompagne de symptômes de sevrages désagréables, on parle généralement de tolérance chronique. La tolérance chronique se développe à mesure de la constance de la consommation d'alcool. C'est cette forme de tolérance, dans sa plus grande sévérité, qui caractérise la dépendance physique et son syndrome de sevrage. Dans le cas contraire, on parlera alors de tolérance simple, c'est-à-dire une forme de tolérance n'entraînant pas de symptômes de sevrage, comme le cannabis et le LSD, induisant une tolérance forte, mais entraînant généralement très peu de symptômes physique. La tolérance simple est plus généralement celle qui discrimine de manière innée les individus. Pour des raisons d'ordre génétique et biologique, certains individus sont fondamentalement

plus tolérants à certains effets de l'alcool que d'autres. Contrairement à la tolérance simple, en cas d'arrêt brutal de la consommation chronique chez un gros buveur, la dépendance physique se marque par des symptômes d'abstinence constituant un mélange d'affres neurologiques, psychologiques et somatiques, caractérisant le syndrome de sevrage alcoolique. Le syndrome de sevrage peut être induit, intentionnellement ou non, par l'arrêt de la prise chronique de boisson. Du point de vue neurobiologique, la dépendance physique est sous-tendue par des mécanismes d'adaptation, se développant progressivement lors de la consommation chronique d'alcool. Selon la conceptualisation de la dépendance physique de Littleton (2001), dans un système homéostatique sain, nous observons généralement un équilibre biologique entre l'excitation et l'inhibition cérébrale. Bien que l'alcool soit caractérisé par des propriétés neurocomportementales biphasiques, il est tout de même classé, à juste titre, comme dépresseur du système nerveux central (Addicott et al., 2007; Dudek et al., 1991). Lorsque l'alcool est consommé sous forme aigüe, au-delà des doses stimulantes, le mécanisme se déséquilibre et dévie progressivement vers un état global pharmacodynamique d'inhibition cérébrale (cf. section 3 du chapitre 1). Tout au long du processus chronique d'alcoolisation, le cerveau développe des mécanismes d'adaptation à la présence permanente de la substance. Cela se traduit principalement par une augmentation de l'excitabilité neuronale, créant ainsi un nouvel équilibre entre l'inhibition et l'excitation. Ce réajustement pathologique du système nerveux central est la conséquence des neuroadaptations se produisant lors de périodes prolongées d'intoxication alcoolique (Hall & Zador, 1997; Radlow, 1994). Ce phénomène constitue la conséquence de l'établissement d'une tolérance chronique et pharmacodynamique. Cette hyperexcitabilité cérébrale peut généralement passer inaperçue étant donné que la présence d'alcool tend à rétablir artificiellement l'équilibre en permanence. Lors d'un arrêt brutal de la consommation chronique d'alcool, cet équilibre neuroadaptatif se rompt et la balance homéostatique dévie vers l'hyperexcitation cérébrale, conséquence de l'absence des effets régulateurs

de l'alcool. Ce dernier phénomène est généralement l'indicateur principal de l'apparition du syndrome de sevrage. Ce syndrome constitue un ensemble de symptômes neurologiques et somato-psychologiques émergeant peu après l'arrêt de l'alcoolisation, de l'ordre des 6 à 48 heures (Attilia et al., 2018; McKeon et al., 2008; Schuckit, 2009). Les symptômes décrits par les consommateurs abstinents sont généralement très désagréables et peuvent être néfastes, leur expression répétée pouvant laisser de graves séquelles (Trevisan et al., 1998). Ce syndrome cesse rapidement dès que l'utilisateur consomme à nouveau la substance, la reprise durable de la consommation d'alcool annulant ainsi les symptômes d'abstinence. Ce phénomène de reprise de la consommation fait partie des propriétés caractérisant le syndrome de rechute (cf. section 4.3.5 du chapitre 2). Les symptômes de sevrage sont plus ou moins spécifiques à chaque substance pharmacologique et s'expriment souvent dans le sens contraire à celui des effets initiaux induits par la substance, d'où la notion d'effet de rebond. Lorsque la consommation d'alcool est interrompue, le sujet abstinent peut présenter des symptômes tels qu'une nervosité anormale, résultant de l'absence soudaine d'alcool dans la circulation sanguine, perturbant davantage l'équilibre neurochimique établi (Seutin et al., 2015).

En conséquence de l'ensemble de ces symptômes aversifs, l'automédication et l'autorégulation caractérisent une part importante du syndrome d'addiction et de la dépendance physique (Khantzian, 2013). Dans le cas de la dépendance physique et du syndrome de sevrage, afin de soulager un état somato-psychologique dégradé engendré par le manque d'alcool, un individu reconsommara généralement la boisson par le biais de doses plus fortes afin de réajuster son état physiologique et mental général (cf. Figure 4). Le conflit psychologique qui permène entre la poursuite de la consommation devenue indispensable et la motivation d'abstinence peut très souvent mener à une dissonance cognitive s'ajoutant en complément aux autres symptômes. Ces phénomènes d'automédication et d'homéostasie seront plus explicitement détaillés plus loin dans la théorie du renforcement négatif (cf. section 4.1).

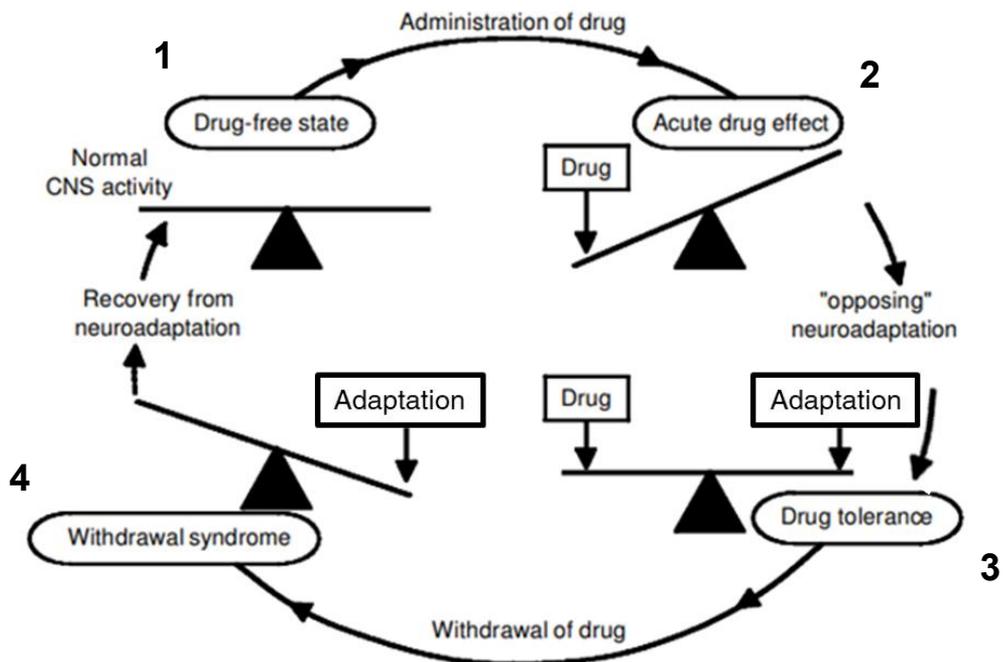


Figure 4.

Représentation des mécanismes de neuroadaptation et d'homéostasie à la suite de la consommation chronique de substances. **1)** État biopsychologique basal. CNS = système nerveux central. **2)** L'administration d'une substance déséquilibre de manière aiguë les propriétés chimiques du cerveau (l'alcool provoque une inhibition cérébrale). **3)** Afin de pallier cet effet, le cerveau met en place un mécanisme homéostatique neuroadaptatif opposé qui rééquilibre l'effet de la substance (neuroadaptation via l'augmentation de l'excitation cérébrale). Tant que la substance est présente, le système reste dans une équilibre relatif (tolérance). **4)** Cependant, après l'élimination de la substance, l'adaptation se retrouve isolée car elle n'est plus « équilibrée » par celle-ci. La perturbation fonctionnelle qui en résulte régit le syndrome de sevrage. Afin de soulager les effets néfastes du sevrage, le consommateur réutilisera la substance afin de réajuster son état psychique et physique. Quand ce système circulaire est durable, on parle alors de rechute chronique (adapté de Littleton, 2001).

Selon les critères de classification du *DSM-V*, la quantité et la durée de l'alcoolisation chronique sont proportionnelles à la gravité des symptômes de sevrage (cf. section 3.1). Globalement, les symptômes de sevrage suivants sont observés (du plus léger au plus intense) : irritabilité, nervosité, agitation, troubles de l'humeur, tremblement des mains et tremblement généralisé, troubles du sommeil (insomnies, réveils nocturnes, cauchemars), maux de tête, nausées, hyperthermie, sudation, tachycardie, etc. Dans les cas les plus préoccupants, le syndrome de sevrage peut également s'exprimer par des symptômes bien plus graves comme des troubles alimentaires (anorexie, vomissements), de l'anxiété généralisée, de la désorientation, de la confusion mentale, le *delirium tremens*, des crises d'épilepsie et peut éventuellement mener au décès lorsqu'aucune intervention et traitement ne sont apportés (Hall & Zador, 1997; McKeon et al., 2008; Muncie et al., 2013; Schuckit, 2015; Trevisan et al., 1998).

Le syndrome de la « gueule de bois » ou de « cuite », scientifiquement appelé « veisalgie », peut être la conséquence directe d'une intoxication alcoolique. Ce syndrome peut également s'apparenter à un syndrome de sevrage aigu. Contrairement au syndrome de sevrage classique rencontré chez les gros buveurs lors de l'arrêt de la consommation chronique, le syndrome de « gueule de bois » ne nécessite pas une alcoolisation chronique pour apparaître. À la suite d'une phase d'alcoolisation intense, cette période désagréable, tant sur le plan physique que psychologique, se manifeste par des symptômes tels que des céphalées, une fatigue intense, des nausées, des vomissements, une sudation abondante, une sensation d'oppression et des tremblements généralisés. Les symptômes apparaissent généralement 6 à 10 heures après la phase d'alcoolisation et peuvent perdurer jusqu'à plus de 24 heures chez les individus sensibles (Palmer et al., 2019). L'intensité de la « gueule de bois » est généralement directement liée à la quantité d'alcool consommée, des études ont notamment démontré que l'accumulation d'acétaldéhyde dans l'organisme, ainsi que le manque de sommeil, de prise alimentaire et la déshydratation, vont également de pair avec la quantité

d'alcool ingérée et aggravent très fréquemment les symptômes (Verster et al., 2010, 2013).

Selon les critères des troubles liés à l'usage de substances du *DSM-V*, on considère que la manifestation d'une tolérance peut constituer une étape transitoire dans la dépendance physique à l'alcool, bien que le lien précis entre ces deux phénomènes et le syndrome d'addiction alcoolique reste encore à déterminer. Aujourd'hui, les recherches soutiennent généralement que la tolérance chronique peut également jouer un rôle dans le phénomène du *binge drinking* et d'escalade de la consommation de substances dans le processus d'addiction (King et al., 2002; Piazza & Deroche-Gamonet, 2013; Quoilin et al., 2013). Cependant, la dépendance physique ne contribuerait possiblement pas, ou peu, aux symptômes somato-psychologiques précipitant très souvent à la rechute comme nous le verrons dans la théorie de la sensibilisation motivationnelle (cf. section 4.3 du chapitre 3).

3.1. Physiopathologie du sevrage

À des doses sédatives, la consommation aiguë d'éthanol induit une dépression du système nerveux central causée par l'augmentation de l'activité GABAergique et de la diminution de l'activité glutamatergique, tandis que la consommation chronique conduit à un nouvel équilibre adaptatif de différents neurotransmetteurs tels que le GABA, le glutamate et la noradrénaline entraînant ainsi le phénomène de tolérance chronique. Une réduction ou un arrêt brutal de la consommation chronique d'alcool entraîne une importante diminution de la concentration d'éthanol dans le sang, provoquant une réduction de l'activité GABAergique et une augmentation de l'activité glutamatergique dans la zone de l'aire tegmentale ventrale et dans le locus coeruleus (Brust, 2007; Murray & Berger, 1997). Ce déséquilibre soudain provoque une hyperexcitabilité neuronale conduisant aux symptômes de sevrage (Adinoff, 1994; Lovinger, 2008; McKeon et al., 2008; Nagy et al., 2005). Des épisodes de sevrage répétés peuvent conduire au phénomène « d'embrasement » (« *kindling* ») dans lequel l'hyperexcitabilité neuronale

engendre une sévérité croissante des nouveaux symptômes de sevrage au fil du temps (Becker & Hale, 1993; Glue & Nutt, 1990).

Le syndrome de sevrage alcoolique interviendrait chez plus de 50% des patients (Hall & Zador, 1997), celui-ci est souvent analysé comme un continuum de sévérité, déterminé par la quantité d'alcool ingérée dernièrement, par la durée totale de la consommation et par le nombre d'épisodes de sevrage déjà vécus par le consommateur. Le sevrage est souvent classé en syndrome précoce, rencontré chez la plupart des patients, caractérisé par des tremblements, des trémulations, des hallucinoses, ou des crises convulsives, et le syndrome tardif caractérisé par le *delirium tremens*, prototypique d'une complication assez grave du syndrome. Le *delirium tremens*, littéralement « délire tremblant », est une perturbation grave de la conscience se marquant par un ébranlement généralisé de certaines fonctions cérébrales, entraînant notamment des délires, hallucinations, de la confusion et une hyperactivité intense du système nerveux autonome. Le *delirium tremens* survient le plus souvent dans les 2 à 3 jours après la dernière absorption d'alcool et dure généralement de 2 à 3 jours, voire 8 dans certains cas très graves (Attilia et al., 2018). Par ailleurs, ce trouble neurologique peut débuter et se terminer de façon brutale ou évoluer par stades. Au contraire des tremblements, des hallucinations ou des crises convulsives, le *delirium tremens* débute bien après la dernière dose d'alcool consommée (Brust, 2007; Schuckit, 2014, 2015). En raison de la croyance populaire selon laquelle tout alcoolique présentant des tremblements et des épisodes hallucinatoires est forcément atteint de *delirium tremens*, celui-ci est parfois surdiagnostiqué (Brust, 2007). Cependant, la plupart des patients souffrant d'un véritable *delirium tremens* subissent systématiquement un *blackout* des évènements récemment vécus, contrairement à des épisodes d'hallucinoses précoces où l'individu se souvient généralement des expériences. On estime que ce trouble interviendrait dans 5 à 6% des cas de sevrage alcoolique (Diamond & Messing, 1994; Schuckit, 2009; Victor & Adams, 1953, cités par Brust, 2007b). Selon certaines études, le décès intervient dans 1 à 4% des cas chez les patients hospitalisés et jusqu'à 37% si aucune assistance n'est apportée (Karila et

al., 2014; Rahman & Paul, 2022; Schuckit, 2014). Le décès peut survenir brutalement et sans cause apparente, généralement, il est la conséquence fatale d'un choc brutal, d'une arythmie cardiaque sévère, d'une hyperthermie ou d'une crise d'épilepsie (Khan et al., 2008; Schuckit, 2014, 2015).

La prise en charge thérapeutique des patients en sevrage alcoolique est généralement constituée d'une intervention pharmacologique et d'une assistance paramédicale. L'assistance paramédicale consiste en l'élimination d'un maximum de stimuli stressants (lumières vives, bruits), le maintien du contact avec la réalité et le soutien psychologique (Attilia et al., 2018; Blondell, 2005). L'approche pharmacologique consiste en un réajustement biochimique général du patient, généralement le déséquilibre électrolytique, la déshydratation, l'hypoglycémie et le manque de vitamines, en particulier celles du groupe B. Certains professionnels recommandent parfois une prise en charge non pharmacologique chez les patients peu symptomatiques (Attilia et al., 2018; Blondell, 2005). Le fait d'éviter la prise de médicaments pourrait mener le patient vers des symptômes inducteurs de renforcement négatif pouvant ainsi contribuer à un risque réduit de rechute. Une des prises en charge pharmacothérapeutiques les plus largement utilisées consiste en l'administration de benzodiazépines (Attilia et al., 2018; Brust, 2007; Schuckit, 2014). Les benzodiazépines sont efficaces pour éviter les complications, comme les convulsions, le *delirium tremens* et la mortalité globale (Adinoff, 1994). L'efficacité des benzodiazépines, comme le paraldéhyde ou certains barbituriques, provient de leur action sur les récepteurs GABA_A dont la fonction est, comme nous l'avons vu, considérablement abolie en cas de sevrage alcoolique brutal (Murray & Berger, 1997). En outre, les benzodiazépines présentent l'avantage de pouvoir être administrées par des voies différentes. En complément des benzodiazépines, la thiamine est très souvent co-administrée. La thiamine est apportée naturellement par l'alimentation. Son absence provoque une altération nerveuse périphérique et centrale, pouvant entraîner une neuropathie périphérique et une encéphalopathie, comme celle de Wernicke (Attilia et al., 2018; Dervaux & Laqueille, 2017). Dans les cas sévères, l'administration de substances sédatives

peut prévenir et réduire les symptômes précoces, à raison d'une grande précaution dans les doses administrées aux patients hépatiques ou souffrant de maladies pulmonaires (Gorelick & Wilkins, 1986). Dans les cas les plus graves, par exemple chez les patients intubés en soins intensifs, des agents sédatifs et hypnotiques puissants comme le propofol peuvent également être administrés.

3.2. Modélisation chez la souris de laboratoire

Chez le rongeur, la tolérance chronique à l'alcool a largement été démontrée pour ses effets ataxiques (Linsenbardt et al., 2009; Phillips et al., 1996; Silveri & Spear, 2001), hypothermiques (Crabbe, 1994; Rustay et al., 2001), anxiolytiques (Koob et al., 1987; Sharma et al., 2007) et sédatifs (Linsenbardt et al., 2009; Masur et al., 1986; Quoilin et al., 2013; Silvers et al., 2003). Dans certaines études (Phillips et al., 1996; Phillips, 1997), il a même été suggéré que la tolérance chronique à l'éthanol, principalement la tolérance à ses effets sédatifs, pourrait expliquer, du moins en partie, l'hyperréactivité locomotrice exprimée lors des administrations répétées d'éthanol (cf. chapitre 3). En d'autres termes, une diminution progressive de l'ampleur des effets sédatifs de l'éthanol après des administrations répétées permettrait une meilleure expression de ses effets stimulants, conduisant ainsi à une sensibilisation locomotrice plus robuste. Dans cette perspective, la sensibilisation aux effets locomoteurs de l'éthanol serait ainsi parfois considérée comme un sous-produit du développement d'une tolérance chronique à ses effets sédatifs (voir Phillips, 1997). Bien que ces derniers partagent des bases neurobiologiques communes, nous verrons dans la suite de ce travail que certaines études ont nettement dissocié ces deux phénomènes (voir Didone et al., 2008; Masur et al., 1986; Phillips et al., 1996; Quoilin et al., 2013; Tabakoff & Kiianmaa, 1982).

La recherche sur la tolérance chronique à l'alcool a bénéficié d'une grande avancée grâce à l'utilisation des modèles animaux. En effet, chez les animaux et les humains, une tolérance aux effets de l'alcool se construit progressivement en fonction de ses administrations répétées, se traduisant souvent par une escalade

des doses consommées. Chez le rongeur de laboratoire, ce phénomène de tolérance peut être observé pour divers effets comportementaux de l'alcool. Ainsi, dans le cadre des objectifs de ce travail, nous parlerons ici de tolérance comportementale. Pour des raisons pratiques, c'est souvent la tolérance aux effets ataxiques, hypothermiques et sédatifs de l'éthanol qui fournit le meilleur modèle animal de la tolérance comportementale, notamment parce que ces effets présentent des qualités physio-comportementales directement mesurables. L'intérêt de l'étude séparée de ces trois types de tolérance a largement été documenté dans la littérature scientifique. Plus précisément, l'intensité des effets sédatifs, hypothermiques et ataxiques expérimentés lors des premières expositions à l'alcool semble être un facteur déterminant pour sa consommation future. Précisément, ces trois effets sont plutôt considérés comme aversifs, tant chez l'être humain que chez le rongeur de laboratoire. Ainsi, un individu davantage sensible à ces effets aversifs, c'est-à-dire un individu « moins tolérant », pourrait manifester une moins forte propension à consommer de grandes quantités d'alcool dans le futur. Inversement, une résistance individuelle accrue à ces propriétés de l'alcool, c'est-à-dire des utilisateurs ayant une plus grande vulnérabilité au développement d'une tolérance envers ses effets, motiverait à consommer de plus grandes quantités de substance avant d'en ressentir les effets aversifs (Newlin, 1990). Analogiquement, la capacité individuelle de l'organisme à mettre en place rapidement (ou non) une tolérance à ces différents effets particuliers pourrait être un facteur de vulnérabilité ou de protection envers une future consommation problématique d'alcool.

Dans le cadre de ce travail, nous utiliserons les procédures de tolérance aux effets hypothermiques et sédatifs chez la souris de laboratoire (cf. chapitre 8). Ces deux phénomènes s'expriment par ailleurs souvent conjointement dans le cas de l'administration de fortes doses d'éthanol. Généralement, le principe se révèle assez simple : des rongeurs reçoivent une injection quotidienne d'une dose élevée d'éthanol, par exemple une dose sédatrice comprise le plus souvent entre 3,5 et 5 g/kg, des doses généralement létales chez l'être humain. Il convient d'ajouter que

la souris métabolise l'éthanol environ 4 à 5 fois plus rapidement que l'homme, permettant ainsi des études de tolérance ou de dépendance physique assez fiables (Brandon-Warner et al., 2012; Heit et al., 2015). Afin d'évaluer les effets hypothermiques, la température rectale des rongeurs est mesurée avant l'administration d'alcool et généralement après 30 et/ou 60 minutes suivant cette injection, certains chercheurs peuvent continuer à mesurer la température au-delà des 60 minutes afin d'observer le recouvrement de la température corporelle vers une température homéostatique (Browman et al., 2000; Closon et al., 2009; Hjeresen et al., 1986; Mackenzie-Taylor & Rech, 1991; Tirelli et al., 1992; Werner et al., 2009). Au fil des expositions, l'alcool induit progressivement une perte de température corporelle de moins en moins prononcée, traduisant ainsi un phénomène de tolérance chronique à ses effets hypothermiques. L'évaluation des effets sédatifs de l'alcool se réalise souvent par le biais de la mesure de la perte du réflexe de retournement (« *loss of righting reflex* »), le plus souvent chez la souris (Darlington et al., 2016; Mollenauer et al., 1992; Ohsawa & Kamei, 1999; Quertemont et al., 2004; Quoilin et al., 2010, 2013; Werner et al., 2009). Le réflexe de retournement se définit généralement par les actions physiques mises en place par le rongeur pour retrouver une orientation corporelle normale, lorsque celle-ci a été perturbée par l'injection d'une forte dose de substance hypnotique. Chez la souris, ce réflexe consiste à se retourner ou se redresser sur ces quatre pattes lorsqu'elle est positionnée en décubitus dorsal. Lors de l'injection d'agents hypnotiques ou sédatifs comme l'alcool ou les benzodiazépines, les souris perdent assez rapidement leur réflexe de retournement, ce phénomène est notamment dû à l'ascension rapide de la concentration d'éthanol dans la circulation sanguine. La durée de l'extinction de ce réflexe constitue une mesure robuste du potentiel hypnotique de l'agent pharmacologique. Expérimentalement, les souris reçoivent généralement une forte dose d'éthanol quotidiennement. Immédiatement après cette injection, celles-ci sont replacées dans leur cage d'hébergement jusqu'à la perte du réflexe de retournement, survenant généralement dans les 3 à 5 minutes. Dès l'établissement de la perte de ce réflexe, les souris sont positionnées par

l'expérimentateur en décubitus dorsal. Ces dernières demeurent dans cette position jusqu'à ce qu'elles parviennent à se redresser. Arbitrairement, lorsque le rongeur se redresse trois fois en moins d'une minute, le réflexe de retournement est alors récupéré. La durée de l'abolition du réflexe de retournement sera définie par le temps entre la mise de la souris en décubitus dorsal et la récupération totale de son réflexe. Cette procédure peut être répétée durant 10 à 15 jours consécutifs afin d'observer l'établissement d'une diminution significative de la durée de la sédation induite par l'éthanol, traduisant ainsi une tolérance chronique aux effets sédatifs de l'alcool (Quoilin et al., 2013; Tsibulsky & Amit, 1993; Werner et al., 2009; Yanai & Sze, 1982).

La dépendance physique et le sevrage alcoolique peuvent également être étudiés chez la souris de laboratoire. Cependant, il se révèle assez fastidieux de rendre une souris physiquement dépendante à l'alcool pour diverses raisons. Hormis les souches sélectionnées génétiquement pour leur attrait à l'alcool, les rongeurs présentent une aversion gustative innée pour le goût de l'alcool. Dans le cas d'une procédure d'alcoolisation par la technique de consommation orale volontaire, afin de contrecarrer l'effet gustatif aversif, il est notamment nécessaire de dissimuler le goût de l'alcool par du sucre via la technique de « *Sucrose-Fading Procedure* », c'est-à-dire d'apporter une addition de sucre dans le mélange d'alcool contenu dans le biberon. Toutefois, même avec cette technique, atteindre des niveaux de consommation volontaire suffisants pour induire une dépendance physique se révèle laborieux. En outre, si des niveaux satisfaisants de consommation orale sont atteints, le chercheur peut également se demander si l'animal leurré a réussi à discriminer la nature des deux éléments gustatifs, a-t-il préféré consommer le sucre ou l'alcool ? Deux techniques alternatives de consommation volontaire d'alcool, le *Drinking in the Dark (DID)* et le *Two-bottle Choice (TBC)* également appelé le *Free Choice Drinking*, sont alors plus largement utilisées. Le *DID* consiste à remplacer le biberon d'eau de la cage d'hébergement par un biberon contenant généralement 20% d'éthanol pendant une durée de 2 à 4 heures, en commençant par exemple 3 heures après le début du cycle d'obscurité, durant

lequel les rongeurs exercent le plus d'activité. En utilisant cette procédure, les rongeurs peuvent ainsi consommer suffisamment d'éthanol, la concentration d'éthanol sanguine (*BEC*) pouvant atteindre plus de 100 mg/dl, et exhiber des signes comportementaux d'intoxication alcoolique (Crabbe et al., 2011; Thiele et al., 2014; Van Hees et al., 2022; Yoneyama et al., 2008). Le *TBC* consiste à disposer deux biberons continuellement dans la cage d'hébergement de l'animal. Un biberon contient de l'eau et l'autre contient une solution diluée d'éthanol dont la concentration varie souvent entre 5 et 30%. Les rongeurs ont ainsi un accès constant aux deux solutions et peuvent ainsi choisir la quantité de boisson ingérée de chaque biberon. Cette procédure permet d'évaluer la masse en gramme de la consommation d'éthanol par kilo de poids corporel de chaque souris, ainsi que le ratio de préférence pour l'éthanol (Huynh et al., 2019; Lessov et al., 2001; Yoneyama et al., 2008). Les techniques de consommation orale volontaires restent encore à ce jour imparfaites. Par exemple, le contrôle précis des doses se révèle parfois malaisé. Il est essentiel de mesurer avec précision la quantité d'alcool ingérée par le rongeur pour garantir la cohérence des résultats expérimentaux. Ceci nécessite également une manipulation minutieuse dans la préparation des solutions d'alcool avec des concentrations spécifiques. Les rongeurs peuvent également présenter des comportements variés lorsqu'ils sont exposés à l'alcool, affectant la quantité réelle ingérée. Il est donc nécessaire de surveiller attentivement chaque animal pour s'assurer qu'il consomme l'alcool de manière volontaire et cohérente. De plus, des facteurs externes tels que le stress, l'environnement et la présence d'autres congénères peuvent influencer les habitudes de consommation d'alcool et doivent être pris en compte dans la conception de l'expérience. Enfin, les études d'alcoolisation orale volontaire exigent souvent un suivi prolongé sur une période de temps étendue pour observer les effets à long terme de la consommation (Bertola et al., 2013; O'Rourke et al., 2016). Ainsi, pour instaurer une dépendance physique fidèle chez la souris, il est souvent plus fiable de recourir à l'administration forcée de fortes doses d'éthanol, le plus souvent via des injections, afin d'observer des symptômes de sevrages

après arrêt de l'administration chronique. Une autre technique d'intoxication emploie l'utilisation d'une enceinte d'alcoolisation. L'éthanol sera ici administré sous forme gazeuse via l'inhalation (Jiang et al., 2022; Morton et al., 2014). L'expérimentateur fera généralement alterner les rongeurs entre des cycles d'intoxication alcoolique et des cycles d'arrêts d'alcoolisation afin de mettre en évidence des symptômes de sevrages et/ou le phénomène de *kindling*.

4. Dépendance psychique et théories de l'addiction

La dépendance psychique ou dépendance psychologique est en général constituée de facteurs hyper-motivationnels qui poussent à consommer la substance. La dépendance psychique renvoie donc d'abord aux facteurs de nature psychologique qui motivent et maintiennent la consommation chronique de substances. Nous considérons aujourd'hui que cette forme de dépendance se trouve au cœur du syndrome d'addiction (Robinson & Berridge, 1993). Selon de nombreux chercheurs, l'addiction constituerait une forme de motivation pathologique pour la recherche et la consommation de la substance dont le consommateur est sous emprise. On parle généralement d'une recherche compulsive où l'individu « ne peut pas s'empêcher » de désirer la drogue, de se la procurer et de la consommer. En 2001, Nestler définit la base phénoménologique de l'addiction comme « *la perte de contrôle de la consommation de drogue ou la recherche et la prise compulsive de drogue malgré ses effets délétères* ». L'addiction serait causée par différentes actions des substances au sein des processus cérébraux devenus vulnérables par suite de la consommation répétée. L'explication du phénomène de dépendance psychique est encore aujourd'hui mal connue. En effet, nous ne sommes pas en parfaite mesure d'expliquer le principe d'escalade de la consommation menant l'utilisateur d'une consommation épisodique récréative vers l'entrée dans le syndrome d'addiction. Nombreux sont les auteurs ayant tenté une mise en exergue du phénomène d'addiction. Selon Didone (2014), l'inventaire des modèles explicatifs de l'addiction pourrait largement faire partie d'une thèse en épistémologie étant donné leurs nombres et leurs diversités. La présente section se contentera de décrire trois grandes théories de la dépendance psychique : la théorie du renforcement négatif, la théorie du renforcement positif et la théorie de la sensibilisation motivationnelle de l'addiction que nous considérerons plus avant. Ces trois théories partagent la même base psychobiologique postulant que l'alcool et les substances psychotropes en général induisent leurs effets addictogènes dans le système

cérébral menant à des neuroadaptations à long terme (Koob & Volkow, 2010; Robinson & Berridge, 1993, 2001, 2008; Wise & Koob, 2014).

4.1. Théorie du renforcement négatif

La théorie du renforcement négatif, également parfois dénommée « dépendance psychologique secondaire », est directement liée aux mécanismes de dépendance physique et de sevrage que nous avons explorés plus haut. Selon cette théorie, deux formes de motivation psychologique subsisteraient indépendamment l'une de l'autre : une motivation pousserait l'utilisateur à maintenir sa consommation de substances dans le but d'éviter de subir les effets aversifs provoqués par son absence, c'est à dire, en se soulageant des affres physiques et/ou psychologiques du sevrage préexistants à la consommation (Blume, 2001; Koob, 2013; Koob & Le Moal, 1997; Solomon & Corbit, 1974), tandis que l'autre naitrait consécutivement à la consommation via le principe d'automédication psychique (Conger, 1956; Khantzian, 2013; Young et al., 1990). Ces deux motivations partagent l'idée selon laquelle une substance permettrait le maintien de l'équilibre homéostatique ou un auto-ajustement physique et psychologique vers son état basal (Poulos & Cappell, 1991). Ainsi, selon les théories de l'apprentissage associatif, un comportement sera plus probable d'apparaître lorsque ses conséquences sont une diminution des effets négatifs subjectivement ressentis.

Selon le premier type de motivation, l'addiction serait maintenue par le désir intense d'éviter les conséquences négatives du sevrage via l'anticipation. Comme nous l'avons vu précédemment, ce phénomène est régi par les processus d'homéostasie et de tolérance. Selon plusieurs auteurs (Blume, 2001; Koob, 2013; Koob & Le Moal, 1997; Solomon & Corbit, 1974), les explications de l'addiction trouvent leurs fondements dans le principe de « l'antagonisme motivationnel » (« *the opponent-process theory of motivation* ») proposée en 1974 par Solomon et Corbit. Cette théorie postule que toutes les substances agissent de manière à perturber l'équilibre interne de l'utilisateur. Cette modification de l'équilibre, appelé *a-process*, est généralement associée à une sensation hédonique. L'organisme

réagira en mettant en place une série de feedbacks négatifs, appelés *b-process*, qui seront opposés au *process* précédent, afin d'induire un réajustement de l'équilibre interne. Ces mécanismes fonctionnels auront ici des effets subjectifs négatifs et désagréables pour le consommateur. Ce serait par ce phénomène de feedbacks négatifs que naîtrait la tolérance et le syndrome de sevrage. L'évitement de ce *b-process* constituerait ainsi le renforcement négatif et expliquerait le besoin de reconsommer la substance durablement (cf. Figure 4). On considère que les substances qui n'entraînent pas nécessairement de symptômes de sevrage physique marqués, telles que la cocaïne et les amphétamines, agissent comme des renforcements négatifs en atténuant cette « détresse psychologique » initialement produite par l'arrêt de la consommation de la substance (Robinson & Berridge, 1993). De plus, des stimuli environnementaux, auparavant neutres, qui ont été associés au sevrage, peuvent eux-mêmes provoquer des symptômes de sevrage via le conditionnement pavlovien, ce phénomène sera alors appelé sevrage conditionné. Ainsi, certains psychotropes peuvent non seulement atténuer les symptômes primaires du sevrage, mais également les symptômes de sevrage conditionné (symptômes secondaires) provoqués par l'exposition à des stimuli activateurs liés à la drogue (Siegel, 1999; Siegel et al., 2000).

La deuxième forme de motivation repose sur le principe de « réduction de la tension » (« *tension reduction hypothesis* ») ou d'automédication initialement proposée par Conger en 1956. Ce paradigme postule que la substance facilite à apaiser et à réduire l'anxiété et les tensions psychiques induites par les effets déprimeurs de l'alcool sur le système nerveux central. La consommation d'alcool est ainsi utilisée comme un agent anxiolytique ou un remède, dans le but de réduire ces affres psychiques (Edwards et al., 1981; Khantzian, 2013; Young et al., 1990). Le soulagement des tensions psychiques (hallucinations, anxiété, mal-être psychologique) faisant suite à la consommation chronique d'alcool constituerait donc ici le renforcement négatif.

La théorie de « l'antagonisme motivationnel » a notamment permis de faire reconnaître l'addiction comme une pathologie réelle, étant donné ses symptômes physiques observables sur le consommateur. Cependant, celle-ci fut vivement critiquée car elle ne permettrait pas d'expliquer et de dissocier la dépendance physique et le sevrage de la dépendance psychique, ni d'expliquer le syndrome de rechute chronique (Gardner, 2011; Robinson & Berridge, 1993), ces processus étant en moindre partie induits par les symptômes physiques du sevrage. De manière plus générale, les deux modèles explicatifs ne parviennent pas à justifier la recherche compulsive et la consommation de substance en dépit des conséquences délétères sur l'utilisateur.

4.2. Théorie du renforcement positif

À la suite des théories postulant que l'addiction était maintenue en réaction aux mécanismes de sevrage, un autre courant neuroscientifique a postulé que le phénomène d'addiction était régi principalement par des renforcements positifs, c'est-à-dire la sensation de plaisir associée à la prise de drogue (Edwards et al., 1981; Robinson & Berridge, 1993). La théorie du renforcement positif, également parfois désignée sous le terme de « dépendance psychologique primaire », contrairement à la théorie du renforcement négatif, renvoie directement aux propriétés renforçantes et hédoniques de la substance. La consommation d'alcool ne serait pas induite par les conséquences aversives du sevrage, mais serait ici recherchée de manière compulsive en raison du profond plaisir, les sensations de stimulation, de désinhibition ou ultérieurement d'anxiolyse, que la boisson produit. Le plaisir immédiat que procure la prise d'une substance est un des moteurs de l'instauration de l'addiction, mais il sera substitué ultérieurement par sa recherche (hyper)motivationnelle et compulsive qui maintiendra les processus neurocomportementaux de l'addiction.

La théorie du renforcement positif est notamment fondée sur les découvertes d'Olds et Milner en 1954. Ces deux chercheurs sont parvenus à associer des aires cérébrales à la sensation de plaisir au moyen d'électrodes intracérébrales

implantées chez des rats. La stimulation électrique dans certaines parties du cerveau, en particulier l'aire septale, produit des réponses associées au renforcement positif et à la sensation hédonique. Lorsque les électrodes sont placées à d'autres endroits, la stimulation semble être neutre, ou dans certains cas, aversive. Les termes de « centre cérébral du plaisir » et de « l'euphorie de l'addiction » voient ainsi le jour. D'autres auteurs postuleront plus tard que la plupart des drogues consommées par les humains agissent également comme renforcement positif chez les animaux. De nombreuses études ont en effet démontré que les animaux s'auto-administrent une grande majorité des substances addictogènes chez l'être humain, comme la nicotine, les opiacés, la cocaïne et notamment l'éthanol. Ainsi, la vision générale du renforcement positif de l'addiction postule que l'auto-administration de drogues est maintenue en raison de l'état hédonique et des affects positifs directement induits par la substance et non parce qu'elle amoindrit un état désagréable lié au sevrage (Robinson & Berridge, 1993; Stewart et al., 1984; Wise & Bozarth, 1987). Dans les modèles de l'auto-administration de substances, des rongeurs reçoivent un entraînement à l'auto-injection de drogues dans l'organisme entier ou dans des zones cérébrales spécifiques via un cathéter sanguin. Ainsi, lorsque l'auto-injection d'une substance potentialise le taux de réponse dites « positives » envers un comportement spécifique cible (par exemple la pression sur un levier), la réponse est d'ordre opérante et la substance est dite renforçante (Brust, 2007).

Toutefois, cette vision de l'addiction mène à des interprétations équivoques. Selon Robinson & Berridge (1993), si nous considérons la capacité des drogues à induire des effets renforçants et à produire des états affectifs positifs, dans le présent cas l'euphorie et le plaisir, et si cela suffit à produire des comportements toxicomanogènes, les sensations de plaisir subjectif induites par une substance addictogène doivent être d'une ampleur considérable pour que l'utilisateur maintienne sa consommation durablement. De fait, les effets hédoniques subjectifs induits par la consommation chronique d'une substance devraient être suffisamment puissants pour que le seul souvenir des expériences de

consommation évoque un comportement compulsif de recherche active et d'administration. Si les substances addictogènes peuvent effectivement produire des états affectifs extrêmement agréables, il reste néanmoins difficile d'adhérer pleinement à l'idée que cette phénoménologie suffise à elle seule à rendre complètement compte du phénomène d'addiction. Comme le fait rappeler Didone (2014), une circularité est observée entre la définition même de l'addiction et d'une substance. Selon cette idée de l'addiction, le pouvoir toxicomanogène d'une drogue serait ainsi défini par le simple fait que l'on observe son auto-administration répétée, reflétant ainsi son pouvoir renforçant. La capacité addictive d'une drogue se mesurerait donc via ses effets renforçateurs, par son auto-administration. Néanmoins, il n'existe pas de relation clairement établie entre la capacité d'une drogue à produire un état hédonique et son potentiel addictogène. En réalité, le postulat selon lequel une substance addictogène aurait comme pouvoir intrinsèque d'induire des effets euphorisants et hédoniques contient deux problèmes majeurs. Premièrement, de nombreuses drogues sont caractérisées comme toxicomanogènes alors qu'elles induisent des états dysphoriques. Par exemple, la nicotine est depuis longtemps considérée comme hautement addictogène, mais elle ne produit pas d'euphorie marquée ou d'autres états hédoniques puissants. À contrario, la psilocybine et le LSD sont souvent considérés comme des substances à moindre risque toxicomanogène alors qu'ils produisent des effets euphorisants puissants. Deuxièmement, les effets hédoniques d'une substance sont plus rarement observés dans les modèles animaux. Ces derniers sont de manière générale plutôt étudiés indirectement via les effets stimulants locomoteurs d'une substance, comme les amphétamines, la cocaïne ou l'éthanol, qui sont considérés par conséquent comme le renforcement positif (Wise & Bozarth, 1987). La théorie de la stimulation locomotrice, qui sera discutée de façon approfondie dans les sections suivantes, associe également l'addiction au phénomène de renforcement positif. Ces deux phénomènes agissent de manière homologue, se discriminant dans leurs manifestations et possédant des propriétés neurobiologiques et neuroanatomiques communes. Selon Wise et Bozarth (1987), les propriétés

stimulantes psychomotrices constituent une mesure indépendante de l'addiction, mais sont considérées comme un prédicteur ou une mesure fiable du potentiel addictogène d'une substance. Notons également que la théorie du renforcement positif ne parvient pas à mettre en lumière la raison qui pousse les consommateurs à maintenir leur consommation de substance à long terme malgré les conséquences négatives qui en résultent. L'ampleur des conséquences négatives de la consommation chronique de substances outrepassé souvent celle du plaisir que la substance procure. Le figement de la vision indépendante du pouvoir renforçateur des substances ne permet pas non plus d'expliquer la rechute et le phénomène de « *craving* », notamment induits par les stimuli environnementaux qui ont été associés à la consommation. Des auteurs ont soutenu l'idée selon laquelle les stimuli associés à l'usage d'une substance peuvent induire des effets subjectifs anticipatoires mimant les effets de sa consommation, motivant ainsi le consommateur à rechercher compulsivement à se procurer une dose (Stewart & Wise, 1992; Wise & Bozarth, 1987). En suivant ce postulat, un nouveau lien entre motivation et addiction se crée. Stewart et Wise (1992) ont notamment émis « *the proponent-theory of addiction* », drastiquement opposée à la « théorie de l'antagonisme motivationnelle », basée sur le modèle de renforcement négatif, émise auparavant (voir Solomon & Corbit, 1974). Ainsi, les effets anticipatoires de la consommation se caractériseraient par des processus similaires à ceux que procurent la prise d'une substance, augmentant ainsi l'appétence et le désir intense de la consommer, ceci définissant le phénomène de *craving*. La motivation restant inchangée, l'expérience de la recherche active de la drogue ou l'expérience subjective des stimuli associés avant et/ou pendant sa consommation, appelée le *priming*, provoquerait ici des effets centraux similaires à ceux de la drogue elle-même, motivant la prise de drogue chez les consommateurs et expliquant notamment la difficulté de préserver l'abstinence.

Observons également que la théorie du renforcement positif se heurte face à l'obstacle de la dissociation entre « aimer » et « vouloir » (cf. section 4.3.4). La discrimination de ces deux facteurs pourrait en partie expliquer la motivation

pathologique qui pousse au maintien de la consommation de substances malgré les méfaits qu'elles induisent. Le fossé entre « vouloir » et « aimer » ne peut pas être totalement comblé par l'explication du renforcement positif sans un modèle explicatif intégrant les propriétés de distorsion de la motivation, de compulsion et de conflit psychologique, pouvant perdurer bien des années après la consommation (Robinson & Berridge, 1993). En outre, la consommation chronique de substances ne peut pas non plus être expliquée par un paradigme *d'habitus*. Une habitude consiste en une routine, un comportement répété et automatisé, n'étant pas dirigé vers un objectif, étant difficile à abandonner au fur et à mesure que le comportement se répète chroniquement. L'addiction, quant à elle, consiste en un comportement conscient et fortement orienté vers un objectif, ici un comportement de recherche active de drogue (Alvernia University, 2019; Vandaele & Ahmed, 2021).

4.3. The incentive-sensitization theory of addiction (ISTA)

Les difficultés rencontrées dans les deux modèles du renforcement pour une explication convaincante du syndrome d'addiction ont par conséquent laissé cette question en suspens. À la fin du siècle dernier, nous assistions à une résurgence de la volonté des chercheurs à la compréhension du phénomène d'addiction. En 1993, les neuroscientifiques Terry Robinson et Kent Berridge proposent la théorie de la « sensibilisation motivationnelle » ou « sensibilisation incitatrice » de l'addiction via la publication de la revue « *The neural basis of drug craving: an incentive-sensitization theory of addiction* », laquelle contribuera activement à leur faire décrocher les prestigieux « *Distinguished Scientific Contribution Awards* » de l'APA en 2016 et le « *Grawemeyer Psychology Award* » en 2019, pour leur explication de la dissociation entre le désir (« *wanting* ») et le plaisir (« *liking* »). Le postulat synoptique de cette théorie réside dans la nature et dans l'origine des comportements toxicomanogènes. Le syndrome d'addiction serait en majeure partie causé par des changements neuroadaptatifs, progressifs et pérennes, en fonction de la chronicité de la consommation de substances. Cette théorie prendra

largement le pas sur la tolérance et le syndrome de sevrage, les reléguant ainsi à des épiphénomènes, et redirigera les attentions sur un des éléments clés du phénomène d'addiction, la sensibilisation.

4.3.1. Contexte général

La théorie de la « sensibilisation motivationnelle » de l'addiction (*ISTA*) fût largement considérée comme révolutionnaire. En ce sens, elle permet d'expliquer pourquoi le développement du syndrome d'addiction constitue un processus graduel et progressif. L'attribution d'un niveau élevé d'obsession motivée (« *incentive salience* ») envers les stimuli associés aux drogues et à leurs effets de plaisir subjectif augmente la probabilité que ces stimuli attirent l'attention et que les drogues soient ainsi très recherchées à l'avenir. Pareillement à la théorie de la tolérance, *l'ISTA* repose sur un modèle neuroadaptationniste, tout comme les postulats proposés par Wise et Bozarth (1987). Les changements neuronaux induits par la consommation chronique de substances se manifestent par des altérations neurochimiques dans certaines aires cérébrales, entraînant des modifications comportementales, traduisant ainsi le phénomène de sensibilisation. *L'ISTA* explique le syndrome d'addiction en trois caractéristiques principales interconnectées : la recherche obsessionnelle motivée de substance (« *wanting* »), accompagnée très souvent d'un désir irrésistible pour se la procurer (« *craving* »), la rechute chronique provoquée par le maintien de cette recherche obsessionnelle et l'apparition progressive de neuroadaptations et de tolérance aux effets hédoniques (« *liking* ») de la substance qui découleront de sa consommation répétée. Par cette perspective, les auteurs (Robinson & Berridge, 1993, 2001, 2008) redéfinissent la base phénoménologique de l'addiction comme étant liée directement aux altérations neuronales physiologiques provoquées par la consommation répétée des substances addictogènes. Ces changements neuroadaptatifs ciblent particulièrement la zone biologiquement dévolue aux comportements motivés : la zone mésolimbique et ses projections dopaminergiques vers les aires cérébrales associées. Ce système neuronal,

devenu hypersensible, dit sensibilisé, est susceptible d'être modifié ou « piraté » et de provoquer une forme de motivation pathologique à l'attribution d'une prééminence (« *incentive salience* ») aux stimuli incitateurs liés aux drogues via le « *learning* » (apprentissage). Une preuve flagrante de cette motivation obsessionnelle et pathologique à rechercher et à consommer une substance addictive réside dans l'observation suivante : à mesure que les drogues deviennent de plus en plus « recherchées », elles deviennent par la même occasion de moins en moins « délectées » (Berridge et al., 2009; Robinson & Berridge, 1993). Ceci nous amènera à considérer la dissociation entre les phénomènes de *wanting* et de *liking*, désirer et aimer (cf. section 4.3.4).

Les stimuli activateurs liés aux drogues peuvent être de différentes natures : images mentales (drogues, matériel), simulation mentale de comportements liés à la substance (consommation, recherche, procuration) ou encore stimuli sociaux (congénères, partenaires de consommation, distributeur) et contextuels (lieu de consommation habituel). La drogue et ses stimuli sont dès lors recherchés compulsivement du fait de leur puissante attraction subjectivement ressentie par le consommateur. La sensibilisation progressive de ce système neuronal, causée par la consommation chronique de la substance, résulte en une augmentation pathologique de la saillance que le toxicomane attribue aux stimuli liés à sa consommation. Cette *incentive salience* est due aux mécanismes d'apprentissage associatif (« *associative learning* ») qui, progressivement sensibilisés, redirigent le focus attentionnel de l'individu vers des stimuli-cibles associés à la drogue et à son utilisation. Ainsi, suite à la consommation chronique, le comportement de consommation et ses stimuli associés vont graduellement devenir de plus en plus attrayants et de plus en plus indispensables pour l'intégrité psychologique. Les stimuli liés aux drogues deviennent, au dépend de toute volonté, de plus en plus capables de « prendre le contrôle » des comportements et plus particulièrement de la motivation, générant ainsi un conflit motivationnel permanent. Chez un individu sain, ce système neuronal attribue de la saillance motivationnelle à des stimuli naturellement attractifs, tels que la nourriture. La sensibilisation résulterait

en une augmentation de la réactivité de certains neurones en réponse à des stimuli activateurs liés à la substance. Par conséquent, ces mêmes stimuli activateurs provoqueraient une potentialisation du taux de décharge et de la neurotransmission des neurones dopaminergiques vers d'autres aires cérébrales chez les consommateurs dits hypersensibles ou sensibilisés. Nous parlerons généralement d'une hypermotivation pathologique pour chercher à se procurer et à consommer la drogue.

4.3.2. Sensibilisation comportementale et sensibilisation motivationnelle

En psychopharmacologie, la sensibilisation ou tolérance inverse désigne l'augmentation progressive des effets neuronaux, somatiques ou comportementaux d'une substance consécutivement à son absorption régulièrement ou chroniquement répétée. Le phénomène de sensibilisation peut également être caractérisé par l'expression d'effets à une dose à laquelle ils ne sont généralement pas observés (Didone, 2008, 2019; Masur et al., 1986; Masur & Boerngen, 1980). Les psychostimulants, comme la cocaïne, les amphétamines, la nicotine, ou les dépresseurs, comme les opiacés et l'éthanol, sont susceptibles d'induire ce phénomène qui, de nos jours, est fréquemment étudié chez l'animal de laboratoire via la sensibilisation aux effets stimulants locomoteurs d'une drogue (sensibilisation comportementale) ou via les techniques de conditionnement opérant mesurant la recherche de renforcement, comme l'auto-administration de drogue ou la préférence de lieu conditionnée (sensibilisation motivationnelle). Deux phases sont généralement décrites : les effets « sensibilisés » sont décelables progressivement après chaque absorption (acquisition ou induction de l'effet) et lors d'une absorption finale succédant à une série d'absorptions (expression de l'effet). Une troisième phase, la réexpression ou le maintien, peut se profiler lors d'une réabsorption succédant à quelques jours, quelques semaines, voire quelques mois d'abstinence. Cette troisième phase pourra ainsi constituer la preuve de la conservation à moyen ou long terme du processus et permettre d'investiguer la rechute. L'acquisition, l'expression et le maintien de la

sensibilisation font intervenir des processus et des structures anatomiques distincts. Lorsqu'un animal est dit « sensibilisé », il restera généralement hypersensible pendant plusieurs semaines ou quelques mois aux effets comportementaux induits par une nouvelle exposition, dite d'amorçage (Genova et al., 1997). Tout comme la tolérance, le phénomène de sensibilisation dépend notamment de la dose administrée, de la voie d'administration (intraveineuse, intramusculaire, intrapéritonéale), de la nature d'administration (forcée ou auto-administration), de la durée et de la régularité des intervalles entre les administrations, et de la nature de l'effet (une sensibilisation peut se développer pour un effet et pas pour un autre chez un même individu). Au contraire de la tolérance et de la dépendance physique, qui peuvent expliquer le phénomène d'escalade de la consommation de substances dans le processus d'addiction, la sensibilisation est considérée comme étant la cause principale régissant le caractère chronique, durable et récidivant du syndrome, en induisant des modifications neurochimiques cérébrales durables (neuroadaptations). De nos jours, la sensibilisation est considérée comme un phénomène au cœur du processus d'addiction (Berke & Hyman, 2000; Nestler, 2002; Robinson & Berridge, 1993). De nombreuses études animales ont permis d'illustrer le phénomène de sensibilisation comportementale via la mesure de l'augmentation des comportements locomoteurs, le plus souvent chez le rongeur, notamment au moyen de psychostimulants après leurs administrations chroniques. En 1932, la toute première sensibilisation comportementale aux effets locomoteurs est observée fortuitement chez le rat après des administrations répétées de cocaïne (Downs & Eddy, 1932). Le terme de « sensibilisation » ne sera pas encore explicitement édicté, mais largement sous-entendu : « ...*rat does not acquire tolerance to cocaine but becomes increasingly sensitive to it as a result of the repeated administration of the drug* ». Le but de l'étude de Downs et Eddy était en fait d'investiguer la résistance physique et le développement de la tolérance après des injections répétées de cocaïne. Malgré cette observation ponctuelle de sensibilisation, les études de la tolérance perdureront pendant de nombreuses

années. La sensibilisation sera d'ailleurs considérée longtemps comme un sous-produit de la tolérance (Didone, 2014; Phillips, 1997). Nous assisterons à un regain d'intérêt pour l'étude du phénomène de sensibilisation comportementale dès les années 70. Ainsi, les recherches menées ont permis de rationaliser la modélisation de la sensibilisation chez le rongeur de laboratoire pour les psychostimulants classiques comme la cocaïne (Kalivas & Stewart, 1991; Post et al., 1981, 1981; Post & Rose, 1976; Shuster et al., 1977) et les amphétamines (Antelman et al., 1980; Robinson & Becker, 1986; Segal et al., 1981). Malgré la popularité des études sur la sensibilisation aux psychostimulants, de nombreux scientifiques remarqueront que ce phénomène n'est pas limité qu'à ces derniers. Un éventail d'autres substances toxicomanogènes, dont l'action agoniste sur le système dopaminergique est avérée, induisent également le processus, comme les substances opioïdes (Babbini & Davis, 1972; Shuster et al., 1975), la nicotine (Benwell & Balfour, 1992; Kita et al., 1992; Schoffelmeer et al., 2002), la MDMA (Spanos & Yamamoto, 1989) ou le THC (Cadoni et al., 2001). La sensibilisation comportementale à l'éthanol commencera progressivement à se généraliser dans la recherche en psychopharmacologie dès les années 80 (Boehm et al., 2008; Broadbent & Harless, 1999; Crabbe et al., 1982; Cunningham & Noble, 1992; Didone et al., 2008; Lessov & Phillips, 1998; Masur et al., 1986; Masur & Boerngen, 1980; Melgaard, 1983; Souza-Formigoni et al., 1999). Le phénomène de sensibilisation comportementale à l'éthanol sera plus explicitement détaillé dans le chapitre 3.

Dans les modèles animaux de la sensibilisation motivationnelle (« *incentive motivational effects of drugs* »), c'est le caractère renforçant ou incitateur de récompense d'une substance qui est davantage étudié. De manière générale, la grande majorité des études d'auto-administration de drogues a révélé que les animaux de laboratoire s'auto-administrent la plupart des substances d'abus utilisées chez l'être humain. Dans les modèles d'auto-administration, les animaux de laboratoire s'auto-injectent la substance étudiée directement dans l'organisme, souvent dans les zones cérébrales de la récompense. Comme nous l'avons vu

précédemment dans la théorie du renforcement positif, lorsque la substance auto-administrée induit une potentialisation des réponses cibles, la réponse est opérante et la substance est alors dite renforçante (Brust, 2007; Spealman & Goldberg, 1978). Une des études pionnières sur le sujet (Woolverton et al., 1984) a notamment démontré que des macaques rhésus s'auto-administraient une faible dose de méthamphétamine après avoir reçu une petite série d'injections non contingentes de cette même substance. Cette découverte suggère qu'une exposition préalable (prétraitement) aux amphétamines pourrait induire une sensibilisation à leurs effets incitateurs et motivationnels (Robinson & Berridge, 1993). D'autres études généraliseront la procédure chez les rongeurs de laboratoires (Piazza et al., 1989, 1990), également avec d'autres substances comme la cocaïne (Goeders, 1988; Horger et al., 1990; Woolverton, 1992) et la morphine (Hui et al., 1993; Lyness et al., 1989). Le phénomène de sensibilisation motivationnelle peut également être observé au moyen du test de préférence de lieu conditionnée (« *conditioned place preference* »). Ce paradigme constitue une autre méthode pour quantifier le caractère renforçant et incitateur d'une substance addictogène. Dans ce modèle, des injections de drogues ou de solution saline sont couplées à des contextes divers, très souvent à deux compartiments d'une cage. L'environnement dans lequel la substance a été administrée deviendra, par la suite d'une série d'expositions au libre choix de ces deux environnements, celui préféré par l'animal, traduisant ainsi l'activation des zones cérébrales de la récompense. Ce phénomène a été largement démontré pour les substances comme la cocaïne et les amphétamines, les cas de l'éthanol et des opiacés restant encore à ce jour controversés, notamment à cause des doses administrées qui peuvent également produire le phénomène inverse, une aversion de lieu conditionné (Bardo et al., 1995; Cunningham & Henderson, 2000; Gaiardi et al., 1991; Lett, 1989; Tzschentke, 1998).

Chez l'homme, les preuves de sensibilisation se montrent plus discrètes, ceci constitue d'ailleurs une des critiques de l'ISTA la plus fréquemment rapportée (Robinson & Berridge, 2008). Une explication du manque de preuves, qui se révèle

tout à fait logique, se trouve dans les raisons éthiques interdisant les expériences de sensibilisation chez l'homme de la même manière avec laquelle elles sont généralement menées chez l'animal. Néanmoins, depuis les deux dernières décennies, plusieurs études ont démontré que tant la sensibilisation comportementale que la sensibilisation dopaminergique existent chez l'être humain. Des études utilisant les techniques de neuroimagerie fonctionnelle ont notamment réussi à établir que l'administration orale de doses relativement faibles d'amphétamines peut provoquer une sensibilisation du système dopaminergique mésolimbique chez des individus dépourvus d'antécédents de consommation de drogues (Boileau et al., 2006; Leyton & Vezina, 2013). Chez les consommateurs réguliers de cocaïne « non addictes », la capacité de la cocaïne administrée par voie nasale à potentialiser les niveaux de dopamine dans le striatum ventral est positivement corrélée avec la quantité de cocaïne consommée au cours de la vie, suggérant ainsi que la consommation antérieure possède la capacité de sensibiliser les systèmes dopaminergiques (Cox et al., 2009). Il a également été confirmé par certains chercheurs que le cerveau des toxicomanes réagit de manière exacerbée à la simple vision d'indices contextuels liés à la consommation de substances (cf. points suivants), par exemple au moyen de la visualisation d'images ou de matériel liés à la substance (Betts et al., 2021; Boileau et al., 2003; Heck et al., 2024; Kreuzsch et al., 2015; Kühn & Gallinat, 2011; Leyton, 2007; Simon et al., 2020, 2022; Strakowski et al., 1996), engendrant une réponse dopaminergique puissante dans le système mésolimbique (Childress et al., 2008). À ce jour, ne subsistent que quelques études expérimentales ayant été menées sur la sensibilisation à l'alcool chez l'homme (Newlin & Thomson, 1991, 1999; Schuckit, 1991). Dans ces études, les chercheurs ont tenté d'induire une sensibilisation en laboratoire en proposant aux participants l'ingestion de trois faibles doses orales d'alcool de 0,5 g/kg sur une période de deux semaines. Les participants étaient scindés en deux groupes d'effectifs égaux selon le statut de l'histoire familiale. Les participants étaient caractérisés comme ayant des antécédents familiaux négatifs (FH-) lorsque leur père présentait des

consommations légères ou absentes, tandis que les antécédents familiaux positifs (FH+) caractérisaient une consommation problématique et/ou abusive. Sur 3 sessions de 45 minutes, les chercheurs ont mesuré une série de paramètres comme la fréquence cardiaque, l'amplitude du pouls au niveau des doigts, la température des doigts et des joues, la conductance cutanée, l'activité motrice générale et le balancement général du corps. Les résultats suggèrent que, par rapport aux participants FH-, les individus FH+ exhibaient des signes d'augmentation de l'amplitude du pouls et de la température des doigts au fil des sessions de tests. Ces études, sans aucun doute discutables étant donné le faible échantillon (18 participants), par ailleurs uniquement masculin, et l'unique dose d'alcool administrée, révèlent qu'il est possible d'élaborer un protocole de mesure de la sensibilisation à l'alcool en laboratoire chez des sujets humains. Il est évident que des investigations supplémentaires sont nécessaires pour valider un tel protocole. Cependant, cette maigre série d'études fournit des informations pertinentes sur la relation entre la sensibilité aux effets de l'alcool et le risque de développer une consommation problématique menant à l'addiction (Camarini & Pautassi, 2016; Schuckit, 1991).

4.3.3. Neurobiologie de l'addiction

Après les découvertes d'Olds et Milner en 1954, il a été démontré qu'au-delà de la simple stimulation électrique des zones cérébrales de la récompense, l'administration répétée de la grande majorité des substances addictogènes produit des neuroadaptations graduelles et progressives rendant ainsi les animaux hypersensibles à ces mêmes agents. Les études comportementales citées ci-dessus fournissent donc des preuves tangibles que les neuroadaptations liées à la sensibilisation impliquent une hypersensibilité dans les systèmes dopaminergiques mésolimbiques (Di Chiara & Imperato, 1988; Robinson & Berridge, 1993; Vanderschuren & Pierce, 2010; Wise, 1987). Comme nous l'avons vu précédemment, un élément ou événement renforçant potentialise la probabilité d'occurrence d'une réponse cible (par exemple : l'appui sur un levier dans une

cage opérante). Cet élément renforçant, dit récompense, est associé à la notion de plaisir (Koob, 1992). Le circuit de la récompense, dont nous détaillerons les zones principales ci-après, est considéré comme le substrat anatomique et physiologique non seulement des substances d'abus, mais également de tout ce qui s'apparente à la notion de récompense, motivation et renforcement naturels, engendrés, par exemple, lorsque l'on mange et boit, ainsi que pendant l'activité sexuelle, lorsque l'on achète un objet, ou lors d'une activité ludique (Hoebel, 1988; Robbins & Everitt, 1992; White, 2002; Wise & Rompre, 1989). Concernant les substances, une intervention directe sur le système de neurotransmission dopaminergique est nécessaire pour induire des comportements hypermotivés. Plusieurs preuves scientifiques appuient ce phénomène. Comme nous l'avons vu précédemment, de nombreux rongeurs de laboratoire s'auto-administrent des doses de drogues directement dans des zones cibles du système dopaminergique mésolimbique. De plus, des auteurs ont démontré que des micro-injections d'amphétamine ou même de dopamine directement dans le noyau accumbens potentialisent la réponse aux stimuli incitatifs conditionnés, c'est-à-dire des stimuli ayant acquis des propriétés incitatives renforçantes par association avec un stimulus naturel (Everitt & Robbins, 1992; Robbins & Everitt, 1992). À l'opposé, des études ont montré que les propriétés motivationnelles des renforcements naturels et des drogues d'abus peuvent être atténuées par la diminution forcée de la transmission dopaminergique, notamment via des substances antagonistes empêchant la libération de dopamine, ou la destruction complète des projections des neurones mésotélencéphaliques (Ettenberg, 1989; Spangler et al., 1996; Wise, 1982).

Le système de la récompense dopaminergique mésocorticolimbique (cf. Figures 5 et 6) impliqué dans le phénomène de sensibilisation se compose du faisceau dopaminergique ventral prenant racine dans l'aire tegmentale ventrale (ATV), traversant l'hypothalamus vers le noyau accumbens (Acc ou NAc), le cortex préfrontal (CPF) et le pallidum ventral (PV), ainsi que de la voie nigro-striée partant de la substance noire et projetant son faisceau de fibres vers le putamen et le

noyau caudé du striatum dorsal (Brust, 2007; Gardner, 2011; Wise & Bozarth, 1984).

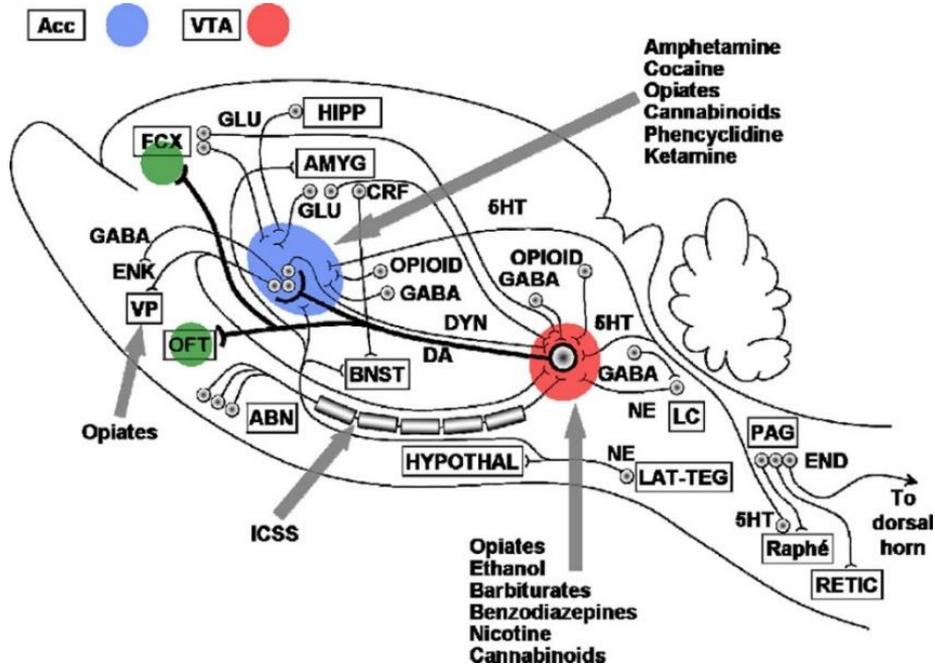


Figure 5.

Illustration des zones cérébrales et du circuit de la récompense chez le rat de laboratoire. *ABN*, noyaux du lit antérieur du faisceau médian du prosencéphale ; *VTA*, aire tegmentale ventrale ; *Acc*, noyau accumbens ; *FCX*, cortex frontal ; *VP*, pallidum ventrale ; *AMYG*, amygdale ; *LC*, locus coeruleus ; *Raphe*, noyau du Raphé ; *DA*, faisceau dopaminergique mésocorticolimbique ascendant qui semble être préférentiellement activé par les drogues d'abus ; *ICSS*, composant conducteur descendant, myélinisé et modérément rapide du circuit de récompense, activé préférentiellement par l'autostimulation intracrânienne électrique ; *DYN*, projections dynorphinergiques ; *ENK*, projections enképhalinergiques ; *GABA*, projections GABAergiques ; *GLU*, projections glutamatergiques ; *5HT*, projections sérotoninergiques ; *Opioid*, projections opioïdes endogènes ; *NE*, projections noradrénergiques (adapté de Gardner, 2011).

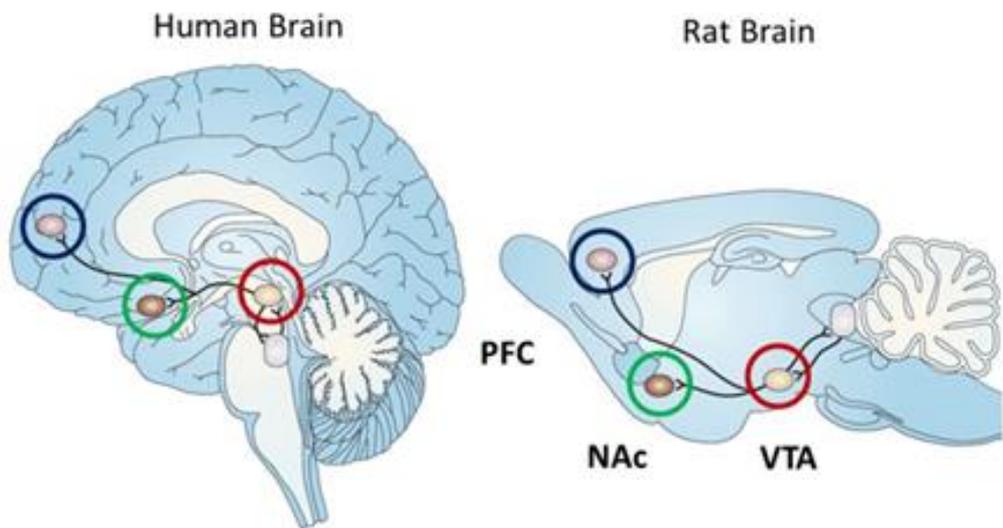


Figure 6.

Illustration simplifiée du circuit de la récompense chez l'homme (à gauche) et chez le rat (à droite). *VTA*, aire tegmentale ventrale ; *NAc*, noyau accumbens ; *PFC*, cortex préfrontal (adapté de York, 2024).

De nombreuses études, *in vitro* et *in vivo*, sont parvenues à prouver l'implication de ces zones cérébrales dans le processus de sensibilisation. La plupart de ces études se sont, à nouveau, intéressées aux substances psychostimulantes comme la cocaïne (Cornish & Kalivas, 2001; Fontana et al., 1993; Martin-Iverson & Burger, 1995) et les amphétamines (Kalivas, 1995; Richtand, 2006; Robinson & Becker, 1986). Un phénomène de sensibilisation à la libération et à la transmission de dopamine dans les zones cérébrales dévolues à la récompense est ainsi observé après des administrations chroniques de ces psychostimulants. Plus récemment, c'est le traitement chronique à l'éthanol qui a également été étudié dans les mêmes mécanismes de sensibilisation dopaminergique. Des études ont démontré que l'administration chronique d'éthanol accentue la libération de dopamine et que le taux de décharge des neurones persiste même en l'absence d'impulsions provenant des neurones environnants. D'un côté, l'éthanol agit par « piratage » des neurones dopaminergique de l'ATV, ceux-ci devenant donc hypersensibles, et de l'autre, cette hypersensibilité amène à une potentialisation des effets renforçants et motivationnels de l'alcool (Brodie et al., 1999; Brodie, 2002; Didone, Masson, et al., 2016; Nestby et al., 1997, 1999). Notons que les mécanismes d'action de l'alcool sur le système dopaminergique restent encore à ce jour mécompris. Sans nous étendre davantage dans les détails, certaines données scientifiques nous amènent à considérer que l'éthanol exerce une activité directe sur les neurones dopaminergiques de l'ATV via une potentialisation de leur taux de décharge et participe au blocage de la recapture de la dopamine via les autorécepteurs D₂. Cette potentialisation provoquerait une augmentation de la libération de dopamine dans le noyau accumbens (Brodie et al., 1999; Di Chiara & Imperato, 1988; Koob et al., 1998), le sevrage induisant, quant à lui, une diminution du taux de dopamine dans le milieu extracellulaire de cette même zone (Diana et al., 1993; McKeon et al., 2008). Cette amplification de la libération de dopamine se reflète ainsi dans le renforcement de la réponse locomotrice et des effets renforçants des substances, c'est-à-dire la sensibilisation comportementale et motivationnelle, cette dernière étant peut-être la pierre angulaire régissant la

prise compulsive de drogue chez l'être l'humain lors d'une rechute (cf. points suivants). *Bis repetita*, les mécanismes sous-tendant l'amplification de la libération de dopamine ne sont pas entièrement connus à ce jour et les études sur le sujet se révèlent être plutôt équivoques.

4.3.4. La dopamine dans le processus de désir et non de plaisir

Dans la théorie de l'*ISTA*, il est largement admis que les mécanismes cérébraux qui déterminent à quelle ampleur une récompense est « désirée » sont dissociables de ceux qui régissent l'ampleur à laquelle cette même récompense est « aimée » (Berridge & Robinson, 2016). Cependant, cette notion, introduite pour la première fois par Berridge en 1989 pour expliquer rétrospectivement certains résultats inattendus concernant le rôle du système dopaminergique mésolimbique dans le plaisir, a surpris bon nombre de scientifiques et a ainsi donné naissance à un paradoxe. En effet, dans les années 80, la plupart des chercheurs supportaient généralement l'idée selon laquelle la dopamine régit le plaisir induit par le renforcement, par exemple de nombreuses récompenses naturelles comme l'impact hédonique de la nourriture, du sucre ou de l'activité sexuelle, mais également l'impact hédonique des substances d'abus. Selon Wise, le système dopaminergique mésocorticolimbique est le médiateur du plaisir subjectif ressenti provoqué par les renforcements naturels ou par des renforcements artificiels, comme la stimulation électrique cérébrale, les antagonistes de la dopamine administrés supprimant ainsi la sensation de plaisir (Wise, 1982, 1985). L'étude de Berridge et al. (1989) était à la base destinée à fournir d'autres preuves tangibles concernant l'hypothèse du lien entre dopamine et plaisir. Finalement, les résultats obtenus se sont avérés bien différents : « ...*the results did not support either of these predictions: Taste reactivity was essentially unchanged. The persistence of normal taste reactivity argues against both an anhedonia and a global sensorimotor arousal interpretation and provides further evidence that the capacity for hedonics can be neurologically dissociated from motivated appetitive behavior. An incentive attribution hypothesis that can account*

for the results is discussed, along with its implications for a wide range of phenomena associated with dopamine depletion ». Ces théories se confortaient généralement dans le postulat que les propriétés motivationnelles des substances sont directement dues à leurs pouvoirs mentaux hédoniques. En effet, il est communément admis que les toxicomanes consomment une drogue parce qu'ils aiment cette drogue et au plus ils l'aiment, au plus ils la désireront ardemment. Dans cette perspective théorique, le désir et le plaisir seraient indissociables. Selon Robinson et Berridge, le système neuronal responsable du désir (« *wanting* ») est clairement dissociable de celui correspondant au plaisir (« *liking* »). De ce fait, la consommation chronique de drogues rendrait uniquement le système sous-tendant le *wanting* hypersensible. La consommation chronique de substances ne sensibiliserait pas le plaisir ressenti lors de la consommation ; bien au contraire, le consommateur pourrait même développer une tolérance aux effets hédoniques au fil des administrations (Volkow et al., 2001; Wachtel & de Wit, 1999). Ainsi, malgré la dissociation entre la tolérance et la sensibilisation, ces deux phénomènes peuvent dans certains cas coexister (voir Phillips, 1997; Phillips et al., 1996).

L'idée novatrice de la théorie de la dichotomisation entre le *wanting* et le *liking* réside dans leurs processus psychologiques et leur substrat neuronal qui seraient responsables du « désir » des motivations, ces derniers seraient complètement indépendants des processus responsables du « plaisir ». Fondée selon certaines études (Berridge et al., 1989; Berridge & Valenstein, 1991; Bindra, 1978), l'hypothèse postule qu'un processus psychologique impliquant spécifiquement l'attribution de la saillance motivationnelle à des stimuli incitatifs entraîne dans sa course l'expérience du *wanting*. Cette vision de la motivation propose ainsi que l'attribution de saillance constitue un processus psychologique spécifique qui est activé normalement conjointement avec le *liking* et l'apprentissage associatif dans la création de nouvelles motivations. L'attribution de la saillance attractive transforme les caractéristiques sensorielles du stimulus incitatif en une forme de percept particulièrement proéminent, qui « magnétise l'attention », devient

attrayant et hautement désiré, menant ainsi le comportement vers cette même motivation. Cette hypermotivation et les stimuli incitateurs connectés sont par ailleurs qualifiés comme de véritables « aimants motivationnels » (« *motivational magnet feature* ») (Berridge et al., 2009). Selon Robinson et Berridge, les processus d'attribution de saillance motivationnelle envers des stimuli renforçateurs peuvent être « piratés » ou « détournés » (« *hijacking* ») par l'action répétée des substances (Berridge & Robinson, 2016; Robinson & Berridge, 2000, 2008). Il se développerait ainsi une véritable prise de pouvoir par cette saillance motivationnelle, engendrant ainsi une motivation pathologique envers la recherche de drogues (« *compulsive drug-seeking* »). Ces dernières possèderaient donc la capacité de sensibiliser les processus dopaminergiques de *wanting* sans emprunter la voie du *liking*.

Une série de données scientifiques, chez l'homme et l'animal, viennent corroborer cette hypothèse. Des auteurs ont notamment établi au moyen d'un test de réactivité gustative que les réactions faciales traduisant le plaisir subjectif restaient présentes suivant l'ingestion d'un renforcement fortement positif (eau sucrée) chez des rats dépourvus artificiellement d'une partie des neurones dopaminergiques du striatum (Berridge, 1991; Berridge & Valenstein, 1991). Parallèlement à ces découvertes, d'autres études ont appuyé l'authenticité de ce phénomène. Par exemple, l'administration d'antagonistes à la dopamine ne diminuent pas le plaisir sensoriel du goût de la nourriture, mais diminuent sa valeur motivationnelle et renforçante. Inversement, des agonistes dopaminergiques ne potentialisent pas le plaisir sensoriel, mais bien les comportements motivés et la valeur renforçante de la nourriture (Treit & Berridge, 1990). Une lésion neurotoxique bilatérale à l'oxydopamine, désactivant ainsi l'expression de la dopamine dans le noyau accumbens et le noyau caudé, ne diminue pas les réactions hédoniques du plaisir, mais supprime totalement la motivation à manger et rend l'animal aboulique envers les renforcements naturels, les chercheurs étant dès lors dans l'obligation de les nourrir par gavage (Berridge et al., 1989, cités Robinson & Berridge, 1993). L'application du test de réactivité gustative mène à la conclusion que les systèmes

dopaminergiques ne régissent pas le plaisir gustatif, mais bien les propriétés motivationnelles renforçantes de la nourriture. En d'autres termes, ces études tirent la conclusion conjointe qu'il existe bel et bien une dichotomisation de ces deux systèmes neuronaux.

Cette dichotomisation a également été démontrée au moyen de techniques électrophysiologiques. Lorsqu'un animal est exposé pour la première fois à une situation nouvelle, les neurones dopaminergiques déchargent en réaction à de nouveaux stimuli inattendus et induisent des comportements d'approche et/ou d'exploration. Les neurones dopaminergiques réagissent également lorsqu'un animal rencontre un renforcement naturel. Cependant, lorsqu'un stimulus neutre, par exemple une lumière, est associé en présence d'un renforcement naturel comme la nourriture, les neurones dopaminergiques cessent rapidement de répondre à ce renforcement et commencent à décharger plus fortement en réponse à ce nouveau stimulus conditionné. Les neurones dopaminergiques ne déchargent pas lorsque l'animal mange réellement la nourriture, ce qu'ils devraient faire si la dopamine régissait le plaisir sensoriel associé aux récompenses (Schultz, 1992). De la même manière, les neurones dopaminergiques de l'ATV chez des rats entraînés à presser un levier afin d'obtenir une solution sucrée augmentent leur taux de décharge bien avant la disponibilité de la récompense. Dès l'obtention et la consommation de cette récompense, une cessation des décharges dopaminergiques est observée (Kosobud et al., 1992, cités par Robinson & Berridge, 1993). Cette observation est également apparente dans le noyau accumbens pour les drogues auto-administrées comme la cocaïne, la morphine et l'héroïne (Bartoletti et al., 1983; Kiyatkin et al., 1992). Il semblerait donc que les neurones dopaminergiques adaptent leur taux de décharge en fonction de l'attribution de la saillance motivationnelle ressentie, au fur et à mesure que cette valeur renforçante se modifie et qu'elle devienne omniprésente (Berridge & Valenstein, 1991; Schultz, 1992).

Chez l'être humain, cette dichotomisation est généralement observée dans l'éventail des évolutions du *wanting* par rapport au *liking* rapporté par les toxicomanes au cours du développement progressif des comportements addictogènes (cf. Figure 7). Le plaisir subjectif de la consommation induit par les substances n'augmente pas si la dose de cette substance est maintenue constante au cours des administrations répétées. De plus, il semblerait que même le plaisir ressenti lors des consommations diminue temporellement, tandis que la motivation à la consommation ne cesse de croître. Si l'activité synaptique du système dopaminergique devenu sensibilisé était le substrat neuronal régissant le *liking*, une dose administrée devrait ainsi produire de plus en plus d'effets hédoniques suivant sa consommation répétée et non de moins en moins (Berridge & Robinson, 2016; Robinson & Berridge, 1993). Comme déjà énoncé, il semblerait donc que la tolérance et la sensibilisation coexistent au sein de ce phénomène : une sensibilisation aux effets motivationnels de la consommation s'accompagnera très fréquemment d'une tolérance aux effets hédoniques au fil des administrations répétées de la substance (cf. Figure 8).

Plusieurs auteurs (Berridge et al., 2009; Berridge & Robinson, 2016; Kringelbach & Berridge, 2012) affirment que les phénomènes de *wanting* et de *liking* sont également clairement dissociables au point de vue anatomique et biologique (cf. Figure 9). En effet, le circuit cérébral du *wanting* commence au niveau du tronc cérébral dans l'ATV et atteint le cerveau antérieur, le NAc et l'AMYG. Ce circuit est aujourd'hui considéré comme pleinement axé sur le désir et la motivation. Concernant le circuit du *liking*, plusieurs centres hédoniques interagissent entre eux, comme l'amygdale, le pallidum ventral et le cortex orbitofrontal. Enfin, le cortex orbitofrontal, l'insula et le gyrus cingulaire intègrent et convertissent ensuite les informations reçues des deux circuits en une expérience de dégustation, de satisfaction et de sensation, caractérisant ainsi le plaisir subjectif ressenti et conscient. On estime aujourd'hui que la dopamine n'interviendrait pas dans la sensation de plaisir. Au sein d'un centre hédonique (« *hotspot* »), deux neurotransmetteurs principaux se coordonnent pour potentialiser les sensations

de plaisir : les enképhalines (opioïde endogène) et l'anandamide (cannabinoïde endogène).

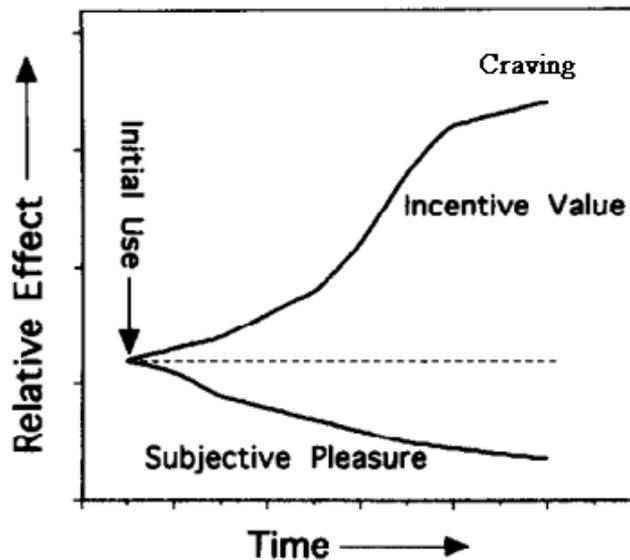


Figure 7.

Schématique de la relation hypothétique entre la sensibilisation de la valeur motivationnelle des drogues et leurs stimuli liés (« *wanting* ») et les effets hédoniques subjectifs de la drogue (« *liking* ») au cours du développement de l'addiction. Le développement de l'addiction se caractérise par une dissociation croissante entre les propriétés motivationnelles des drogues, qui augmentent progressivement, et les effets de plaisir ressenti des drogues, qui (peuvent) diminuer et mener au développement d'une tolérance (adapté de Robinson & Berridge, 1993).

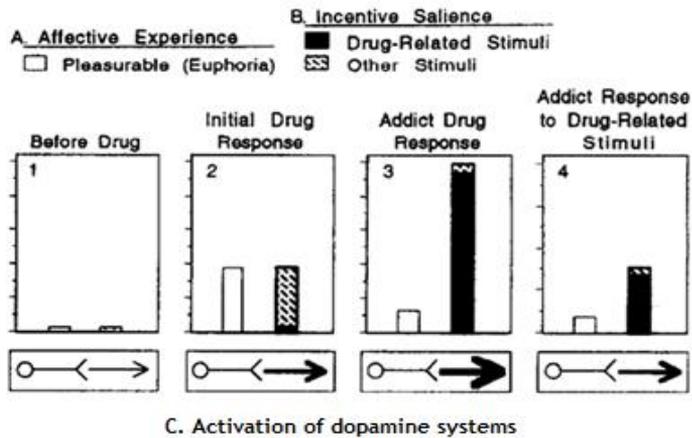


Figure 8.

L'addiction vue par l'ISTA. **A)** plaisir subjectif, **B)** saillance motivationnelle des stimuli, **C)** activité du système dopaminergique mésolimbique. Le **panneau 1** illustre l'expérience subjective (« *liking* ») et le degré de saillance motivationnelle (« *wanting* ») avant la consommation initiale d'une substance. Le **panneau 2** illustre l'expérience initiale (ou les premières expériences) de la consommation de substances, celle-ci résultant en un plaisir subjectif marqué et l'attribution d'une saillance à des stimuli environnants qui ne sont pas encore spécifiquement associés à la drogue. Notons qu'il est également possible que la drogue provoque une aversion (peur, anxiété, malaise) au détriment du plaisir (ex : drogues hallucinogènes, tabac ou opiacés). Cette première expérience est accompagnée d'une potentialisation de la neurotransmission de dopamine. Le **panneau 3** illustre la consommation chronique de substances. Après plusieurs utilisations, l'individu développe un état psychobiologique se marquant par une tolérance aux effets hédoniques de la drogue (« *liking* »), ainsi la même dose de drogue ne provoque plus les effets de plaisir initialement recherchés. La saillance attribuée aux stimuli liés à la drogue est drastiquement augmentée, due à la sensibilisation du système dopaminergique du *wanting*. Le **panneau 4** illustre le stade d'addiction, lors de l'abstinence. Les stimuli liés à la drogue et à sa consommation (congénères, lieux de consommation, indices environnementaux), ayant acquis une valeur hyper-motivationnelle au fil de leurs associations avec cette drogue, peut induire des effets de manque (sevrage), effets se marquant de manières opposées à ceux que produisent la drogue initialement. Dû à la présence des stimuli contextuels liés à la drogue, il est également possible que le toxicomane ressente des effets affectifs et somatiques similaires à la prise de drogue elle-même (« *conditioned high*⁴»), mais de moindre intensité. C'est de ce dernier phénomène que naît la susceptibilité d'une exacerbation du désir (« *craving* ») menant à une recherche compulsive hyper-motivée de la drogue et de sa consommation (adapté de Robinson & Berridge, 1993).

⁴ « *Conditioned high* » peut être traduit comme une « défonce » ou un « trip » conditionné »

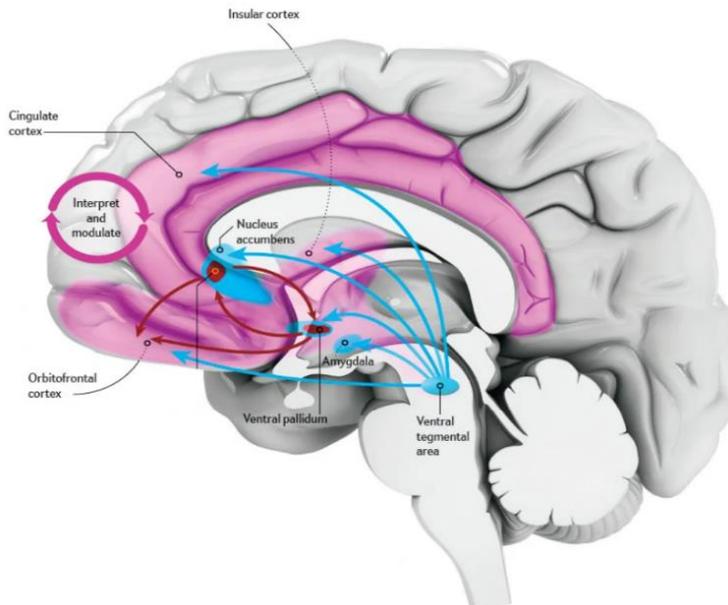


Figure 9.

Illustration des substrats neuronaux du *wanting* et du *liking* dans le cerveau humain. En bleu, le circuit neuronal du *wanting*. En rouge, le circuit neuronal du *liking*. En rose, les zones cérébrales du plaisir conscient ressenti (adapté de Kringelbach & Berridge, 2012).

4.3.5. Rôle du craving, du stress et des facteurs contextuels dans la rechute

Selon Leshner (1997), le syndrome d'addiction ne constitue en rien une maladie aiguë. Pour la quasi-totalité des toxicomanes, il s'agit d'une pathologie chronique et récidivante. Il est également assez rare que l'abstinence totale dans le parcours d'un toxicomane soit consécutive à un seul épisode de traitement. L'addiction forme en réalité un syndrome de rechute chronique (Alexander et al., 2003; O'Brien, 1994; O'Brien & McLellan, 1996; Robinson & Berridge, 1993; Vanderschuren & Pierce, 2010). Dans la deuxième section du présent chapitre, nous nous intéressons à la notion de maladie cérébrale et au regard que porte encore la société actuelle sur l'origine de l'addiction. Sans nous épancher davantage sur cette répétition, le syndrome d'addiction doit être considéré à l'instar d'autres maladies chroniques largement répandues. Cette considération possède d'énormes implications sur la façon dont la société juge l'efficacité et les résultats des traitements suivis (Leukefeld & Tims, 1989).

La rechute signifie la reprise durable de la consommation de substances après une période plus ou moins stable et plus ou moins longue d'abstinence pendant laquelle il n'y a pas nécessairement eu d'expression du syndrome de sevrage. Le consommateur récidivant alterne généralement entre des cycles de consommation chronique et des cycles d'abstinence totale, s'en suit ainsi la rechute. Dans certains cas, les symptômes d'abstinence devenus insupportables peuvent constituer une des causes principales de la rechute. Plusieurs précipitants de la rechute ont été étudiés : l'administration d'une dose faible de drogue (amorçage) restaure très facilement le comportement d'auto-administration de drogue chez le rongeur et chez l'homme, des agents stressants ponctuels physiques, par exemple des sons ou vibrations associés, ou encore des agents sociaux tels que des conduites agonistiques, une exposition à un prédateur naturel ou à son odeur chez l'animal, et la présence de partenaires de consommation chez l'homme. Des précipitants également très étudiés sont les stimuli contextuels physiques associés

à l'auto-administration de drogues, comme une lampe clignotante, des objets ou des environnements associés. Nous allons nous contenter ici de décrire le *craving*, le stress et les facteurs contextuels pouvant précipiter la rechute.

Le phénomène de *craving* caractérise l'expérience somato-psychologique subjective qui accompagne l'attribution d'un niveau excessif de saillance motivationnelle aux stimuli liés à la consommation ou la représentation mentale d'une substance. On considère que le *craving* intervient dans le stade ultime de recherche compulsive et hypermotivée de drogues, c'est-à-dire le dernier « stade motivationnel » du *wanting*, via la sensibilisation du système dopaminergique. Selon de nombreux témoignages de toxicomanes, le *craving* se définit comme un besoin impérieux, une envie irrésistible et compulsive de consommer et une perte de contrôle total. Ce besoin impérieux de drogues constitue une réponse dynamique émotionnelle et motivationnelle à un vaste éventail de signaux (Ekhtiari et al., 2016). Dans cette perspective, le *craving* n'est pas considéré comme un sous-produit ou une forme douce du sevrage, mais comme un mécanisme psychologique distinct du processus de sevrage conditionné (cf. page 51), du plaisir subjectif induit par la drogue ou d'un trip conditionné (McAuliffe, 1982, cité par Robinson & Berridge, 1993). Le phénomène de *craving*, de même que le stress et les facteurs environnementaux, peuvent mener le consommateur abstiné à une réexposition ponctuelle à la drogue, qualifiée comme dose d'amorçage ou « *priming* », pouvant ainsi à son tour induire la réexpression des comportements compulsifs de recherche de la substance durablement (Stewart et al., 1984; Stewart & Badiani, 1993; Vanderschuren & Pierce, 2010). Il a également été démontré que d'autres substances que celles ayant induit la sensibilisation pouvaient précipiter la rechute, étant donné qu'elles sensibilisent le même système dopaminergique (Camarini & Pautassi, 2016; Manley & Little, 1997). D'ailleurs, une grande majorité de toxicomanes consomment plus qu'une catégorie de drogues d'abus. Par exemple, chez l'animal, une dose d'amphétamine administrée peut amorcer l'auto-administration d'héroïne, une dose de morphine peut à son tour engager l'auto-administration de cocaïne (Stewart et al., 1984). Ce phénomène est

appelé sensibilisation croisée aux drogues ou cross-sensibilisation. Dans le cas de l'addiction alcoolique, l'un des principes ayant participé à la fondation de l'organisation des Alcooliques Anonymes (AA) est que les consommateurs, qui ont à un moment donné vécu un abus d'alcool, une dépendance physique ou une addiction sévère, sont en permanence incapables de boire avec modération. Citons ici l'adage populaire : « *un verre motive l'envie d'en boire un autre* ». Ainsi, chez les individus sensibilisés, la rechute constitue la règle plutôt que l'exception, en particulier après une dose d'amorçage, cette dernière agissant sur le système dopaminergique sensibilisé (Robinson & Berridge, 1993, 2008). « *Arrêter de fumer c'est facile, je l'ai fait au moins 100 fois* », cet aphorisme ironique permet déjà de rendre compte du caractère quasi inévitable de la rechute dans l'addiction.

La rechute peut également être provoquée par des changements affectifs induits par le stress (Koob & Volkow, 2016; Wojdala et al., 2020). Certains auteurs considèrent que le stress est censé créer une charge allostatique⁵ émotionnelle et un état allostatique général, conduisant à une dérégulation pathologique du système dopaminergique (Koob & Le Moal, 1997; Koob & Schulkin, 2019), dérégulation que les drogues produisent également. Effectivement, de nombreux chercheurs ont démontré que le stress et les substances peuvent sensibiliser ce même circuit de motivation chez l'homme et l'animal (Antelman et al., 1980; Bardo et al., 2013; Kalivas & Stewart, 1991; Keyes et al., 2012; Sinha, 2009). Autrement dit, l'exposition préalable à des situations stressantes répétées pourrait prédisposer les individus à de futurs comportements toxicomanogènes (Deroche et al., 1992; Gamallo et al., 1986; Koob et al., 2014), ceci constitue par ailleurs une des hypothèses principales de ce présent travail (cf. partie expérimentale). Par exemple, des animaux ayant été exposés à des administrations de drogues pourraient exhiber des réponses exacerbées envers des situations stressantes et inversement, des animaux exposés à des situations de stress auraient une plus

⁵ L'allostasie est un mécanisme de régulation et d'anticipation physiologique permettant d'atteindre la stabilité par des modifications, contrairement à l'homéostasie, caractérisée par un feedback négatif.

grande propension au développement de comportements toxicomanogènes, comme la sensibilisation locomotrice ou l'auto-administration de drogue (Garcia-Keller et al., 2013; Piazza et al., 1990). Cependant, aucune preuve concrète à l'heure actuelle ne permet d'affirmer que la relation entre stress et alcool soit symétrique. Selon l'ISTA, le stress peut également induire le *craving*. En potentialisant le système dopaminergique, le stress amplifierait ainsi la saillance motivationnelle que le consommateur attribue aux stimuli internes et externes (cross-sensibilisation stress et substance). De fait, la saillance motivationnelle amplifiée du consommateur établit un focus sur ces stimuli et leurs représentations mentales via les processus d'apprentissage associatif. En cas d'abstinence, et même longtemps après la disparition des symptômes de sevrage, les stimuli contextuels liés à la drogue demeurent de puissantes motivations conditionnées capables de prendre le contrôle attentionnel et de précipiter la rechute. Robinson et Berridge (1993), font remarquer que ce phénomène d'apprentissage associatif se produit de manière implicite et ne nécessite pas d'encodage conscient dans la mémoire.

La compréhension de la rechute chronique dans le syndrome d'addiction et la considération que ce dernier constitue une maladie cérébrale explique en partie pourquoi les anciennes stratégies politiques axées uniquement sur les aspects sociaux ou judiciaires de la consommation de substances n'ont pas fonctionné, voire ont échoué. En réalité, ceci constitue la partie émergée de l'iceberg. La structure considérable et complexe de la partie immergée, c'est-à-dire le cerveau, se trouverait au cœur du problème et ferait probablement partie intégrante de la solution (Leshner, 1997).

4.3.6. Résumé succinct de la théorie de l'ISTA

À travers la théorie de l'ISTA, Robinson et Berridge mettent en avant que la résolution du syndrome d'addiction ne se trouve pas dans la compréhension des mécanismes du « pourquoi consommer ? », mais plutôt dans ceux du « pourquoi vouloir consommer ? ». En réalité, même en l'absence de consommation, le désir obsessionnel de rechercher activement la substance, qui est intrinsèquement la caractéristique primaire du syndrome d'addiction, reste omniprésent, tandis que l'inverse est rarement, voire jamais, indubitable. Sans ce désir profond de consommer, l'individu ne va généralement pas s'y adonner. En conclusion, les auteurs (Robinson & Berridge, 1993, 2000, 2001, 2008) résument leur théorie en 4 points principaux :

- 1) Les drogues au potentiel addictogène partagent la capacité d'induire des modifications durables dans l'organisation du cerveau, c'est à dire des neuroadaptations. Ce phénomène est appelé sensibilisation.
- 2) Les systèmes neuronaux modifiés sont ceux qui, à l'origine, sont impliqués dans le processus de motivation et de renforcement.
- 3) Les neuroadaptations induites par la sensibilisation rendent le système de récompense dopaminergique hypersensible aux drogues et aux stimuli associés.
- 4) Les systèmes cérébraux sensibilisés n'interviennent pas dans les effets de plaisir (« *liking* »), mais dans une sous-composante de la motivation attribuant la saillance aux stimuli (« *wanting* »).

Chapitre 3

Sensibilisation comportementale à l'alcool

1. Cadre historique

La connaissance du potentiel stimulant induit par des doses faibles et modérées d'éthanol lors d'une administration aiguë est attestée depuis les années 70 (Frye & Breese, 1981; Koechling et al., 1990; Randall et al., 1975; Spivak et al., 1987), tandis que le phénomène de sensibilisation comportementale induit par les psychostimulants classiques (Antelman et al., 1980; Kalivas & Stewart, 1991; Post et al., 1981; Post & Rose, 1976; Segal, 1975; Segal et al., 1981; Shuster et al., 1977; Wallach & Gershon, 1971) et les opiacés (Babbini et al., 1975; Babbini & Davis, 1972) s'était déjà largement généralisé, et ce, depuis la première moitié du 20^{ème} siècle, grâce à la découverte fortuite de Downs et Eddy (1932). La généralisation du phénomène de sensibilisation comportementale à l'éthanol (souvent abrégé « *EBS* » pour « *ethanol-induced behavioral sensitization* ») germera dès les années 80 (Lesso & Phillips, 1998; Masur et al., 1986; Masur & Boerngen, 1980; Masur & dos Santos, 1988; Melgaard, 1983; Tabakoff & Kiianmaa, 1982). La sensibilisation comportementale à l'éthanol se caractérise ainsi par une hausse progressive des effets stimulants locomoteurs de l'éthanol résultant de son exposition répétée. Comme nous l'avons expliqué dans le chapitre précédent, le phénomène de sensibilisation serait l'élément clé expliquant la transition entre l'utilisation ponctuelle contrôlée d'une substance vers le syndrome d'addiction (Hunt & Lands, 1992; Robinson & Berridge, 1993). Dans les études murines, la sensibilisation locomotrice ou psychomotrice induite par l'alcool est considérée comme homologue à l'intensification du *craving* après des épisodes

répétés de consommation, ce paradigme est donc largement utilisé pour modéliser divers aspects de l'addiction. Masur et Boerngen seront les premiers scientifiques à observer le phénomène de sensibilisation aux effets stimulants de l'éthanol après son exposition prolongée. Malgré la connaissance du phénomène pour les substances stimulantes, les auteurs ne mentionneront pas le terme de « sensibilisation comportementale » mais une « absence de tolérance », c'est-à-dire un changement dans l'équilibre entre sédation et stimulation induit par l'alcool (Masur & Boerngen, 1980, cités par Didone, 2014).

Quelques mois après cette découverte, des chercheurs parviendront à observer que l'administration d'antagonistes des récepteurs dopaminergiques empêche l'expression d'une hyperréactivité locomotrice lors d'une administration aiguë d'éthanol (Liljequist et al., 1981). Melgaard (1983), proposera ensuite le lien entre la sensibilisation à l'éthanol et la sensibilisation du système dopaminergique, phénomène déjà connu depuis de nombreuses années pour d'autres substances toxicomanogènes, telles que les « drogues dures ». Malgré la généralisation du phénomène de sensibilisation pour l'éthanol, les études de sensibilisation comportementale ne susciteront un réel intérêt qu'à partir des années 90 (Broadbent & Harless, 1999; Brodie et al., 1999; Hunt & Lands, 1992; Phillips et al., 1997), notamment grâce à l'émergence de la théorie de l'*1/1STA* (Robinson & Berridge, 1993). Une des explications possibles de ce retard réside dans la nature intrinsèque de l'alcool. Comme nous l'avons fait remarquer dans le premier chapitre, l'alcool est considéré comme un dépresseur du système nerveux central. Bien qu'il possède des effets biphasiques, c'est-à-dire une alternance d'effets comportementaux en fonction de la dose administrée, il est parfois difficile d'en observer les effets stimulants chez le rongeur de laboratoire. Cet écueil est notamment causé par la multitude de souches génétiques disponibles. Par exemple, chez les souches standards de rat de laboratoire comme le Sprague-Dawley, l'éthanol n'induit généralement pas d'effets stimulants locomoteurs, mais induit bien des effets sédatifs à de fortes doses (Chuck et al., 2006; Masur et al., 1986). Chez la souris de souche C57BL/6J (black 6), il est très rare d'observer une

sensibilisation locomotrice à l'éthanol, par contre, il est plus fréquent d'observer des consommations volontaires orales d'éthanol, les souris de souche DBA/2J, quant à elles, exhibant le pattern comportemental quasiment opposé (Aragon & Amit, 2006; Belknap et al., 1993; De Waele et al., 1992; Lessov et al., 2001; Van Hees et al., 2022; Zapata et al., 2006). Contrairement à la cocaïne ou aux amphétamines possédant un pouvoir stimulant puissant, les études sur les effets chroniques de l'éthanol se baseront longtemps sur les effets de la tolérance et du sevrage physique étant donné les signes cliniques assez spectaculaires que ces derniers provoquent (Hall & Zador, 1997; Khantzian, 2013; Trevisan et al., 1998).

L'être humain et le rongeur partagent nombre de caractéristiques communes, singulièrement dans les processus neurobiologiques, neuroanatomiques et métaboliques (Douglas, 2010). L'utilité de la souris de laboratoire dans la grande majorité des études précliniques se justifie par plusieurs caractéristiques : sa grande fertilité, sa rapidité de gestation et de son élevage, ses coûts relativement faibles, sa simplicité de manipulation, sa facilité de soins et son hébergement peu contraignant et sa grande diversité génétique (consanguinité, mutation, hybridation). C'est pourquoi l'utilisation des modèles murins dans les études précliniques de sensibilisation comportementale s'est très largement répandue depuis de nombreuses années dans la recherche en neuroscience. Le protocole classique de sensibilisation locomotrice à l'éthanol chez la souris est mis en œuvre au moyen de l'administration chronique, continue ou intermittente, d'une dose constante faible ou modérée, généralement comprise entre 1,8 g/kg et 2,5 g/kg, permettant ainsi d'observer l'augmentation progressive de l'activité locomotrice au fil des sessions d'exposition à la substance. Le protocole expérimental classique de sensibilisation comporte généralement deux phases (Broadbent et al., 2005; Camarini & Pautassi, 2016; Didone et al., 2008, 2019) : l'acquisition ou induction et l'expression. Lors de la phase d'acquisition, les rongeurs sont divisés en deux groupes distincts, le groupe expérimental recevant des injections chroniques d'éthanol et le groupe contrôle recevant des injections chroniques de solution saline à volume identique, la plupart du temps tous les jours, traduisant ainsi

l'exposition continue, ou tous les deux jours pour une exposition intermittente. L'augmentation progressive de la courbe comportementale d'activité locomotrice entre le premier et le dernier jour de la phase d'induction constitue une mesure intra-sujet du développement de la sensibilisation. La phase d'induction constitue une séquence temporaire de modifications moléculaires et cellulaires se produisant dans l'ATV qui induisent des modifications à long terme du fonctionnement neuronal. Lors de la phase d'expression, intervenant le lendemain, deux jours ou quelques jours après la dernière session d'acquisition, les deux groupes de rongeurs, ayant été exposés différemment aux traitements, reçoivent une dose d'éthanol similaire, généralement celle qui a engendré la sensibilisation dans le groupe expérimental. Au terme du test d'expression, la différence d'activité locomotrice entre les deux groupes de traitement renseignera sur l'efficacité de la sensibilisation. Les souris ayant été exposées répétitivement à la solution saline reçoivent ainsi leur première injection d'éthanol et exhiberont généralement des niveaux locomoteurs atteints beaucoup moins importants que les souris ayant été exposées (sensibilisées) à l'éthanol. L'expression de la sensibilisation est régie par des changements neuronaux durables qui surviennent à la suite de l'induction, ces derniers provoquant ainsi la réponse comportementale sensibilisée. Comme nous l'avons distingué précédemment, une phase supplémentaire, celle de la réexpression ou du maintien, peut intervenir quelques jours, semaines ou mois après la fin des expositions, faisant ainsi entrer dans le protocole une période d'abstinence dans laquelle il sera possible d'observer des symptômes de sevrage. Cette dernière phase permet d'étudier la rechute et la conservation temporelle du processus addictogène. Tous ces paramètres dépendent évidemment de nombreux facteurs qui seront plus largement détaillés ultérieurement (cf. section 3)

2. Neurobiologie de la sensibilisation à l'éthanol

Dans le deuxième chapitre, nous avons souligné à plusieurs reprises que la majorité des substances toxicomanogènes possèdent le pouvoir d'induire des modifications chimiques et comportementales suivant leur utilisation répétée. Les découvertes en neurosciences des 50 dernières années ont mené la communauté scientifique à considérer que la consommation chronique de pratiquement toutes les substances pouvant déclencher le syndrome d'addiction, comme les psychostimulants classiques, la nicotine, les opiacés, le cannabis et l'alcool, engendrent une augmentation durable des fonctions de la dopamine (DA) dans le circuit de la récompense mésolimbique (Di Chiara & Imperato, 1988). Plusieurs études ont particulièrement ciblé le noyau accumbens comme le principal substrat neuronal responsable de la sensibilisation dopaminergique (Franklin et al., 2009; Kalivas & Duffy, 1987; Vezina & Stewart, 1990). La conséquence principale de cette sensibilisation serait l'établissement de neuroadaptations durables se développant au fil des expositions répétées aux substances (Koob & Volkow, 2016; Robinson & Berridge, 1993; Wise & Koob, 2014). Un vaste ensemble de modifications neurochimiques accompagne le phénomène de sensibilisation. L'énorme complexité du présent sujet pourrait, à lui seul, faire l'objet d'une thèse de doctorat. Ainsi, nous allons ici nous contenter de décrire succinctement le rôle des différents neurotransmetteurs et autres substances dans l'acquisition et l'expression de la sensibilisation à l'éthanol, ainsi que leurs interactions avec le système dopaminergique mésolimbique.

2.1. Dopamine

Nous savons aujourd'hui que l'exposition aiguë ou chronique à l'alcool influence la neurotransmission dopaminergique et que des manipulations sur ce même système peuvent également influencer la consommation d'alcool et la sensibilisation comportementale. Des études ont notamment démontré que, similairement à d'autres substances, des altérations artificielles de l'activité dopaminergique chez le rongeur provoquent des perturbations dans le

développement et l'expression de la sensibilisation à l'alcool (Abrahamo et al., 2011, 2017; Broadbent et al., 2005; Quadros, Hipólido, et al., 2002). Des administrations aiguës d'éthanol potentialisent le taux de décharge des neurones dopaminergiques de l'ATV (Brodie et al., 1990, 1999) menant par conséquent à une augmentation de la libération de dopamine dans le noyau accumbens (Di Chiara & Imperato, 1988; Franklin et al., 2009). L'établissement d'une sensibilisation comportementale à l'éthanol via des expositions intermittentes provoque une augmentation du taux de décharge des neurones DA dans l'ATV chez des souris sensibilisées. Dans une étude menée dans nos laboratoires, l'activité basale des neurones DA manifestait une augmentation de 45% par rapport à des souris contrôles (Didone, Masson, et al., 2016). Par ailleurs, l'exposition répétée à l'éthanol produit des neuroadaptations dans les neurones dopaminergiques se projetant vers le noyau accumbens, entraînant une augmentation persistante de la sensibilité à long terme de ces neurones aux effets stimulants de l'éthanol, ainsi qu'une libération amplifiée de dopamine dans le NAc (Ding et al., 2009, 2011).

Si nous nous focalisons sur les études portant sur les récepteurs dopaminergiques⁶, certaines d'entre elles ont également démontré des résultats très intéressants (Camarini & Pautassi, 2016). Selon Camarini et al. (2011), il semblerait que la famille des récepteurs D1 soit la composante dopaminergique la plus impliquée dans le phénomène de sensibilisation à l'éthanol. Par exemple, chez la souris de souche Swiss, l'administration d'antagonistes aux récepteurs D1 mène à une absence d'acquisition et d'expression de la sensibilisation (Abrahamo et al., 2011; Camarini et al., 2011), ce même résultat peut également être obtenu chez des souris génétiquement modifiées les rendant dépourvues de récepteurs D1 dans le noyau accumbens (Bahi & Dreyer, 2012). Inversement, une autre étude a démontré que l'administration d'agonistes dopaminergiques peut potentialiser le

⁶ Les récepteurs DA sont subdivisés en deux familles : la famille des récepteurs D₁ (D₁ et D₅ couplés à des protéines G) et la famille des récepteurs D₂ (D₂, D₃ et D₄ couplés à des protéines G inhibitrice).

développement de la sensibilisation locomotrice chez des souris de souche Swiss (Abrahamo et al., 2014). Le rôle de la famille des récepteurs D2 est plus controversé, la littérature scientifique diverge d'ailleurs à ce sujet. Sans nous étendre davantage sur le sujet, certains chercheurs ont démontré l'association entre l'exposition chronique à l'alcool et l'altération des fonctions des récepteurs D2. Chez l'homme, l'administration d'agonistes des récepteurs D2 mène à une activité dopaminergique réduite chez divers patients alcooliques. Cette observation a aussi été appuyée par des études en imagerie cérébrale (Henderson-Redmond et al., 2016; Urban et al., 2010). Chez des patients alcooliques, des interventions thérapeutiques par administrations d'agonistes des récepteurs D2 montrent également une réduction de la consommation d'alcool subséquente (Noble, 1996; Volkow et al., 1996). Chez le rongeur, des administrations d'antagonistes aux récepteurs D2, comme le sulpiride, dans le noyau accumbens potentialise la consommation volontaire orale d'alcool chez des rats sélectionnés génétiquement pour leur attrait à le consommer (Levy et al., 1991). Il semblerait donc que les deux familles de récepteur mentionnées ci-avant soient opposées, tant dans leurs mécanismes d'action avec les molécules d'éthanol que dans les aires cérébrales concernées. Une des stratégies largement utilisée pour discriminer le rôle de ces deux récepteurs dans la sensibilisation à l'alcool consiste à administrer conjointement la substance et des antagonistes D1 ou D2 au cours du développement progressif de la sensibilisation. Une autre stratégie largement utilisée consiste à administrer l'antagoniste uniquement pendant l'expression de la sensibilisation (Camarini & Pautassi, 2016). Généralement, des expositions répétées à l'éthanol menant à une sensibilisation sont corrélées négativement avec le binding des récepteurs D2 dans certaines zones du circuit de la récompense (Camarini et al., 2011). Au moyen de la technique de co-administration d'antagonistes et d'éthanol, certains auteurs ont confirmé que l'administration d'antagonistes mixtes, c'est-à-dire à la fois des récepteurs D1 et D2, comme l'halopéridol pourvu d'une préférence aux récepteurs D2, n'empêche pas le développement de la sensibilisation (Broadbent et al., 1995). Par contre,

une administration aiguë de sulpiride directement dans le noyau accumbens bloque l'expression de la sensibilisation, mais n'empêche pas son acquisition (Abrahamo et al., 2012; Camarini et al., 2011). Il semblerait en conséquence que l'unité dopaminergique D₂ tienne un rôle prépondérant dans l'expression de la sensibilisation à l'éthanol, mais en moindre mesure dans son acquisition. Concernant les récepteurs D₃, des auteurs ont montré que l'administration répétée d'U99194A, un antagoniste du récepteur D₃, bloque le développement, mais pas l'expression de la sensibilisation, contrairement au PD128907, un autre agoniste de ce même récepteur, qui atténue uniquement l'expression de la sensibilisation sans influencer son acquisition. Cette étude a en outre souligné le rôle des récepteurs D₃ dans le processus de sensibilisation en démontrant que des souris génétiquement déficientes en D₃ étaient résistantes au développement de certains processus addictogènes (Harrison & Nobrega, 2009).

2.2. Glutamate et GABA

La neurotransmission du glutamate constituerait également un élément capital dans le phénomène de sensibilisation à l'alcool (Carrara-Nascimento et al., 2011; Phillips & Shen, 1996). Des études menées au moyen de psychostimulants classiques soutiennent également l'hypothèse d'un rôle modulateur du cortex préfrontal (CPF) dans la sensibilisation à ces substances. Le rôle du CPF dans la sensibilisation à l'éthanol reste encore à ce jour relativement mécompris. Cependant, nous savons que le CPF constitue une région terminale du système dopaminergique mésocorticolimbique. Cette zone comprend notamment des neurones glutamatergiques pyramidaux modulés par des interneurons GABAergiques (Camarini & Pautassi, 2016). Des lésions des neurones glutamatergiques au moyen d'acide iboténique au sein du CPF empêchent le développement de la sensibilisation aux amphétamines (Wolf et al., 1995), alors que des lésions provoquées dans des neurones dopaminergiques du CPF au moyen de 6-OHDA entraînent, quant à elles, une potentialisation de la sensibilisation (Banks & Gratton, 1995). En outre, le CPF projette des faisceaux

glutamatergiques vers l'ATV et le NAc (Kalivas, 1995). Étant donné que le CPF module les neurones dopaminergiques et la libération de dopamine dans le NAc, les altérations de la transmission glutamatergiques peuvent ainsi contribuer au développement et à l'expression de la sensibilisation. Cette interaction entre la dopamine et le glutamate s'explique par l'activation des récepteurs N-méthyl-D-aspartate (NMDA) du glutamate sur les neurones dopaminergiques de l'ATV régissant l'induction de la sensibilisation, tandis qu'une interaction entre la dopamine et les récepteurs non-NMDA du glutamate dans le NAc serait primordiale pour l'expression de la sensibilisation. À nouveau, des études menées au moyen d'antagonistes au glutamate confirment le rôle du système glutamatergique dans la sensibilisation à l'éthanol. Par exemple, l'administration d'antagonistes des récepteurs NMDA du glutamate, comme l'ifénprodil, bloque l'expression des effets stimulants, tout comme le MK-801 qui empêche en plus l'expression de la sensibilisation comportementale (Broadbent et al., 2003; Meyer & Phillips, 2007). Des chercheurs ont encore prouvé qu'il existait une relation inverse entre le développement de la sensibilisation à l'éthanol et la concentration extracellulaire de glutamate dans le NAc chez la souris de souche Swiss (Carrara-Nascimento et al., 2011), et que cette relation dépendrait de la souche utilisée (Kapasova & Szumlinski, 2008).

Au-delà de son rôle important dans l'expression des effets aigus de l'éthanol, le système GABAergique joue également un rôle non négligeable dans l'expression des effets renforçants et stimulants chroniques (Brandão et al., 2020; Broadbent & Harless, 1999; Camarini & Pautassi, 2016; Linsenbardt & Boehm II, 2010; Phillips & Shen, 1996). Par exemple, il a été démontré que des agonistes des récepteurs GABA_A et GABA_B bloquent l'expression des effets stimulants de l'éthanol (Cott et al., 1976) et empêchent l'acquisition et la motivation de la consommation orale volontaire d'éthanol (Colombo et al., 2003). Les récepteurs GABA_A sont largement distribués dans les régions cérébrales du système mésolimbique. Selon une étude de Linsenbardt et Boehm (2010), il se produirait des changements neuroadaptatifs dans la composition des sous-unités des récepteurs GABA_A pouvant être

responsables de l'expression de la sensibilisation à l'éthanol, dans laquelle une exposition répétée potentialiserait l'expression des gènes de certaines sous-unités des récepteurs au sein du NAc. Outre l'implication des récepteurs GABA_A, il semblerait aussi que les récepteurs GABA_B soient efficaces dans cette sensibilisation. L'administration conjointe d'éthanol et de baclofène (agoniste GABA_B) empêche l'acquisition de la sensibilisation à l'alcool, tandis que l'agoniste GABA_A, le THIP, ne parvient pas à inhiber ce phénomène (Broadbent & Harless, 1999). Parallèlement, l'administration de GS39783, un facilitateur de l'activité de liaison des récepteurs GABA_B, n'influence pas de manière significative l'expression de la sensibilisation à l'alcool, mais facilite son acquisition (Kruse et al., 2012), le binding du GS39783 aux récepteurs GABA_B pouvant ainsi stimuler ou inhiber la libération de dopamine dans l'ATV. La littérature traitant du rôle du système GABAergique dans la sensibilisation à l'éthanol s'est limitée jusqu'à présent à une poignée d'études. En résumé, ces recherches mettent en évidence un rôle prépondérant des récepteurs GABA_B sur le système dopaminergique mésolimbique et sur l'acquisition des comportements sensibilisés, les récepteurs GABA_A, quant à eux, interviendraient plutôt dans leur expression (Camarini & Pautassi, 2016).

2.3. Opioïdes endogènes

Selon certains auteurs (Camarini et al., 2000; Gianoulakis, 2004; Pastor & Aragon, 2006), le système des opioïdes endogènes altérerait le processus de sensibilisation en jouant un rôle clé dans les effets renforçants de l'alcool. L'éthanol activerait les neurones dopaminergiques via l'interaction d'opioïdes endogènes au sein de l'ATV (Abraham et al., 2008; Gonzales & Weiss, 1998; Mansour et al., 1988). La consommation d'éthanol peut également induire la libération d'opioïdes endogènes, principalement les peptides β -endorphine et l'enképhaline, dans le système de récompense (Gianoulakis, 2004; Olive et al., 2001). La libération de β -endorphine provoquée par l'éthanol pourrait inhiber le feedback négatif des interneurons GABAergiques sur les neurones dopaminergiques au sein de l'ATV,

potentialisant ainsi la libération de dopamine dans le NAc (De Waele et al., 1992; Gianoulakis, 1990). L'administration d'antagonistes aux récepteurs opioïdes, comme le naltrexone et le nalméfène, bloquent également la libération de dopamine induite par l'éthanol dans le noyau accumbens, chez le rongeur (Benjamin et al., 1993; Kawakami et al., 2016; Pastor & Aragon, 2006) et chez l'homme (Mason et al., 1999; Volpicelli et al., 1992), ces substances sont d'ailleurs généralement utilisées comme agent pharmacothérapeutique servant à prévenir la rechute chez les patients alcooliques. De plus, d'autres chercheurs ont démontré que des souris génétiquement dépourvues de récepteurs μ -opioïdes présentent une réduction de la stimulation locomotrice induite par l'administration aiguë d'éthanol, ainsi qu'une réduction de sa consommation orale volontaire (Hall et al., 2001). L'administration d'antagonistes à certains des récepteurs opioïdes bloque également l'expression de la stimulation locomotrice aiguë à l'éthanol chez la souris de souche Swiss (Camarini et al., 2000; Sanchis-Segura et al., 2004), ainsi que sa sensibilisation (Camarini et al., 2000; Pastor & Aragon, 2006).

2.4. Cannabinoïdes endogènes

Quelques données scientifiques ont permis de mettre en évidence le rôle des endocannabinoïdes dans la modulation de la motivation, dans les comportements de recherche de la substance et dans l'expression des effets locomoteurs aigus de l'éthanol, indépendamment de la dopamine (Kunos, 2020; Maldonado et al., 2006; Pina & Cunningham, 2014). Le système des endocannabinoïdes participerait en ce sens aux mécanismes régissant la sensibilisation à l'alcool. Une étude (Coelhoso et al., 2013) a notamment démontré différents modèles d'expression des récepteurs cannabinoïdes après une exposition chronique à l'éthanol chez des souris de souche Swiss, entre autres une augmentation de l'expression des récepteurs CB1 dans plusieurs parties du système mésolimbique (CPF, striatum, hippocampe, ATV et noyau central de l'amygdale). L'implication des récepteurs CB1 dans la sensibilisation à l'éthanol a également été relevée par d'autres auteurs, observant une inhibition du développement de la sensibilisation

après l'administration de rimonabant, un antagoniste des récepteurs cannabinoïdes CB1 (Marinho et al., 2015). Par ailleurs, une perturbation des récepteurs CB1 chez des souris *knockout* de type CD1 induit une diminution de la consommation et de la préférence pour l'éthanol (Naassila et al., 2004) et une altération dans les neuroadaptations des récepteurs NMDA et GABA_A après une exposition chronique à l'éthanol (Warnault et al., 2007). Cette diminution de l'auto-administration orale d'éthanol est également associée à une sensibilité accrue aux effets stimulants aigus de l'éthanol (Naassila et al., 2004).

2.5. Sérotonine

On ne dénombre pas moins de 14 sous-types de récepteurs sérotoninergiques (5-HT), la grande majorité étant couplés à des protéines G. Lorsque l'alcool est administré sous forme aiguë, il potentialise la plupart du temps la fonction du récepteur 5-HT₃. L'administration d'antagonistes des récepteurs 5-HT₃ mène d'ailleurs à une diminution de la consommation orale d'alcool chez le rongeur (Ferraz & Boerngen-Lacerda, 2008; LeMarquand et al., 1994) et chez l'homme, en altérant la perception subjective de l'intoxication (LeMarquand et al., 1994; Sellers et al., 1994). L'implication de la sérotonine dans la sensibilisation à l'éthanol a également été prouvée grâce à d'autres études chez le rongeur. Par exemple, l'administration conjointe d'un antagoniste du système 5-HT_{2C} (la miansérine) et d'éthanol bloque le développement de la sensibilisation (Ferraz & Boerngen-Lacerda, 2008), tandis que l'administration d'un antagoniste 5-HT₃ (l'odénstéron) bloque à la fois l'induction et l'expression de la sensibilisation à l'éthanol (Umathe et al., 2009). Parallèlement, l'administration d'un inhibiteur sélectif de la recapture de la sérotonine (ISRS), comme la fluoxétine (plus largement connue sous sa dénomination thérapeutique de Prozac ou Sarafem), génère ainsi une augmentation de la concentration extracellulaire de sérotonine durant l'acquisition de la sensibilisation et potentialiserait son expression (Goeldner et al., 2005). Globalement, on considère que l'implication de la sérotonine dans le processus de sensibilisation comportementale à l'alcool est générée par son influence directe

sur le système dopaminergique au sein de l'ATV et du NAc (Berg et al., 2008; Ding et al., 2011; Goeldner et al., 2005).

2.6. Hormones de stress et œstrogènes

Selon de nombreux chercheurs, il semblerait que la sensibilisation à l'alcool soit également modulée par les hormones stéroïdiennes (Camarini & Pautassi, 2016; Pastor et al., 2008; Roberts et al., 1995) libérées par l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (*HPA*). Les situations de stress chronique modifient l'activité de l'axe *HPA* via la synthèse et la libération de corticolibérine (*CRH*) dans l'hypothalamus, puis d'hormone adrénocorticotrope (*ACTH*) au niveau de l'hypophyse, pour stimuler ensuite la production de glucocorticoïdes, comme le cortisol chez l'humain et la corticostérone chez le rongeur, au niveau des glandes surrénales (Bale & Vale, 2004; Rivier & Lee, 1996; Stephens & Wand, 2012). Étant donné que les substances addictogènes et les hormones de stress sensibilisent toutes deux les mêmes zones mésolimbiques, des situations de stress chronique sont susceptibles d'induire une cross-sensibilisation avec plusieurs substances, comme les amphétamines (Knych & Eisenberg, 1979), la cocaïne (Sarnyai et al., 1992) et l'alcool (Quadir et al., 2016; Roberts et al., 1995). Des chercheurs ont démontré qu'un prétraitement au moyen d'un antagoniste sélectif des récepteurs aux *CRH* peut entraver le développement et/ou l'expression de la sensibilisation locomotrice à l'alcool chez certaines souches de souris comme la DBA/2J (Fee et al., 2007; Pastor et al., 2008). Pastor et collaborateurs (2008) vont plus loin en démontrant notamment une dissociation dans les récepteurs de la corticolibérine. Ainsi, des souris génétiquement déficientes en *CRH₁* manifestent une diminution de la sensibilisation à l'alcool tandis que des souris déficientes en *CRH₂* ne montrent aucune différence par rapport à des souris *wild-type*. De même, l'acquisition de la sensibilisation à l'éthanol semble être modulée par les récepteurs aux glucocorticoïdes (GR). L'administration chronique d'un antagoniste des récepteurs GR, comme le RU38486, atténue le développement de la sensibilisation locomotrice à l'éthanol (Roberts et al., 1995). Enfin, il semblerait

aussi que l'axe *HPA* exerce une influence sur le système dopaminergique du circuit de la récompense. La consommation chronique d'alcool mènerait à des perturbations des fonctions du *CRH*, notamment via une augmentation de l'activité des récepteurs *CRH₁* et une libération accrue de *CRH* dans l'hypothalamus (Koob, 2010). Une activation des récepteurs GR conduirait également à une libération de glucocorticoïdes qui, à son tour, potentialiserait les mécanismes d'action de l'éthanol sur les neurones dopaminergiques facilitant le développement de la sensibilisation (Pastor et al., 2012; Phillips et al., 1997; Piazza et al., 1990).

Par ailleurs, il est largement admis que les femelles rongeurs sont plus vulnérables au développement de la sensibilisation à l'éthanol (Camarini & Pautassi, 2016; Didone et al., 2008; Masur & Boerngen, 1980; Phillips et al., 1997). Bien qu'il existe certaines différences entre les catégories spécifiques des substances les plus utilisées, le schéma général des différences entre les sexes est relativement identique pour toutes les drogues d'abus. Les femmes commencent à s'administrer régulièrement des drogues à des doses plus faibles que les hommes, la consommation dégénère plus rapidement vers l'addiction (Brady & Randall, 1999; Erol & Karpyak, 2015; Greenfield et al., 2010; Schuckit, 2009), celles-ci étant aussi plus vulnérables au risque de rechute après l'abstinence (Becker & Hu, 2008). Il semblerait que les œstrogènes exercent une influence sur la modulation des récepteurs dopaminergiques dans certaines zones du système mésolimbique (Becker & Cha, 1989; Camarini & Pautassi, 2016; Van Hartesveldt & Joyce, 1986). Le rôle du sexe dans la sensibilisation à l'éthanol sera davantage détaillé dans la section suivante (cf. section 3.1).

2.7. Acétaldéhyde

L'acétaldéhyde constitue le premier métabolite de l'alcool (cf. section 3 du chapitre 1). Ce composé organique induit des effets pharmacologiques et toxiques puissants et serait également impliqué dans les mécanismes comportementaux de l'alcool (Closon et al., 2009; Smith et al., 1997). Certaines théories considèrent l'acétaldéhyde comme étant le protagoniste principal responsable de la

sensibilisation à l'alcool. Selon une version plus radicale de la théorie, l'éthanol constituerait seulement une simple prodrogue dont les effets seraient entièrement modulés par son premier métabolite, remettant ainsi le terme d'alcoolisme en question au profit de celui de « l'aldéhydisme » (Quertemont et al., 2004; Quertemont & Didone, 2006). Cependant, le rôle précis de l'acétaldéhyde dans le syndrome d'addiction alcoolique et la sensibilisation reste le sujet d'un éternel débat (Quertemont, Eriksson, et al., 2005). En effet, d'autres scientifiques nient tout rôle significatif de l'acétaldéhyde dans les effets pharmacologiques de l'éthanol. Ces auteurs affirment généralement qu'après une consommation ponctuelle et contrôlée d'alcool, la concentration d'acétaldéhyde dans le sang et le cerveau est bien trop faible pour induire des effets pharmacologiques ou comportementaux significatifs (Dietrich et al., 2012; Quertemont & Didone, 2006). Preuves de ce paradoxe, nombre d'études scientifiques se contredisent : certaines recherches animales ont rapporté des effets renforçants de l'acétaldéhyde au niveau cérébral (Brown et al., 1979; Correa et al., 2004; Smith & Amit, 1985) alors que des recherches menées sur l'être humain démontrent la plupart du temps que l'accumulation d'acétaldéhyde mène à des comportements aversifs envers la consommation d'alcool, notamment dans les populations asiatiques (Quertemont, 2004; Suddendorf, 1989). Selon plusieurs études animales, la sensibilisation à l'alcool serait ainsi caractérisée comme une hyperréactivité acquise aux effets chroniques de l'acétaldéhyde (Correa et al., 2003, 2004; Didone, 2014; Font et al., 2013). De nombreux chercheurs soutiennent également l'hypothèse selon laquelle l'acétaldéhyde agirait de façon directe sur les propriétés motivationnelles au sein du système dopaminergique mésolimbique (Quertemont, Eriksson, et al., 2005; Smith et al., 1997), plus particulièrement dans la zone-clé de l'ATV. Certains auteurs ont effectivement démontré que des rats sélectionnés génétiquement pour leur attrait à l'alcool s'auto-administrent de l'acétaldéhyde directement dans l'ATV (Foddai et al., 2004; Rodd-Henricks et al., 2002). L'administration intracérébrale d'acétaldéhyde est encore capable d'induire une préférence de lieu conditionné chez le rat (Amit & Smith, 1985; Smith et al., 1984). Selon Didone (2014), il est

judicieux de rester très prudent envers la théorie de « l'aldéhydisme », la majorité des résultats n'ayant jamais fait l'objet de répliques en laboratoires. Par ailleurs, des études menées au sein de notre unité de recherche ont tenté de reproduire ces différentes « découvertes » et ont révélé des résultats très opposés à ceux mentionnés ci-avant (voir Escarabajal et al., 2003; Quertemont et al., 2004; Quertemont, Tambour, et al., 2005; Tambour et al., 2006). Une prise de position intermédiaire, et probablement plus solide, affirme que les propriétés pharmacologiques de l'acétaldéhyde peuvent moduler, plutôt qu'atténuer, certains des effets de l'éthanol. L'action modulatrice de l'acétaldéhyde dépend probablement en grande partie de conditions très spécifiques (Quertemont, Eriksson, et al., 2005; Quertemont & Didone, 2006).

3. Facteurs intervenant dans la sensibilisation locomotrice à l'éthanol

Le syndrome d'addiction alcoolique s'amorce par l'initiation de la consommation et, chez les personnes les plus vulnérables, peut évoluer au travers des phases croissantes de consommation jusqu'à des usages problématiques, puis chroniques et récidivants menant au phénomène de sensibilisation. Comme nous l'avons expliqué dans les chapitres précédents, la plupart des consommateurs ne deviendront évidemment pas des alcooliques chroniques, cette majorité optera plutôt pour la consommation récréative et contrôlée, une plus faible partie adoptera l'abstinence. Les mécanismes conférant la susceptibilité et la résistance au syndrome d'addiction alcoolique ne sont jamais, encore à ce jour, qu'en cours d'être élucidés (Becker & Hu, 2008; Bordet, 2002; Volkow & Baler, 2014). Par conséquent, la compréhension des processus biologiques, neurologiques, génétiques, ainsi que les facteurs externes intervenant qui mènent de la consommation contrôlée au syndrome d'addiction alcoolique, sont les premières étapes cruciales permettant d'identifier les individus à risque qui peuvent donc bénéficier d'interventions thérapeutiques ciblées (Nona et al., 2018). Il est essentiel de réitérer que, contrairement aux modèles animaux précliniques, la théorie de la sensibilisation n'a été que marginalement investiguée chez l'homme, faute de pouvoir la manipuler en conditions contrôlées (voir Newlin & Thomson, 1991, 1999; Schuckit, 1991). Pour rappel, chez le rongeur de laboratoire, la sensibilisation comportementale à l'alcool est mesurée indirectement via l'hyperréactivité locomotrice, alors que chez l'homme, on considère les propriétés stimulantes et euphorisantes de l'alcool comme extrêmement renforçantes et censées motiver la consommation d'alcool, cette mesure indirecte étant associée à la sensibilisation motivationnelle (Corbin et al., 2008). Ainsi, l'importante carence en études longitudinales sur la sensibilisation à l'alcool chez l'homme constitue un gouffre considérable dans notre compréhension du processus. Ce manque est largement attribué à l'absence d'un protocole fiable pour induire et mesurer la sensibilisation de manière directe chez l'homme, mais également à la grande « pénurie » des

individus abstinents à partir desquels il serait possible d'obtenir une ligne de base crédible (Nona et al., 2018). La recherche préclinique a notamment démontré que la sensibilisation à l'alcool était dépendante de nombreux paramètres. Dans la présente section, nous allons décrire le rôle de certains des facteurs importants intervenant dans le processus de sensibilisation à l'alcool chez la souris de laboratoire.

3.1. Souche et sexe

Le rongeur, et plus spécifiquement la souris, constitue l'espèce la plus employée dans les études de sensibilisation aux drogues. Contrairement au rat, chez qui il est très fastidieux d'observer des effets locomoteurs sensibilisés (Castello et al., 2015; Masur et al., 1986), il ressort très clairement que la souche génétique influence considérablement le processus de sensibilisation chez la souris (Camarini & Pautassi, 2016; Frye & Breese, 1981; Nona et al., 2018). Les souches les plus utilisées dans les études de vulnérabilité aux drogues et de sensibilisation sont les souches consanguines (*inbred*) DBA/2J et C57BL/6J (black 6) et les souches non-consanguines (*outbred*) Swiss et sa dérivée, la CD1. Les souris *inbred* de souche DBA/2J manifestent généralement une forte sensibilisation locomotrice à l'éthanol (Broadbent et al., 2005; Broadbent & Harless, 1999; Didone et al., 2019; Legastelois et al., 2013; Linsenhardt & Boehm, 2010; Phillips et al., 1994), en faisant ainsi la souche la plus utilisée dans les études issues du domaine. Alors que la sensibilisation locomotrice aux stimulants classiques est avérée chez la souche C57BL/6J (Eisener-Dorman et al., 2011; Lespine & Tirelli, 2015, 2018; Pathak et al., 2015; Salomon et al., 2006; Smith et al., 2016), les résultats obtenus dans la sensibilisation locomotrice à l'éthanol sont beaucoup plus mitigés. Certains auteurs parviennent à mettre en évidence une puissante sensibilisation (Bahi & Dreyer, 2012; Melón & Boehm, 2011) alors que d'autres démontrent une absence totale d'effets locomoteurs sensibilisés (Camarini & Hodge, 2004; Crabbe et al., 1982; Tabakoff & Kiianmaa, 1982). Par contre, une grande majorité de scientifiques a démontré que la souche C57BL/6J présente une

plus forte préférence pour la consommation orale volontaire d'alcool (Bahi & Dreyer, 2012; Belknap et al., 1993; Lessov et al., 2001; Van Hees et al., 2022). Concernant les souches *outbred* Swiss et CD1, la littérature fait également l'objet de données antinomiques. Des études ont ainsi sous-entendu que les souris non-consanguines développaient peu, voire pas du tout, de sensibilisation aux effets stimulants de l'éthanol (Quadros, Nobrega, et al., 2002; voir aussi Risinger & Boyce, 2002). Cette spéculation est notamment fondée sur le fait que les souches *outbred* présentent une plus forte variabilité intra-groupe dans l'acquisition et l'expression de la sensibilisation à l'alcool par rapport à leurs homologues *inbred*. Par conséquent, cette plus forte variabilité génétique serait susceptible d'induire une plus forte fluctuation d'expression du comportement. Ceci constitue en réalité le parfait exemple d'un postulat scientifique largement répandu qui semble être raisonnable alors qu'il est en grande partie incorrect. Dans les faits, la variabilité dépend grandement de ce que l'on aspire à mesurer. Bien entendu, si le profil génétique est spécifiquement concerné, les lignées consanguines varient moins que les lignées non consanguines (Festing, 2010). Cependant, la plupart des scientifiques omettent fréquemment de préciser que le degré de variabilité de la quasi-totalité des mesures phénotypiques, comme le comportement, est comparable dans les populations *inbred* et *outbred* (Ayroles et al., 2015; Freund et al., 2013; Gärtner, 1990). Notre unité de recherche a par exemple montré que dans un protocole de sensibilisation à l'éthanol classique, des souris de souche Swiss ne témoignent aucunement d'un accroissement de la variabilité comportementale par rapport à des souris de souche DBA/2J, les coefficients de variations étant même dans certains cas plus importants chez la souche *inbred* (van Ingelgom et al., 2021). Nous pourrions alors nous poser la question du réel intérêt d'utiliser des lignées génétiquement plus distantes dans les études comportementales. Le raisonnement se révèle assez simple : le comportement est rarement expliqué par le profil génétique seul. L'expression des comportements est régie par l'interaction de multiples facteurs diversifiés qui varient entre eux, tout comme chez l'homme. L'utilité des souris *outbred* réside dans cette même idée, il s'agit en réalité de se

connecter à cette homologie. De plus, la majorité des lignées *inbred* présente des fragilités sanitaires, elles sont plus frêles et ont un indice de reproduction et un pourcentage de sevrage plus faibles. Ce sont des signes essentiels qui renseignent sur le fait qu'elles ne sont probablement pas « normales » et qui nous amènent également à considérer le tabou de l'inceste dans notre société. Les modèles consanguins dans la recherche ont évidemment leur grande utilité dans les études purement génétiques ou quand l'animal constitue lui-même un modèle de pathologie connue. Cependant, contrairement à ce qui est largement partagé, c'est la diversité génétique qui assure une plus grande généralisation des conclusions des études (Richter et al., 2010; Usui et al., 2021). De plus, il est essentiel de rappeler que le problème de généralisation des résultats est au centre de la crise actuelle de la répliquabilité, et contrairement aux attentes, l'utilisation de souris non consanguines, plus robustes comme sujets de recherche, pourrait améliorer la répliquabilité des résultats. À l'heure actuelle, de nombreuses études ont prouvé l'efficacité des modèles *outbred* dans la sensibilisation à l'alcool, notamment chez la souche Swiss (Araujo et al., 2005; Didone et al., 2008, 2019; Didone, Masson et al., 2016; Legastelois et al., 2014; Quadros et al., 2003; Quoilin et al., 2010; Rueda et al., 2012) constituant l'une des souches les plus employées dans les études précliniques (Linder & Davisson, 2004).

Nombre de chercheurs ont affirmé que les différences dans la réponse comportementale à la suite d'une sensibilisation à l'alcool seraient sous contrôle génétique. Cette hypothèse a entre autres été étayée par des études de manipulation et de sélection génétique avec des souris sélectionnées ainsi pour leur sensibilité différentielle à la stimulation et à la sensibilisation à l'alcool (Crabbe et al., 2006; Phillips & Shen, 1996). Il semblerait également que des différences génétiques dans les systèmes de neurotransmission et dans le métabolisme de l'éthanol puissent influencer le processus de sensibilisation (Nona et al., 2018). Par exemple, les souris DBA/2J et les souris C57BL/6J présentent des différences dans la fonction dopaminergique et opioïdérique cérébrale, ces dernières correspondent d'ailleurs à des différences inter-souches dans la consommation

volontaire orale d'alcool. Le système dopaminergique pourrait ainsi différer dans ses fonctions selon la souche de souris concernée et contribuer aux différences comportementales observées dans la vulnérabilité à la sensibilisation (Camarini & Pautassi, 2016).

Énormément d'études ont également établi la présence d'un dimorphisme sexuel comportemental dans la sensibilisation. Les scientifiques, en grande majorité, admettent que les souris femelles sont plus vulnérables au développement de la sensibilisation à l'éthanol que les mâles (Becker & Hu, 2008; Camarini & Pautassi, 2016; Itzhak & Martin, 1999; Lessov & Phillips, 2003; Masur & Boerngen, 1980; Phillips et al., 1997; Sershen et al., 2002). Selon Didone (2014), cette affirmation tient plus de la croyance populaire que de faits réels avérés. Cette croyance témoigne de la nécessité de justifier systématiquement l'utilisation de souris femelles au lieu des mâles pour la critique scientifique. L'utilisation des souris femelles permet également d'éviter certains écueils généralement rencontrés chez les mâles, comme la territorialité et la hiérarchie engendrant des comportements agressifs inter-individus causés notamment par l'augmentation de testostérone lors de l'hébergement social (Kappel et al., 2017). Ces points seront discutés plus en profondeur dans la partie conclusive de ce travail (cf. section 4 du chapitre 10). Certains chercheurs ont également démontré une plus forte propension aux comportements agonistiques après une sensibilisation à l'éthanol chez la souris mâle. Généralement, les niveaux d'agressivité basale d'un mâle résident envers un mâle non familier introduit dans la cage d'hébergement ne diffèrent pas entre les individus sensibilisés et le groupe contrôle salin. Cependant, lorsque les souris sensibilisées reçoivent une dose modérée d'alcool, dose largement connue pour potentialiser l'agressivité chez la majorité des individus (Miczek et al., 1998), la même équipe de chercheurs démontre que plus de 50% des souris sensibilisées manifestent des comportements agressifs de manière répétée par rapport au groupe contrôle. Cette vulnérabilité accrue à l'agressivité exacerbée par l'alcool s'accompagnait par ailleurs d'un changement vertical dans la courbe dose-réponse, telle qu'une augmentation des attaques physiques et des morsures, à

travers toute la gamme de doses utilisées (Fish et al., 2002). Contrairement à la potentialisation de l'agressivité incontestable chez la souris mâle sensibilisée, il semblerait néanmoins que le dimorphisme sexuel dans la sensibilisation ne fasse nullement l'objet d'un consensus dans la littérature scientifique. Certains chercheurs ne trouvent aucune différence (Melón & Boehm, 2011), d'autres ne constatent la présence de sensibilisation que chez les mâles (Itzhak & Anderson, 2008). Cette possible dissociation pourrait alors être expliquée par des mécanismes neurobiologiques différents impliqués dans la sensibilisation à l'alcool. Par exemple, Kawakami et al. (2016) ont démontré que l'expression de la sensibilisation chez les mâles implique davantage les mécanismes opioïdes que chez les femelles. Comme nous l'avons expliqué précédemment (cf. section 2.6), il semblerait également que les œstrogènes exercent une influence sur la modulation des récepteurs dopaminergiques dans certaines zones du système mésolimbique (Becker & Cha, 1989; Camarini & Pautassi, 2016; Van Hartesveldt & Joyce, 1986). Dans le cas d'une étude sur la sensibilisation à l'éthanol, l'utilisation d'un sexe particulier dépend fortement des habitudes propres à chaque laboratoire et de la question de recherche. Bien que le phénomène soit observable tant chez les mâles que chez les femelles, lorsqu'une unité de recherche parvient à en observer les effets dans un sexe spécifique, cette dernière va généralement poursuivre avec ce même sexe (cf. section 4 du chapitre 10)

3.2. Caractéristiques de l'administration et durée d'exposition

Chez la souris de laboratoire, les voies d'administration les plus souvent utilisées sont l'injection intrapéritonéale et intracérébrale. Les doses administrées dans l'induction d'une sensibilisation locomotrice à l'alcool varient en fonction des laboratoires, de la souche étudiée et de l'objectif de recherche. Chez la souris adulte de souche Swiss, des doses d'éthanol intrapéritonéales comprises entre 1,5 et 2,5 ou encore 3,0 g/kg induisent une sensibilisation robuste au fur et à mesure des injections (Didone et al., 2008, 2019; Masur & Boerngen, 1980; Quoilin et al., 2010). Chez la souris adulte de souche DBA/2J, les doses varient moins et

se situent entre 1,5 et 2,0 g/kg (Boehm et al., 2008; Camarini & Hodge, 2004; Didone et al., 2019). Plus généralement, on estime que les effets psychostimulants aigus de l'éthanol sont observés chez les souris adultes à des doses modérées comprises entre 1,5 et 2,5 g/kg, cette augmentation locomotrice spontanée constituant ainsi un modèle fiable de l'euphorie et de la désinhibition comportementale ressentie chez l'homme après la consommation de quantités modérées d'alcool (Ahlenius et al., 1973, cités par Frye & Breese, 1981). Dès lors de l'administration de doses dépassant ce seuil pharmacologique stimulant, les effets de l'éthanol abolissent la stimulation et engendrent souvent la réponse inverse, la sédation. Dans un groupe de souris exprimant les effets stimulants de l'éthanol, la courbe dose-réponse se schématise par un « U » inversé (Dudek et al., 1991, cités par Didone, 2014; Frye & Breese, 1981). Le point culminant de cette courbe correspond à une dose stimulante optimale. Globalement, des doses similaires sont administrées dans les phases d'induction et d'expression de la sensibilisation. Il est cependant envisageable, parfois même recommandé par certains auteurs (Lessov & Phillips, 1998), d'administrer une dose plus élevée lors de la phase d'acquisition de la sensibilisation afin de faciliter son expression ultérieure. Par exemple, les femelles Swiss expriment souvent les effets sensibilisés à des doses plus faibles que celles ayant produit l'acquisition de la sensibilisation. Une étude conduite dans nos laboratoires a d'ailleurs pu quantifier les effets de différentes doses d'éthanol (1,0 à 3,0 g/kg) sur l'expression de la sensibilisation chez des souris Swiss préalablement sensibilisées avec une dose de 2,5 g/kg. Les auteurs ont démontré que des doses plus faibles (1.5 g/kg) étaient efficaces pour l'expression de la sensibilisation (Didone et al., 2008). Encore plus surprenant, il semblerait également qu'une sensibilisation puissante puisse se développer après des expositions répétées à des doses sédatives de 3,5 et 4 g/kg, les souris exprimant à nouveau les effets sensibilisés à des doses plus faibles (2,5 g/kg). Notons que ces doses sédatives se révèlent généralement létales chez l'être humain. Une sensibilisation efficiente peut ainsi se développer chez des souris n'ayant jamais expérimenté les effets stimulants locomoteurs de l'éthanol.

Selon plusieurs auteurs, le schéma temporel des administrations d'alcool peut également jouer un rôle significatif. La fréquence des expositions à l'alcool peut notamment influencer les mécanismes de tolérance et de sensibilisation. Par exemple, une exposition chronique et continue à l'éthanol pourrait induire le développement d'une tolérance, alors qu'une exposition intermittente faciliterait l'acquisition d'une sensibilisation (Post, 1980). Chez les souches de souris possédant une forte propension au développement d'une sensibilisation à l'éthanol, l'intervalle entre deux expositions varie en fonction des chercheurs et des objectifs de recherche. Dans la grande majorité des études, cet intervalle oscille entre 24 et 48 heures, certains auteurs préconisant l'administration intermittente (Diaz-Granados & Graham, 2007; Phillips et al., 2010) comme pour les psychostimulants classiques (Post, 1980). À ce jour, aucun consensus n'a clairement été établi en ce qui concerne la fréquence des administrations. L'étude de Didone et collaborateurs (2008) menée dans nos laboratoires a notamment démontré que l'efficacité de la sensibilisation était indépendante des intervalles testés entre les expositions à l'alcool (24, 48 ou 96 heures). À l'opposé, l'intervalle séparant la dernière session d'acquisition et la session d'expression ou l'intervalle entre l'expression et la réexpression de la sensibilisation constitue un facteur d'influence important. Cette durée représente en réalité le maintien temporel de la sensibilisation (Robinson & Berridge, 1993). Très peu d'études ont investigué l'efficacité temporelle de la sensibilisation à l'éthanol chez les souris (voir Boehm et al., 2008; Fish et al., 2002; Lessov & Phillips, 1998). Quelques rapports ont toutefois démontré que la sensibilisation peut perdurer de 17 à 58 jours chez certaines souches non consanguines. Ces résultats disparates pourraient s'expliquer par l'ampleur atteinte des effets sensibilisés et la durée des expositions à l'alcool (Boehm et al., 2008). En effet, la durée des expositions varie également entre les recherches. Dans la grande majorité des études disponibles dans la littérature, le nombre des expositions à l'éthanol durant la phase d'acquisition varie entre 8 et 21 (voir Camarini et al., 2010, 2011; Coune et al., 2017; Didone et al., 2008; Legastelois et al., 2013, 2014; Quadros, Hipólido, et al., 2002; Quadros,

Nobrega, et al., 2002). Certaines études ont prolongé la durée des expositions continues à 45 jours (Didone et al., 2019) et même jusqu'à 60 jours (Masur & Boerngen, 1980). Globalement, il semblerait que l'induction de la sensibilisation soit déjà effective à partir de la quatrième exposition à l'alcool chez certaines souches (Broadbent & Harless, 1999; Camarini & Pautassi, 2016). Surprenant même, certaines études ont démontré qu'une seule exposition suffisait parfois pour l'expression d'une sensibilisation (Kayir & Uzbay, 2002; Procópio-Souza et al., 2011), phénomène généralement appelé sensibilisation aiguë ou sensibilisation à dose unique (Tirelli et al., 2003). À nouveau, aucun consensus n'a été clairement établi au sujet de la durée optimale d'acquisition.

3.3. Âge

Il est largement reconnu qu'une grande partie des effets induits par l'éthanol subit des évolutions ontogénétiques. Tout comme chez l'homme, l'adolescence constitue une période critique du développement au cours de laquelle les rongeurs juvéniles subissent des changements adaptatifs comportementaux et neurobiologiques menant la transition vers l'âge adulte (Stevenson et al., 2008). Ces changements neurobiologiques sont notamment caractérisés par un remodelage de la région mésolimbique entraînant une déplétion de la neurotransmission GABAergique et une potentialisation de celle de la dopamine (Spear, 2000a). Les adaptations comportementales et neurobiologiques se produisant au cours de cette phase développementale rendent l'individu particulièrement vulnérable à la consommation de substances et à leurs neuroadaptations subséquentes (Crews et al., 2007). L'adolescence est généralement caractérisée par l'initiation à la consommation d'alcool et par l'expérimentation d'épisodes de *binge drinking* (cf. chapitre 4). Auprès d'une minorité d'individus, ces expériences seront les premières étapes menant à l'abus d'alcool et, ultimement, au développement du syndrome d'addiction alcoolique (Quoilin et al., 2010; Romer et al., 2017; Spear, 2015). Un parfait exemple d'une évolution ontogénétique des effets de l'alcool réside dans leurs propriétés

stimulantes décroissantes en fonction du murissement cérébral. Chez la souris, la période de l'adolescence est souvent subdivisée en trois stades (Spear, 2000a) : le stade d'entrée (21-34 jours de vie) englobant la puberté (21-28 jours de vie), le stade intermédiaire (34-46 jours de vie) et le stade de fin (46-60 jours de vie). Dans la recherche préclinique, il a largement été démontré que les souris adolescentes manifestent systématiquement une sensibilité accrue à la stimulation locomotrice aiguë induite par l'éthanol par rapport à des souris adultes qui subissent, quant à elles, un accroissement des effets inhibiteurs, sédatifs et aversifs (Hefner & Holmes, 2007; Melón & Boehm, 2011; Quoilin et al., 2010, 2012a, 2012b; Stevenson et al., 2008). En d'autres termes, on observe généralement un déplacement de la courbe dose-réponse vers le haut chez les jeunes souris par rapport à leurs homologues adultes. Chez les souris adolescentes, les effets stimulants aigus de l'éthanol peuvent atteindre des effets maximaux qui ne sont généralement pas observés chez les adultes. Ce phénomène d'érosion est proportionnel à la maturation et au vieillissement cérébral, par conséquent, l'administration d'une même dose d'éthanol provoque une activité locomotrice moins intense chez les individus adultes (Didone, 2014; Quoilin et al., 2010). Cette observation peut également s'expliquer par une plus faible sensibilité aux effets sédatifs de l'éthanol chez les souris adolescentes. Effectivement, chez les individus plus matures, les effets sédatifs sont rencontrés à des doses plus faibles par rapport à celles ordinairement observées chez les plus jeunes. Succinctement, on caractérise généralement les souris juvéniles par une plus grande sensibilité aux effets stimulants de l'éthanol, mais aussi à une tolérance initiale plus forte envers ses effets sédatifs, hypothermiques et ataxiques (Quoilin et al., 2010; Spear, 2000a, 2000b; Stevenson et al., 2008).

En ce qui concerne le phénomène de sensibilisation comportementale, de nombreux chercheurs soutiennent généralement le pattern comportemental inverse de la stimulation aiguë. Certaines études ont observé que les souris adultes développent et expriment une plus forte sensibilisation locomotrice par rapport aux souris juvéniles (Camarini et al., 2010; Carrara-Nascimento et al.,

2011; Faria et al., 2008; Quoilin et al., 2014; Stevenson et al., 2008). Certains chercheurs ont même confirmé que les souris adolescentes pouvaient développer une tolérance aux effets locomoteurs communément rencontrés aux doses stimulantes les plus employées. Il semblerait ainsi que l'immaturation cérébrale, et plus spécifiquement les zones préfrontales et mésolimbiques, apporte une condition d'ordre préventive, voire une protection relative face à la sensibilisation (Spear, 2000a). En réalité, les souris adolescentes pourraient développer et exprimer les effets d'une sensibilisation à raison de doses d'alcool plus élevées. Une série d'études menées dans nos laboratoires a pu démontrer la présence d'une sensibilisation locomotrice à des doses d'éthanol de 3,5 g/kg à 4 g/kg chez des souris Swiss adolescentes, doses auxquelles ne sont pratiquement jamais observés les effets locomoteurs sensibilisés chez la souris adulte (Quoilin et al., 2010, 2012b, 2014). Ces derniers résultats pourraient d'ailleurs servir de modèle animal du *binge drinking* tel qu'on le rencontre habituellement chez les adolescents humains (Nona et al., 2018). De plus, l'exposition chronique à l'éthanol durant la phase d'adolescence influence de manière significative la vulnérabilité au développement d'une sensibilisation comportementale à l'âge adulte. L'acquisition d'une sensibilisation à l'alcool durant l'adolescence peut mener à une réexpression considérable des comportements sensibilisés à l'âge adulte, même dès la première réexposition à la substance (Quoilin et al., 2012a, 2014). Certains auteurs expliquent la dissociation entre sédation et stimulation par l'action des récepteurs GABA_A et NMDA. Pendant la période d'adolescence, il se produit des modifications dans la densité, la distribution et la composition des récepteurs GABA_A, alors que la densité des récepteurs NMDA du glutamate augmente fortement (Laurie et al., 1992; Xia & Haddad, 1992). Ainsi, la déplétion observée dans l'expression des effets sédatifs de l'éthanol se produisant au cours de l'adolescence est probablement due à des altérations dans la fonction de ces différents récepteurs. La corrélation de l'ontogénie des effets stimulants et sédatifs induits par l'éthanol pourrait encore s'expliquer par la maturation des récepteurs GABA_A. Certaines études (Cott et al., 1976; Gallegos et al., 1999; Linsenbardt &

Boehm, 2010) stipulent que l'éthanol stimulerait indirectement l'activité des neurones dopaminergiques mésolimbiques et augmenterait donc la libération de dopamine dans ces mêmes régions du renforcement dans le processus de sensibilisation comportementale (cf. section 2.2). Malgré le ralentissement du développement du cerveau avec la maturité, ce dernier se voit continuellement évoluer en se transformant tout au long de la vie, menant ainsi les fonctions de différents systèmes, comme le nombre de neurones dopaminergiques et leurs pouvoir de neurotransmission ou la densité des récepteurs NMDA du glutamate et des aires interagissant avec les effets des substances, à s'éroder avec l'âge (Dowling et al., 2008; Mora et al., 2008; Volkow et al., 2016). L'efficacité de la métabolisation et de l'élimination de l'alcool est en outre inversement proportionnelle à l'âge. Ainsi, les propriétés hépatiques des personnes âgées évoluent vers une sensibilité accrue aux effets toxiques et sédatifs de l'alcool, menant à une plus grande vulnérabilité générale aux effets neurotoxiques après l'ingestion des mêmes doses (Seitz & Stickel, 2007).

3.4. Expériences préexistantes et contexte d'exposition

Les facteurs d'influence de la sensibilisation comportementale les plus reconnus et les plus discutés dans la littérature scientifique sont indéniablement liés aux propriétés intrinsèques et génétiques de l'animal, tels que nous les avons détaillés ci-avant. Cependant, il n'en résulte pas moins que l'acquisition et l'expression de la sensibilisation locomotrice à l'alcool se trouvent également modulées par bien d'autres facteurs, notamment des facteurs externes. Nous considérons aujourd'hui que l'influence génétique dans le phénomène de sensibilisation aux effets stimulants de l'éthanol n'expliquerait que 22 à 29% de sa variabilité totale (Linsenhardt & Boehm, 2013; Phillips et al., 1995). Chez la souris, parmi les nombreux phénotypes comportementaux liés à l'éthanol obtenus via la méthode de reproduction sélective, les estimations de l'héritabilité de certains des phénotypes les plus aboutis, par exemple la souche C57BL/6J ou la souche DBA/2J, se sont révélées égales ou inférieures aux 22% calculés pour la

sensibilisation locomotrice (Linsenhardt & Boehm, 2013). Nous serions ainsi bloqués, car confrontés à une contradiction : au maximum un tiers de la variabilité des mécanismes d'expression de la sensibilisation serait expliqué par les facteurs génétiques et intrinsèques à l'animal, alors que 90% des études scientifiques recensées dans la littérature leur sont consacrés (Didone, 2014). Effet de mode ou complaisance, il reste difficile d'infirmer que les études génétiques font partie des domaines scientifiques les plus fructueux, tant dans leur grande propension à être publiées que dans leurs bénéfices financiers. Parmi les facteurs externes intervenant dans les mécanismes de la sensibilisation comportementale, les facteurs contextuels y joueraient un rôle prépondérant. Loin de nous le désir d'enflammer davantage ce paradoxe, mais rappelons-nous que les indices environnementaux liés à la consommation de substances font d'ailleurs partie intégrante de l'*I/STA*, de quoi alimenter quelque peu la discorde. Les facteurs contextuels influençant la sensibilisation locomotrice sont généralement scindés en deux composantes : les expériences contextuelles préalables à la sensibilisation et le contexte environnemental d'exposition à la substance liée à la sensibilisation.

La première composante contextuelle explore les influences des expériences vécues avant le début de l'exposition à l'alcool. Nous pouvons notamment citer les expériences de stress chronique endurées (Kawakami et al., 2016; Koob et al., 2014; Lopez et al., 2011; Päivärinta, 1990; Phillips et al., 1997) ou un enrichissement environnemental (Araujo et al., 2005; Berardo et al., 2016; Holgate et al., 2017; Lopez & Laber, 2015; Munn et al., 2011; Rueda et al., 2012) proposé à des moments clés du développement de l'animal, par exemple pendant la phase critique de l'adolescence. Ces deux sous-composantes font intégralement partie du thème de la présente thèse, elles seront développées en détail dans le prochain chapitre (cf. chapitre 4). D'autres auteurs ont également investigué l'effet d'une préexposition à une substance sur la sensibilisation à l'éthanol (Abraham et al., 2009; Lessov & Phillips, 2003; Meyer & Phillips, 2007; Quoilin et al., 2012a). Répétons brièvement que le phénomène de cross-sensibilisation se produit

lorsque des administrations répétées d'une substance induisent une réponse comportementale sensibilisée à une autre substance lors de son administration ultérieure, suggérant ainsi des mécanismes sous-jacents communs et un risque de co-addiction. Par exemple, une simple préexposition ponctuelle à la morphine peut potentialiser la réponse locomotrice induite par une injection aiguë d'éthanol (Abraham et al., 2009; Lessov & Phillips, 2003). En outre, des souris répétitivement exposées à la morphine ou à la cocaïne expriment également une activité locomotrice accrue après une injection unique d'éthanol (Lessov & Phillips, 2003). Cette série d'études suggère ainsi qu'il pourrait exister des mécanismes communs, à la fois de sensibilisation à l'alcool et de sensibilisation à d'autres substances telles que la cocaïne ou les substances narcotiques. En outre, un individu sensibilisé à l'alcool serait également prompt à une vulnérabilité accrue au développement d'une sensibilisation aux substances stimulantes et les antécédents de consommation de drogues pourraient influencer le développement d'une sensibilisation à l'alcool ultérieure (Nona et al., 2018). D'autres chercheurs ont observé que la co-administration d'éthanol et d'autres substances, comme la nicotine, peut potentialiser la réponse comportementale sensibilisée à l'éthanol chez la souris DBA/2J (Gubner et al., 2015; Gubner & Phillips, 2015). Cette dernière observation peut ne pas paraître surprenante étant donné que la consommation conjointe de tabac et d'alcool chez l'homme, notamment lors du processus de *binge drinking*, partage généralement un taux élevé de co-addiction, plus spécifiquement chez les adolescents et les jeunes adultes (voir Gubner et al., 2016; Nichten et al., 2010).

Dans le chapitre précédent, nous avons également brièvement discuté du phénomène de cross-sensibilisation au stress (cf. section 4.3.5). Ce processus ne se limite pas qu'aux substances. En effet, ce dernier peut également s'étendre en fonction des situations de stress expérimentées plus tôt dans le processus développemental (Burke & Miczek, 2014; Deroche et al., 1992; Gamallo et al., 1986; Kalivas & Duffy, 1987; Koob et al., 2014; Phillips et al., 1997). Rappelons qu'il est périlleux de prouver la relation symétrique entre la sensibilisation croisée

au stress et à l'alcool. Chez le rongeur, plusieurs études ont démontré que le stress chronique expérimenté pendant la période critique de l'adolescence, comme un isolement social, une séparation maternelle précoce ou un stress de contention, rendait l'animal plus vulnérable à la consommation volontaire orale d'alcool (Lallai et al., 2016; Lopez & Laber, 2015) et à ses effets stimulants (Kawakami et al., 2007; Roberts et al., 1995). Cependant, à ce jour, très peu de données scientifiques prouvent la relation inverse. À notre connaissance, la seule étude ayant tenté de considérer le sens de cette relation est celle de Matonda-Ma-Nzuzi et collaborateurs (2019), récemment menée dans nos laboratoires. Les auteurs ont d'ailleurs envisagé les deux sens de la relation entre stress et sensibilisation à l'éthanol en utilisant un paradigme d'induction du syndrome de stress post-traumatique (*post traumatic stress disorder* ou *PTSD*) au moyen de chocs électriques chez la souris DBA/2J (pour le protocole détaillé, voir Matonda-Ma-Nzuzi et al., 2019). Brièvement, cette étude démontre que l'acquisition d'un *PTSD* à la fin de la période sensible de l'adolescence potentialise le développement subséquent de la sensibilisation à l'éthanol à une dose de 2,0 g/kg, mais n'influence aucunement la dose seuil à laquelle l'acquisition de la sensibilisation s'initie. Ceci suggère donc que le *PTSD* peut interagir avec des mécanismes sous-jacents au développement de la sensibilisation à l'éthanol. Les auteurs feront ensuite remarquer que l'influence inverse, c'est-à-dire de la sensibilisation à l'éthanol préexistante au développement du *PTSD*, se révèle ardue à interpréter. Globalement, les souris sensibilisées à l'alcool et les souris contrôles ne semblent nullement se discriminer dans l'acquisition du *PTSD*, ou du moins, aucune preuve statistique significative n'atteste du contraire. Cependant, les souris ayant été sensibilisées à une dose d'éthanol de 2,0 g/kg expriment plus de réponses de « *freezing* » (arrêt brutal du mouvement induit par la peur entraînant une immobilisation) lors du choc électrique par rapport aux autres groupes testés. En ce sens, dans un nouveau contexte environnemental, cette observation serait ainsi révélatrice d'une généralisation de la peur plus importante chez les sujets sensibilisés.

La deuxième composante contextuelle se concentre sur les propriétés environnementales liées au contexte d'exposition à l'éthanol lors du développement de la sensibilisation. Il s'agit ici d'éléments ponctuels, physiques, visuels, sonores, olfactifs ou encore liés au sentiment de familiarité ou de nouveauté caractérisant l'environnement assimilé à l'expérience de la substance. Globalement, il a largement été prouvé que l'environnement lié à l'exposition chronique de drogues peut fortement moduler l'acquisition et l'expression de la sensibilisation locomotrice aux psychostimulants classiques (Badiani, Anagnostaras, et al., 1995; Badiani, Browman, et al., 1995; Browman et al., 1998). La présence d'un même groupe de stimuli environnementaux lors d'une administration chronique favorise ainsi l'acquisition et l'expression d'hyperréponses comportementales à la substance. La suppression de ces stimuli contextuels réduirait, voire masquerait complètement l'expression des comportements sensibilisés. Par exemple, l'association conjointe d'indices visuels et sonores à l'administration de cocaïne ou d'amphétamines potentialise de manière significative l'acquisition de la sensibilisation (Crombag et al., 2001; Robinson et al., 1998). Généralement, un groupe de rongeurs reçoit une administration chronique de drogues dans un contexte environnemental et un second groupe se voit administrer le même traitement dans un contexte différent, mais possédant les mêmes caractéristiques physiques. Après l'acquisition de la sensibilisation dans les deux groupes, tous les rongeurs sont exposés à la même substance dans l'un des deux contextes. Pour les psychostimulants classiques, les rongeurs répétitivement injectés dans le contexte apparié au test expriment une plus forte sensibilisation que les rongeurs traités dans l'autre environnement (Robinson et al., 1998; Robinson & Berridge, 1993). Le groupe non apparié au contexte de test pourrait même parfois manifester une absence totale d'expression des effets sensibilisés, malgré les altérations neuronales engendrées par le processus de sensibilisation (Anagnostaras & Robinson, 1996; Badiani et al., 1995; Browman et al., 1998). Dans le présent cas, on parlera en général d'une sensibilisation contexte-dépendante (Didone, Quoilin, et al., 2016). Il semblerait

ainsi que le contexte influence significativement l'expression de la sensibilisation via la rétention mnésique de la familiarité du contexte environnemental lié à l'exposition. Plusieurs modèles théoriques tentent d'expliquer cette potentialisation de la sensibilisation contexte-dépendante. Les théories les plus populaires expliquent totalement ou partiellement ce phénomène en termes de mécanismes d'apprentissage associatif. Brièvement, selon la théorie pavlovienne, les stimuli contextuels répétitivement associés aux effets de la substance engendrent initialement une réponse comportementale inconditionnée, puis deviennent progressivement des stimuli conditionnés pouvant ainsi provoquer des effets comportementaux semblables à ceux de la substance elle-même (réponse conditionnée), même en son absence (Robinson & Berridge, 1993; Schiff, 1982; Stewart, 1992). Cette dernière observation est d'ailleurs un des éléments-clés du syndrome de rechute chronique chez l'homme. Lorsque des rongeurs subissent un test d'expression dans un contexte apparié à l'administration chronique d'une substance, les réponses conditionnées et non conditionnées s'additionnent, conduisant à une sensibilisation locomotrice accrue. De surcroît, l'adéquation du contexte d'acquisition et d'expression ne serait pas toujours une condition suffisante pour l'efficacité de la sensibilisation. Il semblerait que les deux phases de la sensibilisation peuvent être altérées par un contexte non familier. En effet, des rongeurs chroniquement exposés à des psychostimulants classiques dans un contexte nouveau démontrent une plus forte expression de la sensibilisation que d'autres sujets ayant reçu la substance dans un contexte familier, par exemple leur cage d'hébergement (Badiani, Anagnostaras, et al., 1995; Badiani, Browman, et al., 1995; Bevins & Peterson, 2004; Crombag et al., 2001; Didone, Quoilin, et al., 2016). Par ailleurs, d'autres chercheurs démontrent des résultats très similaires avec la morphine (Badiani et al., 2000; Paolone et al., 2003). À nouveau, ce sont les mécanismes d'apprentissage associatif qui ont été proposés afin d'expliquer comment la nouveauté contextuelle potentialise la sensibilisation aux drogues par le biais de mécanismes inhibiteurs potentiels. Ici, une exposition répétée à des stimuli n'entraînant aucune conséquence empêche l'association ultérieure de ces

stimuli avec des réponses inconditionnées. La réponse conditionnée ne serait donc pas observable dans le contexte familial. Inversement, de nouveaux stimuli se combinent facilement avec la réponse inconditionnée pour devenir le stimulus conditionné. Si la sensibilisation implique des mécanismes de conditionnement pavlovien, le nouvel environnement devrait faciliter l'association des indices contextuels présents dans cet environnement non familial avec les effets subjectifs des drogues, facilitant ainsi le développement de la sensibilisation. D'autres explications suggèrent que cet environnement nouveau induit des états physiologiques internes potentiellement liés au stress de la nouveauté, entraînant une activation de la transmission dopaminergique et des réponses endocriniennes de l'axe *HPA* (Friedman & Ader, 1967, cités par Didone, 2014), favorisant ainsi les mécanismes cérébraux impliqués dans la sensibilisation (Didone, Quoilin, et al., 2016).

Bien que le rôle contextuel des substances stimulantes comme la cocaïne et les amphétamines ait été largement étudié, nous en savons relativement peu sur son implication dans la sensibilisation à l'éthanol. Le faible nombre d'études publiées mène d'ailleurs à des résultats plutôt contradictoires. Succinctement, il semblerait que le rôle du contexte dans l'acquisition de la sensibilisation à l'éthanol soit très minime, voire inexistant (Didone et al., 2008; Didone, Quoilin, et al., 2016), ne constituant ainsi pas une condition *sine qua non* pour le développement plus robuste d'une sensibilisation. Bien que certains résultats publiés soutiennent l'idée que la sensibilisation à l'éthanol dépendrait du contexte, la plupart d'entre eux fournissent des preuves assez indirectes et n'utilisent pas le protocole expérimental classique des environnements appariés et non appariés (Didone, Quoilin, et al., 2016). Une étude pionnière sur le sujet (Cunningham & Noble, 1992) a tenté d'aborder cette problématique en utilisant un paradigme de préférence de lieu conditionnée. Ces auteurs ont observé une sensibilisation locomotrice plus robuste dans l'environnement dans lequel les rongeurs ont été exposés chroniquement à l'éthanol. Dans une autre étude (Quadros et al., 2003), des chercheurs ont montré au moyen d'un test de *fear conditioning* que des souris

développant une sensibilisation locomotrice à l'éthanol présentaient également un conditionnement de peur contextuelle plus important. Selon Quadros et collaborateurs (2003), les performances d'apprentissage contextuel facilitent l'acquisition de la sensibilisation via de meilleures capacités d'association d'indices contextuels avec l'éthanol. Deux nouvelles études plus récentes ont notamment rapporté que le maintien de la sensibilisation dans le temps peut être modulé par des indices contextuels (Boehm et al., 2008). Lorsque l'acquisition de la sensibilisation est appariée au contexte d'expression, une conservation plus longue du processus est observée (jusqu'à 28 jours supplémentaires). Faria et al. (2008) démontrent également des résultats de sensibilisation contexte-dépendante très similaires chez des souris adultes, mais indépendante du contexte chez des souris adolescentes. Enfin, très peu d'études ont investigué l'influence d'un nouveau contexte sur l'acquisition et l'expression de la sensibilisation à l'éthanol. Nous recensons à nouveau des résultats contradictoires dans la littérature scientifique. Par exemple, des souris sensibilisées dans un contexte spécifique n'expriment pas les effets comportementaux sensibilisés lorsqu'elles sont exposées à un environnement non-familier. Le contexte d'expression n'ayant jamais été apparié à celui des expositions chronique d'éthanol empêcherait ainsi l'expression de la sensibilisation (Quadros et al., 2003). À contrario, deux autres études ont montré une moins forte expression de la sensibilisation chez des souris préalablement exposées au contexte d'expression (Boehm et al., 2008; Meyer & Phillips, 2007). Enfin, une étude a plus récemment mis en évidence qu'un nouvel environnement, caractérisé par une forte luminosité, potentialise les effets locomoteurs aigus de l'éthanol, mais bloque complètement l'expression de la sensibilisation chez la souris Swiss (Fukushiro et al., 2012). À l'opposé, selon une étude menée dans nos laboratoires, l'expression de la sensibilisation à l'éthanol est indépendante du contexte dans lequel elle a été administrée, mais est fortement influencée par le degré de nouveauté de l'environnement. Ainsi, une exposition préalable au contexte de test empêche l'expression de la sensibilisation à l'éthanol, favorisant par contre l'expression de

la sensibilisation à la cocaïne. Une explication possible résiderait dans le fait que l'expression de la sensibilisation à l'éthanol nécessiterait un environnement stimulant et non familier (Didone, Quoilin, et al., 2016). Les effets comportementaux induits par un nouveau contexte et la réponse à la nouveauté seront plus explicitement discutés dans le prochain chapitre en lien avec les procédures d'enrichissement de l'environnement. Ces effets ont également fait l'objet d'une étude participant à ce travail (cf. chapitre 9).

Chapitre 4

Influences environnementales : L'enrichissement et ses implications

1. Rôle catalytique du stress dans le syndrome d'addiction alcoolique

Le système nerveux central se trouve en perpétuelle filtration d'une multitude de stimuli internes et externes qui se propagent jusqu'aux centres cérébraux de la perception. Ces stimulations externes concernent un vaste attirail d'indices contextuels englobant un individu dans son milieu, tels que les objets, la lumière, les sons, les odeurs, les mouvements ou encore les stimuli sociaux. En règle générale, le cerveau des individus évoluant dans un environnement riche en stimulations développe un plus grand nombre de synapses, et les ramifications dendritiques qui s'y trouvent deviennent également plus complexes. Chez un grand nombre d'espèces, cet effet est d'autant plus important durant la phase du neurodéveloppement (enfance-adolescence) et persiste à un degré moins important pendant l'âge adulte. Dans les précédents chapitres, nous avons brièvement discuté de la relation entre le stress et les comportements addictogènes. Le stress et le syndrome d'addiction sont clairement liés, notamment pour les substances stimulantes telles que la cocaïne et les amphétamines. Le cas de l'alcool se révèle plus fastidieux à expliquer, cependant, nous savons que le syndrome d'addiction alcoolique constitue un trouble psychiatrique également très influencé par les conditions environnementales physiques et sociales. Ces conditions peuvent être caractérisées comme génératrices de stress lorsque celles-ci ne sont pas adaptées et correctement

raffinées à l'individu. Des études épidémiologiques ont notamment démontré que des individus manifestant de plus fortes réactions au stress consomment également plus d'alcool et sont plus vulnérables au développement de comportements addictogènes. Par ailleurs, les individus ayant des antécédents de TUA sont également plus susceptibles d'adopter des comportements d'automédication dans le but de combattre des épisodes traumatiques (Keyes et al., 2012). Dans cette même perspective, Robinson et Berridge (1993) ont explicité le rôle du stress dans le syndrome de rechute chronique (cf. chapitre 2). Ils l'expliquent notamment par deux points de vue : le renforcement négatif lié à la dépendance physique, et la cross-sensibilisation entre le stress et la substance. D'un côté, le stress pourrait mener à une rechute parce qu'il inciterait l'individu à éviter une situation désagréable ou des symptômes néfastes liés au manque lors d'un sevrage (stimulus stressant) en re-consommant durablement la substance. Par ailleurs, la sensibilisation motivationnelle envers les stimuli saillants liés aux substances pourrait jouer un rôle prépondérant dans la rechute précipitée par le stress, les substances et le stress activant et sensibilisant tous deux le système dopaminergique mésolimbique (Antelman et al., 1980; Kalivas & Stewart, 1991). Notons également que dans le modèle allostatique de l'addiction (Koob & Le Moal, 1997, 2001), la consommation d'alcool peut être considérée tant comme une récompense qu'un facteur de stress, constituant une interprétation cohérente avec les observations selon lesquelles une dose aiguë d'alcool augmente simultanément les concentrations cérébrales de dopamine mésolimbique et d'autres neurotransmetteurs responsables des renforcements, ainsi que les niveaux cérébraux de *CRH* et les niveaux sanguins d'*ACTH* et de cortisol, caractérisant les principales hormones de stress dans le cerveau et dans le système nerveux périphérique (Rivier & Lee, 1996).

Les origines du stress sont habituellement répertoriées en quatre catégories : le stress général du milieu de vie, les événements catastrophiques, le stress de l'enfance/adolescence et le stress propre aux minorités ethniques. Cette liste de facteurs, probablement non exhaustive, varie ou peut être influencée de plusieurs

manières, notamment par la gravité, la durée, le statut anticipatoire du stress, le type de stress (émotionnel ou physique) et l'état de santé mentale de l'individu (Keyes et al., 2012; Smith & Randall, 2012). Dans le cadre de ce travail, nous nous baserons essentiellement sur les catégories du stress général du milieu et le stress issu de la période sensible de l'adolescence. Chez l'humain, nous retrouvons d'ailleurs au sein de ces catégories une série d'éléments intrinsèques aux relations sociales comme le mariage, le divorce, le nomadisme, la perte d'un proche, la maltraitance ou encore l'isolement social et la solitude, occupant une place centrale dans les objectifs du présent travail (cf. page suivante). La relation bidirectionnelle entre le trouble de l'usage d'alcool et le stress est par ailleurs plus facilement observable dans cette même catégorie de stress. Une enquête épidémiologique américaine (*National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions, 2001-2002*) s'intéressant à une série de facteurs de stress généraux de la vie, comme le déménagement, les problèmes professionnels, de voisinage ou familiaux ou une mauvaise santé, a démontré que le nombre de facteurs de stress subis au cours de l'année précédente était lié à la consommation excessive d'alcool ou à un mésusage plus sévère durant l'année suivante. Globalement, la majorité des participants ayant rapporté des niveaux de stress plus élevés avaient tendance à augmenter leur consommation d'alcool. Chez les hommes, la consommation excessive d'alcool et le TUA augmentent très fréquemment entre 0 et 6 facteurs de stress vécus, la relation s'atténuant par la suite à partir de 10 facteurs de stress. Chez les femmes, la relation était généralement plus linéaire, avec une augmentation de la prévalence à la consommation excessive d'alcool et le TUA à chaque augmentation des facteurs de stress lors de l'année écoulée. En Belgique, une enquête se penchant spécifiquement sur le monde du travail a notamment révélé que des salariés sujets au stress présentaient plus fréquemment une consommation problématique, que les buveurs problématiques étaient globalement plus stressés et plus sujets au stress au travail et dans leur vie privée. Les salariés rapportant une consommation abusive affirmaient plus fréquemment avoir une surcharge de travail, faisaient

davantage d'heures supplémentaires et admettaient que le trajet domicile-travail était plus pénible. Ils attribuaient également une charge émotionnelle plus lourde à leur travail et se montraient plus incertains par rapport à la stabilité de leur emploi (Securex, 2015).

Parmi les nombreux cas de stress attribués au stress général du milieu de vie, l'isolement social et la solitude revêtent une importance particulière dans le cadre de ce travail. Les concepts de « solitude » et « d'isolement social » ont été largement débattus et contestés, entraînant par conséquent des définitions très équivoques. De plus, ces termes sont souvent utilisés de manière interchangeable, bien qu'ils constituent des concepts distincts, mais tout de même largement associés (Laermans et al., 2023). Chez l'être humain, la solitude est généralement définie comme un état psychologique ou un sentiment subjectif et indésirable de manque ou de perte de compagnie. Ce phénomène est associé à un décalage entre la quantité et la qualité des relations sociales qu'un individu possède et celles qu'il désire (Perlman & Peplau, 1981). En revanche, l'isolement social constitue un état objectif défini en termes de quantité de relations sociales et de contacts disponibles. Il reflète notamment une réduction de la taille du réseau social et un manque de contacts sociaux, et peut être déclenché par des facteurs tels que des limitations de mobilité, le chômage, une détérioration de la santé ou encore le syndrome d'addiction (Lennartsson et al., 2022; Steptoe et al., 2013). Ainsi, se sentir seul est donc différent d'être socialement isolé. En réalité, un individu peut se sentir seul même en présence d'autres personnes. De même, un individu peut vivre seul sans ressentir de solitude (Laermans et al., 2023). Des études cliniques menées dès les années 50 avaient déjà mis en évidence la relation bidirectionnelle entre l'isolement social et/ou la solitude avec le syndrome d'addiction alcoolique. Cette corrélation suggère que l'isolement social et/ou la solitude peuvent jouer un rôle crucial à tous les stades de l'évolution du syndrome, agissant à la fois comme facteur déclencheur et comme obstacle aux tentatives de sevrage et de résilience (Akerlind & Hörnquist, 1992; Gutkind et al., 2022; Ingram et al., 2020). Ponctuellement, lorsqu'un individu est socialement isolé ou lorsqu'il éprouve des

sentiments de solitude, l'alcool semble très souvent offrir un répit temporaire. La boisson peut ainsi agir comme un moyen d'échapper aux pensées négatives, aux soucis et aux tensions émotionnelles liées à cette situation sociale précaire. La consommation d'alcool peut offrir une sensation artificielle de réconfort, de détente et de désinhibition, permettant temporairement à un individu de mettre de côté ses affects liés à sa situation sociale et de se sentir plus en harmonie avec celle-ci. Cependant, l'isolement social limite fréquemment les sources de soutien social et émotionnel disponibles. Le manque de soutien et de relations sociales peut rendre la gestion des difficultés de la vie quotidienne astreignante, augmentant ainsi le stress, l'anxiété et les sentiments de détresse émotionnelle. Dans ces situations, certains individus peuvent se tourner vers la consommation de boissons alcoolisées comme mécanisme d'adaptation et de résilience (*coping*) cherchant à combler le vide émotionnel induit par l'isolement. Des études supplémentaires ont convergé pour démontrer que les patients diagnostiqués avec une TUA se trouvent souvent isolés socialement et expriment davantage de sentiments de solitude. Les alcooliques chroniques présentent une corrélation évidente entre la solitude, l'isolement social et un certain nombre de caractéristiques négatives qui sont directement associées à une perspective pessimiste et à une vision négative du pronostic. De plus, des individus solitaires peuvent recourir à la consommation d'alcool comme un moyen de faire face à des problèmes personnels et au stress, tandis que les individus étant plus enclins à la sociabilité ont tendance à boire davantage lors d'activités collectives et festives (Peplau & Perlman, 1982). Cependant, il n'existe pas de relations claires entre la situation sociale extérieure et la quantité d'alcool consommée. Au contraire, le sentiment de solitude semble être étroitement lié à une perception globalement négative de soi et des relations avec les pairs, pouvant ainsi influencer négativement la satisfaction générale de divers aspects de la vie.

Afin de mieux comprendre les influences de l'isolement social et de la solitude dans le contexte du syndrome d'addiction alcoolique, il est nécessaire de réinstaller la consommation d'alcool dans son rôle originel. Depuis de nombreux siècles, les

croyances populaires ont forgé des stéréotypes sur la consommation et la surconsommation d'alcool. La consommation d'alcool en tant que substance désinhibante et catalyseur social lors de fêtes traditionnelles s'est profondément enracinée et s'est largement répandue depuis des millénaires (cf. chapitre 1). Par exemple, l'approche couramment adoptée consistant à s'armer de quelques verres pour se rapprocher de quelqu'un et essayer d'engager une conversation est quasiment universelle, bien qu'à l'heure actuelle, cette méthode soit généralement tolérée plutôt qu'encouragée. En revanche, la consommation d'alcool comme solution de substitution après l'échec d'un contact social ou après une rupture, tout comme la consommation solitaire, est bien moins acceptée, souvent préjugée et considérée comme dangereuse (Akerlind & Hörnquist, 1992). L'appellation du syndrome alcoolique comme « la maladie du solitaire » trouve d'ailleurs ses origines dans les croyances et les données cliniques partagées à l'époque. Par ailleurs, dans le raisonnement clinique, il est d'une importance cruciale de prendre en considération la solitude et l'isolement social en tant que facteurs déterminants dans l'émergence du syndrome alcoolique, ceci constituant une donnée essentielle qui se démarque des anciennes théories psychologiques de l'alcoolisme. Comprendre l'impact de l'isolement social et de la solitude sur la consommation d'alcool permettrait d'élaborer des approches de traitement plus holistiques, axées sur la résolution de ces problèmes sous-jacents. En outre, la capacité de résilience ou *coping* d'un individu reflète à quel point ce dernier est capable de s'adapter aux réponses psychologiques, physiologiques et environnementales impliquées dans les réactions au stress (Alim et al., 2012; Lazarus, 1999; NIAAA, 2012). Lorsqu'il est confronté à des événements stressants, le corps réagit rapidement, en mettant notamment en marche les processus métaboliques normaux à pleine puissance. Comme nous l'avons discuté dans le chapitre 3, pour rendre cette réponse la plus rapide possible, l'organisme compte sur le système complexe du *HPA* impliquant le cerveau et ses changements clés dans la réponse hormonale. Le système *HPA* cible des organes spécifiques, préparant le corps soit à combattre et lutter contre le facteur de stress,

soit à fuir, selon le principe du « *flight-or-fight response* » (Herman, 2012; Stephens & Wand, 2012). L'un des effets majeurs du cortisol est d'augmenter la disponibilité d'énergie en potentialisant les niveaux de glucose sanguin et en stimulant le métabolisme des graisses et des protéines afin de fournir davantage de nutriments aux muscles, préparant ainsi le corps à réagir rapidement et efficacement. La réponse saine face au stress se caractérise ainsi par une hausse initiale des niveaux de cortisol, suivie d'une diminution rapide dès que la menace est éliminée (Rivier & Lee, 1996). La personnalité, l'hérédité et le mode de vie jouent un rôle crucial dans la façon dont un individu gère le stress, en particulier lorsqu'il s'agit de la consommation d'alcool. Les individus qui ont tendance à se concentrer sur les aspects positifs de la vie, qui maintiennent une attitude optimiste face aux défis et qui utilisent des stratégies de résolution de problèmes et de planification sont généralement plus résilients face au stress et à ses troubles associés, tels que le TUA (NIAAA, 2012). Ces facteurs combinés influencent la manière dont un individu fait face aux pressions et aux tensions de la vie quotidienne. Par exemple, une personnalité plus optimiste peut aider à maintenir une perspective positive même dans des situations stressantes, pouvant ainsi réduire le recours à l'alcool comme mécanisme d'adaptation. De plus, des facteurs héréditaires peuvent prédisposer certains individus à une plus grande vulnérabilité au syndrome alcoolique, ce qui peut nécessiter une gestion plus proactive du stress pour éviter de développer des problèmes liés à la consommation d'alcool. Le mode de vie, y compris les habitudes de santé, les relations sociales et les choix comportementaux, peuvent également influencer la capacité d'une personne à faire face au stress de manière saine et à éviter les comportements de consommation excessive d'alcool et les comportements plus addictogènes. En outre, les caractéristiques de personnalité liées à la résilience sont nettement contrastées par rapport à celles associées à un risque accru de troubles liés à l'utilisation de substances, comme l'impulsivité, la recherche de nouveauté, l'émotivité négative et l'anxiété (Alim et al., 2012; Huffine et al., 1989; Smith & Randall, 2012).

Dans le cadre des efforts collectifs visant à contrôler la propagation de la pandémie de COVID-19, des mesures de distanciation physique et d'hygiène ont été largement mises en œuvre à travers le monde. Outre les consignes sanitaires du lavage régulier des mains et du port du masque bucco-nasal, plusieurs pays ont opéré des changements drastiques et soudains sur le plan social afin de freiner la propagation du virus et de lisser la courbe de la pandémie dans le but de préserver les ressources de santé. La demande adressée aux citoyens de rester autant que possible à leur domicile a notamment fait l'objet d'un de ces changements (Vanderbruggen et al., 2020). Nous savons que la mise en quarantaine ou l'isolement social sont des situations stressantes pouvant potentiellement entraîner des problèmes psychologiques, en particulier chez les personnes âgées, les individus issus de milieux socio-économiques défavorisés et ceux souffrant de problèmes de santé mentale préexistants (Bragard et al., 2022; Usher et al., 2020). Parmi les nombreux problèmes psychologiques recensés figurent l'anxiété, la dépression, le stress aigu, l'insomnie, les troubles de stress post-traumatique et les comportements toxicomanogènes (Bansal et al., 2020; Beseler et al., 2011; Usher et al., 2020). En Belgique, durant le confinement lié à la crise du COVID-19, de nombreuses personnes ont rapporté une augmentation significative de leur consommation d'alcool par rapport à la période précédente. Cette augmentation était négativement liée à l'âge et positivement liée au nombre d'enfants composant le ménage, au chômage et aux responsabilités familiales. L'ennui, la perte de structure quotidienne, la récompense après une dure journée de travail, la convivialité, le manque de contacts sociaux et enfin le sentiment de solitude étaient les principales raisons de la consommation (Vanderbruggen et al., 2020).

2. Entre vulnérabilité et tentations : l'adolescence comme période critique

L'adolescence constitue une période neurodéveloppementale de transition cruciale dans la vie d'un individu, marquée par de profonds changements physiques, cognitifs, émotionnels et sociaux. Cette période de vie se caractérise également par une phase où la vulnérabilité aux comportements addictogènes, tels que l'initiation à la consommation d'alcool, atteint des niveaux particulièrement élevés (Lees et al., 2020; Romer et al., 2017; Spear, 2015; Steinberg, 2010). Pendant cette phase développementale, les individus se trouvent confrontés à de multiples facteurs de stress, tels que la pression sociale, les changements hormonaux ou les défis relatifs à l'identité et à l'autonomie. L'adolescence se distingue en outre par des aspects cognitifs qui incluent une sensibilité accrue à la récompense, une recherche de sensations, de nouveauté et d'approbation, des comportements impulsifs, ainsi qu'une relative instabilité du contrôle de soi liée à une désinhibition émotionnelle et comportementale. Ces éléments peuvent souvent conduire à la prise de décisions impulsives et dériver vers un autoguidage des émotions plutôt qu'à la rationalisation (Lees et al., 2020; Shulman et al., 2016). Cet ensemble de facteurs peut rendre l'individu plus sensible aux tentations et aux influences extérieures, l'exposant alors à des taux plus élevés d'engagement dans des comportements ordaliques en rapport avec les substances tels que l'initiation et l'escalade de la consommation d'alcool, de nicotine, de cannabis et d'autres drogues. Par conséquent, cet ensemble de facteurs potentialise considérablement le risque de développer un trouble d'utilisation d'alcool et un syndrome d'addiction futur, tissant ainsi une toile complexe entre la vulnérabilité et la voie périlleuse vers le syndrome (Romer et al., 2017; Spear, 2000a, 2015, 2018).

Nous identifions aujourd'hui deux schémas de consommation d'alcool particulièrement préoccupants chez les adolescents, agissant en outre comme des facteurs de vulnérabilité pouvant entraîner des problèmes de consommation plus sévères à l'âge adulte. Il s'agit de l'initiation précoce de la consommation et de

l'adoption de comportements de consommation excessive comme le *binge drinking* (Brunborg et al., 2022; Lannoy et al., 2021; Maurage et al., 2020; Windle & Zucker, 2010). Brièvement discuté dans le premier chapitre, le *binge drinking* se retrouve le plus souvent dans la tranche d'âge de l'adolescence et du jeune adulte. L'initiation précoce à la consommation d'alcool et le *binge drinking* sont étroitement liés à de nombreuses conséquences négatives à court terme, telles que des *blackouts*, des « gueules de bois » et des intoxications répétées, et à long terme, comme des troubles chroniques liés à la consommation d'alcool et/ou d'autres drogues (escalade), à des problèmes de santé mentale, des comportements sexuels à risque, des blessures récurrentes, une exposition accrue à la violence ou encore au risque de suicide (Lees et al., 2019). De nombreux facteurs contribuent indubitablement aux niveaux élevés de consommation d'alcool pendant l'adolescence et au début de l'âge adulte, et il est par ailleurs probable que les changements maturatifs cérébraux y exercent un rôle central. Au cœur de l'adolescence (entre 14 et 17 ans), les régions limbiques sous-corticales, responsables de la modulation de la récompense, des émotions et des motivations impulsives, connaissent un pic développemental majeur (Lees et al., 2019; Shulman et al., 2016). Ce déséquilibre dans le développement des régions cérébrales est considéré comme régisseur d'un biais de récompense amplifiant l'attrait des individus à la recherche d'activités nouvelles et risquées, incluant notamment la consommation d'alcool et de substances (Casey et al., 2008; Squeglia et al., 2015; Squeglia & Cservenka, 2017; Steinberg, 2010). D'autres éléments suggèrent que des trajectoires développementales neuronales et cognitives déviantes peuvent accroître le risque d'initiation à l'alcool chez certains adolescents (Squeglia & Cservenka, 2017). Étant donné que le *binge drinking* caractérise le modèle de consommation prédominant chez les adolescents et les jeunes adultes, il est impératif d'explorer comment ce schéma de consommation est lié aux anomalies observées dans le développement cérébral. Des études approfondies permettraient en outre de mieux comprendre les liens entre cette habitude de consommation excessive et les altérations cérébrales, tout en mettant

en évidence les impacts sur la santé cognitive, les fonctions exécutives et le développement neuronal (Lees et al., 2019; Spear, 2018).

Un certain nombre d'études longitudinales et de revues, axées sur la neuropsychologie, la neuroimagerie et la neurophysiologie, ont permis d'identifier des conséquences cognitives et neurales liées directement à l'initiation précoce de la consommation et à l'hyperalcoolisation chez les adolescents (Brown et al., 2015; Hermens et al., 2013; Maurage et al., 2020; Petit et al., 2014; Schumann et al., 2010; Volkow et al., 2018). Globalement, il a été observé que la consommation abusive d'alcool chez les adolescents avait des effets néfastes sur les fonctions cognitives, la structure et la fonction cérébrale (Chwedorowicz et al., 2017; Lees et al., 2020; Petit et al., 2014). Plusieurs études ont porté leur attention sur les répercussions cérébrales structurelles des troubles en lien avec la consommation d'alcool chez les adolescents et les jeunes adultes âgés de 13 à 24 ans. Ces troubles ont notamment été associés fréquemment à des altérations des volumes du thalamus et du putamen, ainsi qu'à une réduction de la densité de la matière grise (Fein et al., 2013; Jacobus & Tapert, 2013). En outre, une diminution des volumes de l'hippocampe bilatéral et du lobe préfrontal (De Bellis et al., 2000, 2005), ainsi qu'une diminution de la diffusivité moyenne dans le corps calleux sont observées (De Bellis et al., 2008). La pratique du *binge drinking* a été spécifiquement reliée à une diminution plus rapide du volume de matière grise et à des altérations préoccupantes de la substance blanche dans certaines régions cruciales du cerveau, en particulier les régions frontales, temporales et pariétales (Jacobus & Tapert, 2013; McQueeney et al., 2009). D'autres études ont également démontré que le *binge drinking* est associé à des volumes cérébelleux réduits, potentialisant ainsi le risque de répercussions sur le contrôle moteur et la coordination (Cservenka et al., 2015; Lisdahl et al., 2013), ainsi qu'à des changements dans l'épaisseur corticale, suggérant des altérations dans la structure même du cortex cérébral (Squeglia et al., 2012; Squeglia & Cservenka, 2017; Vetreno et al., 2014).

Selon la perspective neuropsychologique, des batteries de tests peuvent ouvrir une précieuse fenêtre sur l'évolution des fonctions cognitives au fil du temps, permettant ainsi de déceler d'éventuelles conséquences de la consommation d'alcool sur la cognition et le développement intellectuel. Chez les adolescents, les déficits engendrés par la consommation sont vraisemblablement encore plus préoccupants que chez les adultes étant donné que l'atteinte des objectifs de développement les plus critiques de cette période, tels que l'accès à l'éducation, l'apprentissage et le bon développement neural, sont déterminants (Lees et al., 2020). Une étude a entre autres révélé que la consommation d'alcool entre 12 et 14 ans prédit une réussite scolaire significativement moindre dans les années subséquentes, et ce, après avoir pris en compte des variables confondantes tels que le sexe et les comportements externalisés (Latvala et al., 2014). De plus, la consommation excessive d'alcool chez les adolescents est également associée à un déficit cognitif global significatif, à l'image des altérations spécifiques dans la prise de décision et l'inhibition, des déficits dans l'attention, la mémoire et les fonctions visuospatiales (Jacobus & Tapert, 2013; Lees et al., 2019). Dans l'ensemble, selon une enquête américaine de la fin du siècle dernier, nous estimions que les taux d'addiction alcoolique chez les individus ayant débuté leur consommation avant l'âge de 14 ans étaient plus de quatre fois supérieurs à ceux qui n'ont pas débuté leur consommation avant l'âge de 20 ans (Grant & Dawson, 1997). Selon cette étude longitudinale, la vulnérabilité liée à l'âge de la première véritable consommation d'alcool, caractérisée ici en tant que premiers verres consommés en excluant les tentatives et les comportements hésitants, est corrélée avec des risques considérablement accrus au développement du TUA entre 11 et 14 ans. Selon d'autres données plus récentes, les individus ayant débuté leur consommation d'alcool avant l'âge de 13 ans sont environ trois fois plus vulnérables à l'adoption de comportements de *binge drinking* répétés et de consommation abusive (plus de 10 verres standards) au minimum six fois par mois à l'âge de 17 ans (Youth Risk Behavior Survey, 2008, cité par Hingson et al., 2009).

Tout comme chez l'être humain, l'adolescence représente une étape cruciale du développement chez toutes les espèces de mammifères. L'adolescence est, par ailleurs, définie de la même manière dans le règne mammalien, en tant que période de transition cruciale entre l'enfance et l'âge adulte. Dans une perspective préclinique, en raison de cette neuroplasticité élevée, il est largement reconnu que l'adolescence mammalienne constitue également une période sensible pour le développement d'altérations comportementales liées aux substances addictogènes. Au fil des années, les chercheurs se sont tournés vers des modèles animaux, notamment les rongeurs, afin d'étudier l'incidence des effets de l'alcool sur le cerveau des individus adolescents. Ces études ont d'ailleurs permis d'obtenir des résultats remarquablement concordants avec les recherches menées chez le sujet humain. Ces découvertes ont non seulement enrichi la compréhension des altérations comportementales associées à la consommation d'alcool chez les adolescents, mais elles ont également ouvert de précieuses perspectives pour la recherche préclinique et les interventions préventives. En réalité, la compréhension des mécanismes sous-jacents des effets néfastes de l'alcool sur le cerveau de l'animal en développement peut rendre possible le déploiement d'approches thérapeutiques et préventives efficaces, comme des programmes d'éducation, de sensibilisation et de soutien spécifiquement adaptés aux adolescents. Ces stratégies peuvent en outre viser à réduire les risques de consommation problématique d'alcool à l'adolescence et à atténuer les conséquences à long terme, en favorisant un développement équilibré de l'individu jusqu'à l'âge adulte.

Les études menées chez le rongeur permettent de simuler et d'observer les effets de la consommation d'alcool à l'adolescence dans un environnement expérimental contrôlé. Ces modèles fournissent notamment des informations précieuses sur les mécanismes biologiques sous-jacents des effets de l'alcool sur le cerveau en cours de développement. Ils permettent également de mesurer les conséquences à long terme de cette exposition précoce, telles que les altérations cognitives et cérébrales, les troubles émotionnels et les risques accrus de développer un

syndrome d'addiction à l'âge adulte (Lees et al., 2020; Spear, 2018). Des études menées sur certaines souches de souris et de rats concordent en partie avec les recherches menées chez l'être humain et démontrent que la consommation d'alcool à l'adolescence prédit des altérations significatives des fonctions exécutives à l'âge adulte (Coleman et al., 2011, 2014; Gass et al., 2014; Miller et al., 2017). L'exposition à l'alcool pendant l'adolescence est également associée à une inhibition réduite, pouvant potentialiser une impulsivité accrue et une propension à la prise de risques à l'âge adulte (Desikan et al., 2014; Torcaso et al., 2017). Des effets similaires à ceux rencontrés chez l'humain sont observés chez des rongeurs mâles et femelles concernant l'apprentissage et la mémoire pendant l'adolescence (Drissi et al., 2020; Marco et al., 2017; Tapia-Rojas et al., 2018). Au niveau neural, la consommation d'alcool à l'adolescence entraîne à l'âge adulte, tout comme chez l'humain, une altération générale du développement, caractérisé par une réduction du volume du corps calleux, une diminution de l'épaisseur des régions frontales, une diminution de la connectivité entre les régions frontales, le noyau accumbens et le striatum dorsal, une altération de l'intégrité de la matière blanche et une perturbation de la plasticité synaptique (Alaux-Cantin et al., 2013; Drissi et al., 2020; Medina et al., 2008; Spear, 2016; Vetreno et al., 2014). L'exposition à l'alcool pendant l'adolescence induit également une activation du système immunitaire inné dans les régions corticales frontales, ainsi que des altérations comportementales à court et à long terme, comme des comportements anxieux (Montesinos et al., 2016; Pandey et al., 2015; Van Hees et al., 2022) et certains comportements sociaux, la recherche de nouveauté ou les comportements à risque (Alfonso-Loeches et al., 2013; Crews et al., 2007; Guerri & Pascual, 2019; Maldonado-Devincci et al., 2010; Pascual et al., 2007). Des recherches effectuées chez des primates non humains viennent également corroborer les découvertes chez le rongeur. Dans une étude récente menée chez le macaque rhésus, l'imagerie cérébrale a pu démontrer que le volume cérébral de sujets sains, n'ayant pas été exposés à l'alcool l'année précédente, augmentait tout au long de l'adolescence jusqu'au début de l'âge

adulte. En revanche, des macaques ayant consommé oralement de l'alcool en quantité conséquente durant l'année écoulée manifestaient des taux de croissance cérébrale réduits au cours de la période de suivi, notamment dans la matière blanche et la région du thalamus (Shnitko et al., 2019).

La majorité des études susmentionnées emploie des administrations d'alcool s'apparentant à un *binge drinking*, impliquant une exposition passive, généralement forcée et répétée, à des niveaux élevés d'alcool, par exemple au moyen d'injections intrapéritonéales, de gavage gastrique ou d'inhalation de vapeur d'alcool. Cependant, peu d'études ont investigué les conséquences comportementales de la consommation orale volontaire d'alcool pendant l'adolescence. L'administration forcée aiguë et la consommation volontaire orale d'alcool constituent toutes deux des procédures expérimentales très différentes, entraînant des profils d'absorption et des concentrations sanguines d'éthanol distinctes. Comme mentionné brièvement dans le deuxième chapitre, la consommation orale volontaire d'alcool chez le rongeur de laboratoire est une méthode fréquemment utilisée pour étudier les effets de l'alcool sur le comportement et les processus physiologiques. Cette méthode offre l'opportunité d'observer et d'explorer de près la manière dont les rongeurs répondent et interagissent avec l'alcool, ainsi que les répercussions qui en découlent en cas de consommation. Il est également pertinent de souligner que, bien que l'absorption volontaire d'alcool par voie orale offre des perspectives pour l'étude de certains aspects de la consommation, elle ne reproduit pas de manière exhaustive le comportement de *binge drinking* observé chez les êtres humains. Le *binge drinking* implique une consommation excessive et rapide d'alcool sur une courte période et celle-ci est difficilement reproductible chez les rongeurs en raison de leurs différences physiologiques, métaboliques et comportementales. Néanmoins, les méthodes de consommation volontaire demeurent parmi les modèles les plus fréquemment employés malgré les écueils de contrôle expérimental. Une récente étude a d'ailleurs été menée dans nos laboratoires en utilisant la technique du *Drinking in the Dark* chez la souris adolescente (Van Hees et al., 2022). Cette

étude démontre que la consommation orale volontaire d'alcool chez des souris adolescentes potentialise le développement de comportements apparentés l'anxiété et de symptômes dépressifs, entraîne des déficits dans la récupération mnésique et l'apprentissage spatial, altère la flexibilité comportementale et augmente l'attrait et la consommation volontaire d'alcool à l'âge adulte, sans aucun signe précurseur apparent pendant la période d'adolescence. Notons également que ces données suggèrent que l'exposition à l'alcool affecte de manière similaire les comportements entre les mâles et les femelles. De plus, les comportements mesurés à l'adolescence ne sont pas impactés par la consommation d'alcool, suggérant ainsi que les altérations comportementales liées à l'alcool constituent un processus progressif et insidieux dont les conséquences n'apparaissent qu'à l'âge adulte.

3. Rôle préventif de l'enrichissement : une perspective prometteuse

Chez l'être humain, l'enrichissement du milieu de vie se réfère généralement à une stratégie visant à créer un milieu propice, englobant les aspects physiques, sociaux, émotionnels et intellectuels, afin de favoriser le développement, l'apprentissage, l'épanouissement personnel et le bien-être global menant à une amélioration de la qualité de vie. L'enrichissement du milieu de vie peut prendre de nombreuses formes, telles que l'accès à l'éducation, à la culture, à des activités sociales et récréatives, à des expériences d'apprentissage stimulantes, à des interactions sociales positives ou à un environnement physique sûr et stimulant, contribuant au développement global de l'individu (VanderWeele, 2017). L'enrichissement est aujourd'hui largement reconnu comme jouant un rôle préventif et stimulant essentiel dans de nombreuses facettes de la vie, offrant notamment une perspective prometteuse dans l'amélioration du bien-être et le développement de l'épanouissement personnel. Que ce soit dans le domaine de l'éducation, de la santé mentale, de la gestion du stress, de la prévention des pathologies ou dans les études neurobiologiques, l'enrichissement propose une approche holistique visant à renforcer les ressources et les capacités des individus. En fournissant des opportunités d'apprentissage, de développement personnel et d'exploration créative, l'enrichissement permet de cultiver une réserve de compétences, de connaissances et la capacité de résilience favorisant la relève de nombreux défis de la vie et potentialisant les niveaux de self-confiance et de sérénité (VanderWeele, 2017). Cette perspective souligne ainsi l'importance d'investir dans des environnements enrichissants favorisant la croissance et l'épanouissement tout au long du processus de neurodéveloppement, notamment dans l'enfance et l'adolescence.

L'enrichissement et le cerveau entretiennent par ailleurs une relation très étroite. De nombreuses études précliniques ont démontré que l'exposition à un environnement stimulant et diversifié exerce un impact positif sur la structure et la

fonction cérébrale (voir Benefiel et al., 2005; Kempermann, 2019; Kempermann et al., 1997; Rosenzweig, 1966; Rosenzweig & Bennett, 1972; Scholz et al., 2015). Une potentialisation de la neuroplasticité peut s'observer dès lors que le milieu de vie offre des expériences variées, à l'instar des interactions sociales, des défis cognitifs, des activités physiques ou encore de l'acquisition de nouvelles connaissances. En d'autres termes, le cerveau est capable de s'adapter et de se reconfigurer en réponse à ces stimulations. Ces adaptations sont souvent associées à une augmentation du nombre de connexions synaptiques, de ramifications dendritiques, à la formation de nouveaux neurones et à l'amélioration des capacités cognitives telles que la mémoire, l'apprentissage et l'attention (cf. section 4).

Les études neurobiologiques humaines sont tout logiquement limitées en raison de la nécessité d'études histologiques cérébrales. Néanmoins, certaines recherches ont démontré une corrélation positive entre le niveau d'éducation et une augmentation de la complexité des épines dendritiques, comme en témoignent des autopsies réalisées sur divers échantillons de tissus cérébraux humains (Jacobs et al., 1993; Joseph, 1999). Ainsi, des preuves de variations dendritiques significatives d'une personne à l'autre sont avérées, correspondant généralement aux parcours différentiels des individus. À l'opposé, l'isolement social et la solitude ont été largement identifiés comme des formes de stress psychosocial chronique, tant chez les animaux que chez les êtres humains (Farbstein et al., 2021). En ce sens, les études humaines ont révélé un risque accru de maladies mentales, notamment la dépression, l'anxiété chronique et la consommation de substances (Chou et al., 2011). D'autres auteurs confirment que l'isolement social peut prédire la mortalité due à certains cancers (Fleisch Marcus et al., 2017; Leigh-Hunt et al., 2017). Chez les patients atteints de cancer en isolement social, des changements immunologiques ont également été observés, en particulier une augmentation de la charge inflammatoire (Yang et al., 2014). Au niveau sociocognitif, quelques études menées sur des orphelins ont aussi révélé que les enfants ayant connu une privation environnementale importante, par

exemple un isolement social ou un manque de personnes de confiance référentes dans des orphelinats pauvres et délabrés, présentaient des retards importants dans le développement cognitif, principalement au niveau du langage, de l'intelligence et des compétences académiques. De plus, ces enfants exprimaient des difficultés dans le développement social, comme les interactions avec les autres résidents ou encore l'attachement et la régulation des émotions (Kaler & Freeman, 1994). Une autre étude a indiqué que certains enfants adoptés issus d'orphelinats, ayant vécu une privation environnementale précoce et sévère, présentaient des comportements et des traits similaires à ceux du spectre autistique. Au point de vue neurobiologique, le même pattern de résultats que chez l'animal est observable, comme des altérations dans le cortex préfrontal et temporal, l'amygdale et l'hippocampe, constituant les principaux circuits neuronaux impliqués dans les processus cognitifs, émotionnels et sociaux (Chugani et al., 2001).

La majorité des études scientifiques portant sur l'influence de l'environnement ont été initialement menées sur des modèles murins, suivant l'objectif principal d'investiguer les conséquences de l'expérience de l'enrichissement sur la structure et la fonction cérébrale. En outre, des observations similaires ont été constatées chez les primates non humains, illustrant des effets comparables sur la complexité synaptique et dendritique du cerveau humain (Kozorovitskiy et al., 2005). Dans le cadre du présent travail, nous avons principalement orienté nos recherches vers l'enrichissement des souris de laboratoire dans le but d'explorer de manière approfondie les effets préventifs d'un environnement potentiellement stimulant. Chaque espèce animale captive manifeste des besoins, des comportements et des réponses spécifiques à l'environnement d'hébergement qui lui est assigné. Il est donc crucial de prendre en considération cette diversité en relation avec les objectifs des études expérimentales en cours. Les résultats obtenus chez les rongeurs de laboratoire peuvent donc différer de ceux observés chez d'autres espèces animales, comme les lapins, les primates non humains ou encore les poissons. Néanmoins, les études utilisant les rongeurs de laboratoire fournissent

des indications précieuses sur les effets bénéfiques de l'enrichissement environnemental sur le développement cognitif, émotionnel, comportemental, ainsi que sur les effets potentiels de certaines substances, comme nous le verrons ultérieurement.

3.1. Optimiser le bien-être des rongeurs de laboratoire : enrichissement et raffinement

La notion d'enrichissement environnemental se voit souvent revêtir plusieurs interprétations. Ses définitions, ses applications et les standards attendus sont par ailleurs en perpétuelle évolution depuis de nombreuses décennies. Toutefois, la grande majorité des scientifiques s'accorde sur les objectifs principaux et les conséquences de l'enrichissement environnemental chez l'animal. De manière générale, l'enrichissement environnemental de l'hébergement (EE) est très souvent défini comme l'exposition d'animaux captifs à diverses modifications de leur environnement de vie, permettant d'exprimer autant que possible leur répertoire éthologique et visant à améliorer leur bien-être physiologique et psychologique, en leur fournissant des stimulations en rapport avec les besoins spécifiques de leur espèce (Baumans, 2005; Baumans & Van Loo, 2013; Fraser, 2009; Newberry, 1995; Sztainberg & Chen, 2010; Wolfle, 2005). Chez le rongeur de laboratoire, l'environnement d'hébergement se compose généralement de deux sous-environnements : le microenvironnement et le macroenvironnement. Le microenvironnement englobe l'environnement brut ou immédiat de l'animal, comprenant l'aspect social, notamment la cohabitation avec d'autres congénères et les interactions avec le personnel scientifique. Il inclut majoritairement l'environnement physique, qui se réfère à la cage elle-même, son contenu physique et sa complexité, tels que la présence d'objets, d'abris ou de nids. Les processus d'enrichissement de l'environnement se concentrent principalement sur le microenvironnement. Le macroenvironnement, quant à lui, concerne l'environnement de maintenance, intégrant généralement la salle d'animalerie. Le macroenvironnement est caractérisé par des aspects plus larges tels que les

conditions de température, d'humidité, d'éclairage, de niveau sonore, ainsi que la présence potentielle de pathogènes (Lutz & Novak, 2005; National Research Council, 2011).

L'utilisation de la souris comme modèle animal préclinique a connu une popularité croissante au début du 20^{ème} siècle. La question de savoir pourquoi la souris domestique a été initialement choisie, et reste d'ailleurs l'animal de laboratoire le plus populaire actuellement, se révèle assez simple : son succès dans la nature. La souris, *Mus musculus*, est de petite taille, incroyablement adaptative dans presque toutes les circonstances, possède globalement un taux de fertilité très élevé et une reproduction très rapide. De plus, ce mammifère partage environ 90% de son patrimoine génétique avec celui de l'être humain. Au début du 19^{ème} siècle, certaines personnes, fascinées par cette petite créature agile aux caractéristiques polymorphiques étonnantes, en ont commencé l'élevage comme animaux de compagnie selon des caractéristiques spécifiques qui furent appréciées, telles que la couleur du pelage. En ce sens, des souris du monde entier étaient échangées pour créer de nouvelles lignées. Depuis le développement de la science expérimentale à la fin du 19^{ème} siècle, l'utilisation des souris domestiques spécifiquement élevées devenait une étape logique, ainsi, les éleveurs et les chercheurs ont notamment commencé à développer différentes souches de souris de laboratoire grâce à des pratiques de sélection consanguine (Animal Welfare Institute, 2015). Parmi ces souches bien établies, on retrouve les plus répandues comme la C57BL/6J (black 6), la BALB/c et la DBA. Au fil du temps, les avancées technologiques dans le domaine de la reproduction assistée ont également permis la création de souris transgéniques, tandis que des mutations spontanées ont contribué à la diversité des souches subsistantes. Ces progrès ont ainsi ouvert la voie à la création de souches spécifiques manifestant une surexpression ou une sous-expression de certains gènes ou de certaines caractéristiques particulières. Par conséquent, une multitude de variations génétiques et phénotypiques ont émergé parmi ces modèles, ces variations étant d'ailleurs essentielles pour les chercheurs, car elles permettent d'étudier l'influence spécifique de certains gènes

ou certains traits sur la santé et le comportement murin (Hutchinson et al., 2005; Knight & Abbott, 2002). À partir des années 1950, une amplification de la demande de modèles animaux de haute qualité et les premières critiques répandues concernant la surutilisation des animaux à des fins expérimentales ont donné naissance à la Science des Animaux de Laboratoire (Baumans & Van Loo, 2013). En 2015, on estimait à plus de 192 millions le nombre d'animaux de laboratoire utilisés au courant de l'année écoulée dans le monde. En Belgique, nous estimons actuellement ce chiffre à environ 540 000 tous les ans (GAIA, 2023). Depuis de nombreuses décennies, et encore aujourd'hui, les souris et les rats représentent toujours environ 90% de toutes les espèces utilisées dans les laboratoires (Balcombe, 2006; Olsson & Westlund, 2007). En raison de la pression et des contraintes liées à la publication (« *publish or perish* »), de la recherche obsessionnelle, voire pathologique de résultats, de la crise de la reproductibilité scientifique et, conjointement, de la pression croissante des organismes de protection animale, la Science des Animaux de Laboratoire s'efforce depuis de nombreuses années d'améliorer la qualité des expériences précliniques et de promouvoir le bien-être animal dans les laboratoires. Les lignes directrices de cette discipline, introduites par Russell et Burch en 1959, sont connues sous le nom de « Règle des 3 R » : Remplacement, Réduction et Raffinement (Baumans, 2005; Baumans & Van Loo, 2013; Fischer et al., 2021; National Research Council, 2011; Zurlo & Hutchinson, 2014). Le remplacement consiste à substituer les animaux vivants par des techniques alternatives *in vitro*, par exemple, des cellules ou des tissus, ou par l'utilisation d'organismes inférieurs tels que les levures, par la génomique ou encore par des techniques *in silico*. La réduction implique la minimisation du nombre d'animaux à prévoir sans compromettre les objectifs de l'étude. À cet égard, un effectif minimum peut se réaliser en calculant de manière plus précise le nombre d'animaux nécessaire pour chaque groupe expérimental en fonction des analyses statistiques à effectuer. La réduction est régulièrement mise en œuvre via l'élaboration de statistiques d'analyse de puissance et de taille d'effets à priori. La réduction englobe également la standardisation des animaux

en termes de génotype et de qualité microbiologique, des procédures expérimentales et de l'environnement d'hébergement, comme l'alimentation et la standardisation de la température et de l'humidité dans l'animalerie. Actuellement, une grande importance est accordée à la standardisation dans le but de mener à une diminution de la variabilité observée au sein d'une même expérience, ainsi qu'entre différentes expériences répliquées, augmentant ainsi la fiabilité des résultats au sein et entre les laboratoires. L'enrichissement environnemental peut contribuer indirectement au principe de réduction ; des environnements adaptés le plus spécifiquement possible à l'animal ne peuvent que favoriser l'obtention de résultats scientifiques robustes et fiables, se traduisant ultérieurement en une minimisation de l'effectif d'animaux utilisé et de la souffrance animale. Enfin, le raffinement consiste à réduire la douleur, l'inconfort ou les comportements antagonistes durablement, par exemple, en fournissant une anesthésie, une analgésie et des soins adéquats, ainsi qu'en garantissant les compétences du chercheur et du personnel d'animalerie. Le raffinement peut être réalisé par l'éducation et la formation, l'amélioration des procédures expérimentales et l'établissement d'un point limite, où l'animal est euthanasié afin de prévenir toute souffrance. L'enrichissement environnemental contribue directement au principe de raffinement, il peut être obtenu en traduisant les besoins comportementaux et physiologiques intrinsèques de l'animal en une gestion et un contrôle appropriés de l'environnement d'hébergement (Baumans & Van Loo, 2013; Franco et al., 2023; Hutchinson et al., 2005; Zurlo & Hutchinson, 2014). Au fil de l'évolution de la recherche préclinique, la Règle des 3 R est devenue une méthode largement reconnue à l'échelle internationale. Dans l'Union européenne, la Directive 2010/63/UE exige que les chercheurs mettent en œuvre les 3 R lorsqu'ils envisagent d'utiliser des animaux dans leurs études et lorsqu'ils conçoivent des protocoles de recherche se devant de respecter toutes les propriétés du bien-être animal. De même, aux États-Unis, le *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (*National Institutes of Health* ou *NIH*) encourage l'application des 3 R dans

la recherche animale, bien que celle-ci ne soit pas nécessairement obligatoire au niveau fédéral.

Globalement, la majorité des chercheurs soutiennent de concert que l'enrichissement implique une amélioration ou une optimisation de l'hébergement. Néanmoins, l'enrichissement est encore trop souvent utilisé de manière inconsistante (Newberry, 1995), notamment pour décrire différentes modifications environnementales effectuées, par exemple sociales, physiques, sensorielles ou alimentaires, sans évaluer les résultats réellement obtenus à la suite du protocole et sans se référer aux besoins spécifiques et éthologiques de l'espèce étudiée. Par ailleurs, certains chercheurs considèrent encore l'enrichissement comme le synonyme d'une augmentation de la complexité de l'environnement (Bayne, 2018). Concrètement, les traitements environnementaux peuvent être qualifiés et étiquetés comme appauvris ou enrichis, même avant de disposer de preuves concrètes d'un effet réellement bénéfique. En neurosciences notamment, le terme « enrichissement environnemental » est pratiquement toujours surutilisé, ce dernier se base trop souvent sur les effets stimulants de la nouveauté, en modifiant régulièrement le complexe d'hébergement dans le but d'investiguer les conséquences, à priori bénéfiques, sur la plasticité cérébrale (voir Kempermann, 2019; Mohammed et al., 2002). Dans la recherche en neurosciences, le terme « enrichi » se rapporte généralement à une large cage d'hébergement complexifiée comprenant une variété d'objets et un vaste groupe social de rongeurs y cohabitant. Au parfait opposé, le terme « appauvri » concerne à chaque fois une condition d'isolement sans aucune stimulation physique proposée ; ces cages se composent généralement uniquement de litière et de vivres (Hall, 1998). Entre les deux, il est fréquent de retrouver une condition d'hébergement dite « standard », composé de deux ou trois rongeurs dans une cage plus conventionnelle ou une condition d'hébergement individuelle comprenant uniquement du matériel de nidification (Makowska et al., 2019; Mohammed et al., 2002; Olsson & Dahlborn, 2002). En réalité, la vision de l'enrichissement par la neurosciences différencierait de la vision éthologique, c'est-à-dire l'idée d'amélioration

du bien-être animal grâce à la mise en œuvre d'optimisations appropriées et centrées sur les besoins spécifiques propres à l'espèce utilisée. Selon Baumans (2005), le terme « enrichissement » évoque une certaine forme de luxe, tandis que le terme de « besoins » implique des exigences, donc une nécessité. Dans le contexte des animaux de laboratoire, le terme « enrichissement » consisterait en l'ajout d'éléments ou d'activités qui améliorent potentiellement la qualité de vie des animaux. L'enrichissement vise à fournir un environnement plus stimulant et plus adapté aux besoins comportementaux et cognitifs des animaux. D'un autre côté, le terme « besoins » se réfère aux exigences fondamentales physiologiques, émotionnelles et éthologiques spécifiques à l'espèce. Ainsi, le terme « enrichissement » est régi par le principe du « *thinking outside the cage* », il souligne l'importance d'offrir aux animaux des opportunités supplémentaires allant au-delà de leurs besoins de base afin de favoriser leur épanouissement et leur bien-être global (Balcombe, 2010). D'autre part, l'utilisation du terme « besoins » souligne l'obligation de satisfaire les exigences essentielles pour la survie et la santé psychique et physique, c'est-à-dire les besoins fondamentaux, intrinsèquement ancrés dans le patrimoine génétique de l'animal. Dans cette perspective, nous utilisons le terme de « raffinement » en le reliant au principe du « *thinking inside the animal* ». Étant donné que chaque espèce évolue dans l'objectif de maximiser ses chances de survie, l'expression des comportements innés favorise tout logiquement l'homéostasie biologique et potentialise la santé physique et psychologique de l'animal (Hutchinson et al., 2005). Dans cette perspective, nous nous référerons alors généralement au principe de « raffinement environnemental » lorsque les besoins sont impliqués, et à celui « d'enrichissement environnemental », « d'optimisation environnementale » ou encore « d'amélioration environnementale » lorsque des opportunités supplémentaires sont envisagées. Le raffinement environnemental constitue désormais un processus constant et peut être combiné avec des stratégies supplémentaires en fournissant des stimulations allant au-delà de la simple satisfaction des besoins fondamentaux généralement pris en compte dans les

conditions d'hébergement « standards ». De surcroît, le raffinement et l'enrichissement environnemental ne doivent fournir aucun risque physique et psychologique à l'animal, ne doivent poser aucune contrainte au personnel scientifique, et ne doivent pas interférer avec les résultats des expériences (Bayne, 2005). Ces stratégies doivent offrir à l'animal le contrôle sur son environnement d'hébergement en satisfaisant non seulement ses besoins intrinsèques, mais également son bien-être général (Balcombe, 2006; Baumans & Van Loo, 2013; Hutchinson et al., 2005). Enfin, il nous semble particulièrement important de relever que toutes les initiatives d'enrichissement ne sont pas bénéfiques. Tout comme le principe d'ergonomie du travail chez l'être humain, il y a dès lors la nécessité d'introduire des processus d'évaluation des conséquences et de mise à jour des conditions d'hébergement afin d'adapter au mieux l'environnement à l'animal, et non l'inverse.

De nos jours, les conditions d'hébergement « standards » pour les rongeurs de laboratoire ont considérablement évolué. Depuis les deux dernières décennies, le raffinement environnemental des rongeurs consiste souvent à les héberger en groupes sociaux tout en leur fournissant du matériel nécessaire à la nidification, potentialisant ainsi les stimulations sensorielles et sociales intrinsèques (Balcombe, 2006; Baumans, 2005; Froberg-Fejko, 2008; Olsson & Dahlborn, 2002). Selon la Directive européenne 2010/63/EU et les guidelines pour la santé et la protection des animaux utilisés à des fins scientifiques (par exemple, ARRPs, ARRIVE ou la Règle des 3 R), les rongeurs doivent au minimum être hébergés dans une cage offrant du matériel de nidification, autant que possible dans un environnement socialement approprié et dans un environnement physique allant au-delà de la simple surface au sol. Des chercheurs ont effectivement montré que le matériel de nidification est une propriété essentielle chez le rongeur (Gross et al., 2011), notamment dans le comportement de construction du nid, pour se cacher et se reposer, ainsi que dans l'établissement du *huddling*, un comportement naturel inné de blottissement collectif servant entre autres à la thermorégulation (Bailoo et al., 2018; Gross et al., 2011; Nicol et al., 2008; Van de Weerd et al.,

1997). Par ailleurs, l'absence ou l'insuffisance de matériel de nidification potentialise le stress et les comportements anxieux et exerce un impact négatif sur l'apprentissage et la mémoire (Kuleskaya et al., 2011; Sztainberg & Chen, 2010). Un environnement raffiné expose les rongeurs à d'importantes conséquences bénéfiques, tant pour leur bien-être que pour la qualité des données de recherche qui seront obtenues (Bailoo et al., 2018; Olsson & Dahlborn, 2002; Olsson & Westlund, 2007; Sherwin, 2004). En revanche, les conditions standards, plus que datées, pour les souris et les rats, à savoir la simple disposition de litière et vivres, sont principalement conçues pour des raisons économiques (utilisation minimale de l'espace, de l'équipement et de la main-d'œuvre), ergonomiques (facilité de manipulation, visibilité des animaux), d'hygiène (facilité de désinfection), de standardisation (minimisation de la variabilité intra-expérience) et dans l'objectif de reproductibilité (Bailoo et al., 2018; Olsson et al., 2003). Ces conditions standards, plus spécifiquement l'hébergement individuel, restent à ce jour tolérées dans le cadre d'un protocole expérimental bien défini, mais demeurent tout de même difficilement acceptables d'un point de vue éthique ; celles-ci étant considérées comme une privation éthologique par rapport aux besoins fondamentaux de l'espèce, tant pour les rats que pour les souris (Jennings et al., 1998; Sherwin, 2004). Ces conditions appauvries, restrictives et dépourvues de stimulations physiques et sociales interfèrent négativement avec le développement et le fonctionnement cérébral, ainsi que le comportement des rongeurs (Benefiel et al., 2005; Du Preez et al., 2021). Ces hébergements sont également liés à des conditions de vie stressantes pouvant entraîner des comportements anormaux, tels qu'une augmentation de l'agressivité et des comportements auto-agressifs, des stéréotypies, du toilettage exacerbé et des comportements dépressifs (Bailoo et al., 2018; Kappel et al., 2017; Olsson & Dahlborn, 2002). Ces troubles restent moins évidents que d'autres états aversifs comme la douleur, toutefois, ceux-ci peuvent nuire au bien-être animal et compromettre certaines données expérimentales récoltées ultérieurement.

Selon Hutchinson (2005), en prenant en compte une grande partie des comportements innés des rongeurs, une stratégie de raffinement environnemental complète s'articulerait autour de quelques grandes catégories : la structure et le substrat de l'hébergement, les objets/jouets manipulables, le contact social et la nouveauté alimentaire. La structure et le substrat de l'hébergement se rapportent aux paramètres physiques du microenvironnement, tels que ses dimensions, sa forme, la litière et le nid, permettant à l'animal de se forger différents sous-environnements, d'expérimenter des textures ou des matériaux variés, ou d'exprimer des schémas naturels de déplacement. Les objets manipulables incluent tous les objets pouvant être modifiés par un animal ou le motiver à effectuer des mouvements fins, au moyen de blocs en bois ou des jouets à mâcher préfabriqués. Le raffinement alimentaire peut être proposé en fournissant des aliments non familiers ou en dissimulant de la nourriture afin de favoriser le comportement de *foraging* (recherche de nourriture). Le contact social peut consister en diverses interactions entre les animaux, allant d'un simple contact visuel ou auditif à l'hébergement social à faible ou grande population.

3.2. Stratégies de raffinement et d'enrichissement

Les différentes stratégies de raffinement et d'enrichissement environnemental couramment utilisées chez le rongeur de laboratoire peuvent être synthétisées en trois grandes catégories : la modalité physique, la modalité psychomotrice et la modalité sociale (Baumans, 2005; Hutchinson et al., 2005; Jennings et al., 1998; National Research Council, 2011; Newberry, 1995; Olsson & Dahlborn, 2002). Au sein de ces mêmes catégories, il est fréquent de retrouver d'autres stratégies diversifiées, comme la modalité cognitive, nutritionnelle ou sensorielle. Ci-dessous, nous décrivons succinctement les différentes stratégies de raffinement et d'enrichissement les plus couramment utilisées chez le rongeur. En outre, ces différentes stratégies d'enrichissement peuvent également être combinées pour l'élaboration d'environnements plus complexes et stimulants chez le rongeur. Dans le cadre du présent travail, nous nous focaliserons tout particulièrement sur les

manipulations sociales de l'hébergement, qui sont souvent délaissées, à tort, au profit du vaste éventail des manipulations physiques de l'environnement.

3.2.1. Modalité physique

Dans la majorité des rapports recensés, la modalité physique de l'environnement se décompose en trois composantes principales : le raffinement de la taille et du design de la cage d'hébergement, le raffinement lié aux besoins intrinsèques des rongeurs, et l'enrichissement physique de l'environnement. Aujourd'hui, il n'existe toujours pas de consensus clairement établi sur l'espace optimal à procurer aux rongeurs de laboratoire (Balcombe, 2006; Foltz et al., 2007; Svenson & Paigen, 2019), certaines tailles minimales de cage sont tout de même spécifiées et suggérées dans les différents guides et codes de bonne pratique de recherche (voir Directive européenne 2010/63/EU). Chez la souris, la quantité d'espace requise dépend de nombreux facteurs, notamment la souche, la taille du groupe et la familiarité avec les congénères, le statut reproductif, le cycle biologique ou l'objectif de recherche. L'âge est de même un facteur déterminant, les souris juvéniles expriment souvent un besoin d'espace plus généreux afin de faciliter les comportements de jeu et d'exploration essentiels à leur développement (Jennings et al., 1998). Les femelles gestantes et allaitantes ont besoin d'espaces de répit et de repos plus amples, alors que les mâles sollicitent davantage cet espace dans l'évitement des comportements agressifs (Marashi et al., 2004; Van Loo et al., 2002; Van Loo, Van de Weerd, et al., 2004). En termes de bien-être animal, la quantité d'espace disponible doit être envisagée pour chaque souris considérée individuellement, elle revêt par ailleurs une importance primordiale dans la détermination de la taille du groupe social possible, la capacité des animaux à reproduire des comportements nécessitant le déplacement ou l'exploration, ainsi que la possibilité de fournir un enrichissement physique supplémentaire. Une surface raffinée permet également aux souris de compartimenter les espaces de vie, par exemple un espace de repos, d'alimentation ou de toilettage (Baumans, 2005; Sherwin, 1996b, 2004). Le volume d'une cage d'hébergement est tout aussi

important que la surface au sol, les comportements murins se produisant dans les trois dimensions. Les souris sont hautement agiles et capables de grimper et descendre des surfaces verticales si elles offrent suffisamment d'appuis. Un plus grand volume permet encore de fournir un enrichissement physique supplémentaire (cf. pages suivantes). Toutefois, il est généralement recommandé de ne pas augmenter excessivement la hauteur de la cage sans fournir un accès à son couvercle, car les souris ont tendance à s'accrocher fréquemment aux grilles, notamment lorsqu'elles manifestent des comportements de *foraging*. Une option peu coûteuse consiste, entre autres, à les héberger dans de grandes cages dévolues initialement pour l'hébergement des rats ou, dans nos laboratoires, pour les élevages de souris Swiss juvéniles.

Le raffinement primordial répondant aux besoins intrinsèques des souris de laboratoire se concentre sur les propriétés et la disponibilité de la litière, du matériel de nidification et éventuellement de la possibilité de *foraging* (Baumans & Van Loo, 2013; Froberg-Fejko, 2008; Jennings et al., 1998). La litière est importante en termes de bien-être pour diverses raisons. Elle satisfait notamment différents besoins comportementaux, comme les comportements de manipulation de ses composants ou la création de tunnels. La litière permet entre autres de déterminer un microenvironnement individuel. Ainsi, une litière adaptée augmente considérablement l'utilisation de la cage et constitue une forme facile, économique et extrêmement bénéfique de raffinement. Les matériaux de litière les plus utilisés sont les copeaux ou les fibres de bois et la cellulose. La quantité de litière doit également être envisagée avec précaution, cette dernière doit offrir des opportunités pour les comportements de *digging* (creusage) et de construction de terrier, les souris passent d'ailleurs beaucoup de temps à creuser dans une telle litière lorsqu'elle est disponible en suffisance (Hobbs et al., 1997). Les litières fines inférieures à 300 microns sont généralement déconseillées, ces dernières pouvant irriter ou endommager les voies respiratoires (Jennings et al., 1998; Wirth, 1983). Comme nous l'avons discuté précédemment, le matériel de nidification est une composante essentielle dans le raffinement (Gross et al., 2011), il potentialise la

motivation à l'utiliser dans la construction et le reconstruction du nid, non seulement pendant les activités de reproduction, mais également dans le *huddling*, dans la régulation de la luminosité, dans le repos ou dans la recherche d'un abri, tant pour les mâles que pour les femelles (Baumans, 2005; Froberg-Fejko, 2008; Olsson & Dahlborn, 2002; Sherwin, 1997; Van de Weerd et al., 1997). Les rats et les souris montrent par ailleurs une préférence nette pour certains matériaux mous, comme le papier hygiénique ou les mouchoirs en papier, par rapport à du coton d'ouate, de la laine de bois, de la cellulose ou des abris en plastique (Latham & Mason, 2004; Ras et al., 2002; Van Loo et al., 2005; Zurlo & Hutchinson, 2014). Les rongeurs, étant caractérisés comme des espèces animales particulièrement vulnérables aux prédateurs, manifestent généralement de fortes réactions de peur dans des circonstances non familières ou soudaines s'ils n'ont pas l'opportunité de trouver un abri ou de retourner au nid, se traduisant par des tentatives de fuite, de morsure lorsqu'ils sont manipulés ou en *freezing* pour éviter d'être détectés (Baumans, 2005; Baumans & Van Loo, 2013; Olsson & Dahlborn, 2002). Globalement, une réduction dans la construction ou la manipulation des composants du nid peut être un indicateur important d'effets aversifs, tels que la douleur, le stress, l'anxiété et un bien-être général compromis (Hawkins et al., 2011). Des chercheurs ont notamment démontré que des souris testées dans des cages de conditionnement apprennent rapidement à appuyer sur un levier afin de recevoir en récompense du papier hygiénique (Roper, 1973, 1976). D'autres chercheurs ont mis en évidence leur haute motivation à subir une expérience aversive telle que traverser un courant d'air, un espace très étroit, un bassin d'eau profonde (Sherwin, 1996a) ou vivre sur un sol grillagé (Van de Weerd et al., 1998) afin obtenir du matériel de nidification. La présence de matériel de nidification en suffisance diminue également le taux de mortalité des souriceaux en période de pré-sevrage et favorise la survie des portées, tant chez les souris (Porter, 1965; Whitaker et al., 2016) que chez les rats (Nolen & Alexander, 1966; Norris & Adams, 1976). Notons encore qu'une majorité de chercheurs ont souvent tendance à négliger l'expression du comportement inné de *foraging* chez la souris, au profit de

l'aspect primordial que constitue le matériel de nidification. Pourtant, dans la nature, les souris consacrent la majeure partie de leur temps à la recherche de nourriture (Froberg-Fejko, 2008; Van de Weerd et al., 2002). Ainsi, la méthode du raffinement alimentaire peut partiellement pallier ces besoins intrinsèques.

Contrairement au principe de raffinement, l'enrichissement physique de l'hébergement se doit d'aller au-delà des besoins primaires de l'espèce. En d'autres mots, il s'agit de dépasser la stratégie de raffinement en proposant des stimulations physiques adaptées à l'espèce captive. L'enrichissement physique chez la souris se caractérise souvent par la présence d'objets manipulables, de jouets, d'éléments permettant la mastication et le rongement, d'abris supplémentaires, de tunnels ou encore de séparations. Fournir aux souris une panoplie d'objets permet notamment l'utilisation de différentes zones dévolues à différents comportements, ce qui augmente considérablement la gamme de comportements éthologiques pouvant être exprimés (Jennings et al., 1998). Les souris ont naturellement tendance à compartimenter leur hébergement en différentes zones, notamment pour la défécation et la miction, l'alimentation, le repos et le stockage de nourriture. Selon Jennings et collaborateurs (1998), bien que ces séparations puissent être caractérisées par des marqueurs olfactifs plutôt que par des séparations purement physiques, la mise en place de séparations artificielles partielles à l'intérieur d'une cage peut être efficace afin de faciliter cet éventail comportemental. Cette méthode augmente également la complexité de l'environnement et engendre une perception d'espace accru de l'environnement d'hébergement. En plus du matériel de nidification, il est fréquent de retrouver des abris ou des tubes en plastique, en bois ou en carton (Van de Weerd et al., 1998). Les souris peuvent utiliser ces structures supplémentaires pour se cacher, dormir ou lorsque le nid est occupé par des femelles gestantes ou allaitantes, ou pendant la période de sevrage des portées. Les structures en carton sont particulièrement appréciées pour leur polyvalence, ces dernières fournissant des opportunités pour grimper, mâcher et manipuler. Des chercheurs ont démontré que la combinaison de matériel de nidification et d'abris potentialise les comportements de

construction du nid. Lorsque du matériel de nidification est disponible, les souris le traînent dans un abri pour construire des nids plus élaborés (Sherwin, 1996a; Van Loo et al., 2005).

3.2.2. Modalité psychomotrice

L'exercice physique joue un rôle important dans la recherche en neuroscience, particulièrement dans les études utilisant la souris de laboratoire. Parmi les dispositifs utilisés pour évaluer l'activité physique chez la souris, la roue d'activité se distingue comme l'outil de prédilection (de Visser et al., 2005). Cette roue, conçue pour permettre aux souris de courir librement, offre aux chercheurs l'opportunité de comprendre les effets de l'exercice sur la santé, le métabolisme, le comportement, les addictions et bien d'autres aspects psychobiologiques. Au-delà de son utilisation courante pour l'étude de l'exercice physique sur les divers éléments cités ci-dessus, la roue d'activité sert également comme processus d'enrichissement environnemental, tant dans une modalité locomotrice offrant à l'animal l'opportunité de manifester des comportements locomoteurs innés, que dans une modalité physique, la roue pouvant ici être assimilée comme un objet manipulable. Ainsi, le protocole fondamental implique de fournir aux souris l'opportunité de courir librement sur une roue disposée à l'intérieur de la cage d'hébergement. La grande majorité des souches de souris met en pratique l'exercice physique de manière spontanée dès qu'elles ont accès à une roue d'activité. Généralement, une souris captive manifeste une activité physique considérable sur une roue d'exercice ; selon la souche, on constate en moyenne de 3 à 7 heures de courses avec des distances parfois assez considérables, de 4 à 20 kilomètres, parcourues quotidiennement (Creer et al., 2010; De Bono et al., 2006). De manière étonnante, nous observons également ce comportement chez les souris sauvages lorsque que l'on place des roues d'exercice dans leur environnement naturel (Meijer & Robbers, 2014). Toutefois, l'utilisation fréquente des roues d'exercice en laboratoire pour favoriser une activité physique suscite souvent bien des critiques, certains chercheurs soutiennent communément que ce

comportement traduit un effet secondaire de la captivité et ne reflète que des comportements névrotiques, anxieux ou de la stéréotypie. Si l'utilisation des roues d'exercice est effectivement liée à la captivité, les souris sauvages ne devraient dès lors pas les utiliser lorsqu'elles sont disponibles dans leur environnement naturel. Or, les découvertes récentes de Meijer et Roberts (2014) démontrent que la durée des épisodes d'exercice physique sur des roues disposées dans la nature est élective et correspond presque parfaitement au schéma d'utilisation rencontré chez des souris de laboratoire, suggérant ainsi le caractère volontaire de l'activité physique produite. L'utilisation de la roue d'activité constitue un exercice physique volontaire et, en tant que telle, cette dernière contraste avec d'autres modèles d'exercices physiques expérimentaux chez la souris, reposant généralement sur des stimuli aversifs forçant l'activité, comme la nage forcée ou la course sur tapis roulant (De Bono et al., 2006). Tout comme les autres animaux de laboratoire, les souris hébergées dans un environnement expérimental voient généralement leurs activités restreintes par rapport à celles de leurs congénères vivant en milieu naturel. Il convient ainsi d'éviter les activités forcées, sauf lorsque celles-ci servent des objectifs thérapeutiques ou des protocoles bien approuvés. Des niveaux élevés de comportements répétitifs et monotones, tels que les stéréotypies et les comportements compulsifs, peuvent également être la conséquence de perturbations des mécanismes normaux de régulation comportementale dues aux conditions d'hébergement (Garner, 2005; Mieske et al., 2022; Smith & Corrow, 2005). À l'opposé, l'exercice physique effectué sur une roue d'activité se produit généralement dans le cadre de schémas bien définis, ceux-ci suivent habituellement le rythme nocturne (cycle d'activité), dans un environnement de laboratoire non stressant, proposé par intermittence ou en continu (Goh & Ladiges, 2015). Il existe, à notre connaissance, deux types principaux de roue d'exercice couramment utilisés dans les études murines : la roue d'exercice verticale et la roue d'exercice inclinée. Depuis quelques décennies, la roue inclinée constitue le modèle d'activité physique le plus utilisé. L'un des atouts de la roue d'exercice inclinée réside dans sa hauteur modeste, environ 10 cm, la rendant ainsi adaptée

à une utilisation dans des cages conventionnelles (Goh & Ladiges, 2015). Une roue d'exercice inclinée se compose généralement d'une soucoupe creusée et striée dont le diamètre se situe très souvent aux alentours de 15 cm et ordinairement inclinée à un angle de 35°, offrant ainsi un schéma de locomotion planaire, s'homologuant davantage au modèle naturel de course de l'animal. Une étude a par exemple révélé que les souris s'exercent davantage sur des roues inclinées lorsque d'autres types de roues sont disponibles dans la cage (Walker & Mason, 2018). Les rotations sont transmises électroniquement vers un ordinateur, permettant ainsi la capture de la fréquence, la vitesse et la distance de course. Lorsque des souris sont testées spécifiquement pour leur endurance physique, chacune est hébergée individuellement pour garantir des enregistrements précis pour chaque animal, mais également dans le but de prévenir les comportements agressifs et territoriaux dans la zone dévolue à la roue. Dans un protocole classique d'enrichissement environnemental ou dans le cadre de l'enrichissement de l'élevage, il est fréquent de retrouver une combinaison de différentes stratégies environnementales physiques, comme la présence de jouets, d'objets manipulables et de roues d'activité. Une telle combinaison d'éléments offre davantage d'opportunités d'exploration et de locomotion (Harri et al., 1999; Janus et al., 1995; Jennings et al., 1998).

3.2.3. Modalité sociale

Depuis de nombreuses décennies, il est devenu bien évident que les conditions environnementales physiques et sociales dans lesquelles les rongeurs de laboratoire sont hébergés exercent un impact significatif, non seulement sur leur bien-être, mais également sur les résultats expérimentaux et la qualité de la recherche entreprise. Malgré la reconnaissance de ce phénomène, encore aujourd'hui en évolution, les conditions d'hébergement social demeurent en grande partie dictées par la praticité des installations pour les sujets d'étude et les exigences du protocole de recherche, plutôt que par des considérations biologiques ou relatives au bien-être. Par ailleurs, les souris de laboratoire,

souvent injustement cantonnées au rang de modestes créatures, constituent en réalité une espèce intrinsèquement sociale. Leur besoin d'interactions, de contacts rapprochés et de hiérarchie est profondément enraciné dans leur évolution (Arakawa, 2018; Jennings et al., 1998; Latham & Mason, 2004). Des interactions sociales appropriées entre les membres de la même espèce, appelés congénères, sont essentielles au développement normal et au bien-être général de l'animal (Bayne, 2005; National Research Council, 2011). Au sens large, l'enrichissement social de l'hébergement fait référence à l'apport d'éléments et d'opportunités offrant la possibilité d'établir des interactions sociales dans un même environnement. Généralement, le principe de l'enrichissement social s'établit via la cohabitation avec des congénères, permettant la formation de liens sociaux, la possibilité de jouer, le toilettage social (« *allogrooming* »), le partage du nid, la communication et l'établissement de hiérarchies sociales. Des souris hébergées en groupe développent ainsi la capacité de s'engager dans des explorations sociales. En outre, les activités comportementales d'un congénère, telles que le marquage olfactif ou le *digging*, peuvent également constituer une précieuse source de nouveauté suscitant l'exploration par les autres individus du co-hébergement (Olsson & Westlund, 2007). Plus essentiel encore, des souris co-hébergées s'offrent mutuellement un soutien social (« *social buffering* ») lorsqu'elles sont confrontées à des situations stressantes (Hennessy et al., 2009; Hostinar et al., 2014). En plus de contribuer à la préservation de la santé physique et psychologique, ainsi qu'au bien-être, le *social buffering* peut évoluer pour orienter la formation de liens sociaux et faciliter les transitions développementales dans les interactions sociales adaptées à différentes phases de la vie (Hennessy et al., 2009). Plusieurs études ont également suggéré que l'hébergement social se révèle être un atout thérapeutique dans la récupération postopératoire et le soulagement psychologique de la douleur (Pham et al., 2005; Van Loo et al., 2007). Cependant, dans de nombreuses études recensées dans la littérature, l'enrichissement social est souvent relégué au second plan, au profit de l'enrichissement physique et de ses nombreuses variations possibles. Comme

évoqué précédemment, bien que cette tendance soit de plus en plus reconnue, les conditions d'hébergement social sont encore en grande partie déterminées par des contraintes logistiques dans les installations animalières, notamment la gestion de l'espace et du nombre de cages, ainsi que par les protocoles de recherche, au détriment des considérations éthologiques (Olsson & Westlund, 2007). Cette approche sous-estime malheureusement l'importance cruciale de la dimension sociale dans le bien-être des souris de laboratoire. Pourtant, en optimisant les conditions sociales d'hébergement et en reconnaissant la valeur de la modalité sociale en tant que principe de raffinement indispensable aux besoins innés, les chercheurs ont l'opportunité non seulement d'améliorer la qualité de vie des souris en captivité, mais aussi d'augmenter la probabilité de résultats de recherche plus solides en réduisant le stress et les perturbations liés à des conditions sociales précaires ou à l'isolement chronique.

Lors de l'établissement d'un hébergement social, il convient au chercheur de tenir compte des comportements territoriaux innés des souris expérimentales, tout en déterminant si ces dernières sont aptes à être hébergées en groupe ou non (Latham & Mason, 2004). En effet, malgré le caractère essentiel de la sociabilité, tous les membres issus d'une espèce sociale ne sont pas nécessairement socialement compatibles. Le co-hébergement de ces animaux, dit « socialement incompatibles », peut engendrer un stress chronique, des blessures, voire la mort. Chez le rongeur de laboratoire, l'incompatibilité sociale est très souvent influencée par le sexe (Bartolomucci et al., 2002; Haemisch & Gärtner, 1994; Kappel et al., 2017), mais cette relation n'est pas forcément unidirectionnelle. Par exemple, les souris et les rats mâles expriment davantage de comportements agressifs que les femelles, en revanche, les hamsters femelles sont en général plus agressifs que les mâles. Notons cependant que les risques d'incompatibilité sociale sont considérablement réduits, si les animaux à co-héberger sont élevés ensemble dès le sevrage et si la composition du groupe reste stable. La stabilité de la hiérarchie et de l'harmonie sociale requiert souvent d'être surveillée attentivement ; en cas d'agressions graves ou trop fréquentes, du dominant envers un ou des

subordonnés, il peut être nécessaire de séparer les individus incompatibles, par exemple par une mise en hébergement individuel temporaire. En revanche, l'hébergement individuel ne doit généralement pas excéder les 24 heures afin de préserver la hiérarchie établie (Brain et al., 1989, cités par Animal Research Review Panel). Au sens large, l'hébergement individuel doit être l'exception et non la règle. L'hébergement individuel des espèces sociales se doit d'être justifié en fonction des exigences expérimentales ou des préoccupations vétérinaires concernant le bien-être animal. Contrairement à l'isolement chronique, l'hébergement individuel doit être limité à la période minimale nécessaire et autant que possible fournir l'opportunité de contacts visuels, auditifs et olfactifs avec les congénères issus du même macroenvironnement (Olsson & Westlund, 2007; Van Loo, de Groot, et al., 2001). Par ailleurs, il a été largement démontré que les souris préfèrent la compagnie de congénères à forte dominance face à l'hébergement individuel (Van Loo et al, 2003; Van Loo, de Groot, et al., 2001; Van Loo, Mol, et al., 2001). D'autres recherches ont démontré qu'un groupe de souris mâles adultes manifestait une nette préférence pour l'hébergement dans une cage standard occupée par un autre mâle par rapport à une cage équivalente, mais non occupée, ou à une cage dépourvue de stimuli (Van Loo, Van der Meer, et al., 2004; Van loo, Van de Weerd, et al., 2004). Lorsque la faisabilité du co-hébergement est compromise ou impossible, il est recommandé de procéder à la mise en place d'enrichissements sensoriels pour les sujets hébergés individuellement. Ce processus peut inclure des interactions régulières avec le personnel expérimental et le personnel d'animalerie, telles que des manipulations quotidiennes. En outre, il est également important de fournir un enrichissement physique supplémentaire pour la stimulation et le maintien du bien-être, ces activités et ces interactions pouvant généralement contribuer à combler le vide social potentiellement ressenti par les animaux vivant en isolement et à promouvoir leur santé mentale et physique.

L'hébergement individuel des espèces sociales n'est pas un phénomène rare ; malgré la panoplie de codes de bonnes pratiques et les législations éthiques, il est

même très répandu dans les installations animalières et les laboratoires de recherche. Il peut constituer la partie centrale d'un paradigme expérimental d'isolement visant à étudier les effets de la privation de stimuli sociaux ou à induire divers stress, comme dans le cadre de la présente recherche. L'hébergement individuel peut aussi s'avérer nécessaire pour d'autres motifs d'ordre scientifique ou pratique, notamment pour permettre une surveillance individuelle précise de la consommation alimentaire ou dans une convalescence faisant suite à des procédures chirurgicales impliquant des canulations ou des sutures qui peuvent être endommagées en cas d'interactions agressives avec d'autres congénères. De fait, les comportements agressifs constituent une autre raison relativement valable à l'hébergement individuel. Comme précédemment évoqué, chez de nombreuses espèces d'animaux de laboratoire, entre autres les souris, les rats et les primates, le co-hébergement de sujets mâles entraînent très fréquemment des problèmes d'agressivité, débouchant sur des blessures, des décès ou des euthanasies forcées, et par conséquent sur le phénomène d'attrition lors d'études expérimentales. Chez la souris, la fréquence des conflits et des agressions observées dépend fortement de la souche utilisée, mais d'autres facteurs, tels que l'âge des animaux, leurs expériences individuelles, la taille du groupe et les dimensions de la cage ont également une influence non négligeable (Brain & Parmigiani, 1990; Jennings et al., 1998). L'hébergement individuel peut sembler la solution adéquate dans le but d'éviter ces écueils, pourtant ce processus prive l'animal des besoins innés de stimuli sociaux, pouvant entraîner des altérations comportementales profondes ultérieures (cf. section 4.4).

L'établissement d'un groupe social ne se limite généralement pas à rassembler des individus au sein d'une même cage d'hébergement. En effet, chaque animal joue un rôle au sein du groupe, souvent influencé par des facteurs tels que l'âge, le sexe, la position hiérarchique ou la condition reproductive (Animal Welfare Institute, 2015). Logistiquement, il peut s'avérer assez exigeant de tenir compte de ces facteurs, à la fois lors de la sélection des animaux pour la constitution des groupes et lors de la détermination des cages qui fourniront l'hébergement. C'est

d'ailleurs en réponse à ces mêmes contraintes que les éleveurs et les chercheurs forment cet hébergement collectif avec des portées de souris juvéniles familiales, généralement issues d'une période de sevrage commune et élevées par *cross-nursing* (Sayler & Salmon, 1969, 1971). Chez les souris mâles en particulier, le maintien d'une même portée dans un même environnement d'hébergement peut réduire les comportements agressifs et favoriser l'harmonie du groupe. Par exemple, chez la souris Swiss de type CD-1, une équipe de chercheurs n'a observé aucune différence significative, que ce soit sur le plan physiologique ou comportemental, comme le niveau de corticostérone, le poids corporel, les comportements exploratoires ou les comportements liés à l'anxiété, entre les individus mâles dominants et subordonnés lorsqu'ils étaient hébergés dans une même cage avec leurs congénères issus de la même portée (Bartolomucci et al., 2002). Le facteur du stress ne réside pas forcément dans l'hébergement en groupe en lui-même, mais plutôt dans la hiérarchie, l'absence de familiarité ou de parenté avec leurs congénères. Les groupes unisexes sont tout logiquement formés avant la puberté, peu après le sevrage, afin de prévenir toute gestation inopinée et notamment à cause des niveaux d'agressivité évoluant grandement pendant cette période, en particulier entre des mâles non familiers. La formation des groupes est recommandé lors de la maintenance des cages d'hébergement, les indices olfactifs provenant des odeurs de la cage d'origine pouvant inciter les sujets à réagir avec hostilité envers les individus non familiers introduits dans leur cage. De plus, les odeurs de substrat émanant de mâles non familiers peuvent également déclencher des comportements agressifs (Jennings et al., 1998; Kappel et al., 2017). L'effectif des groupes sociaux dépend en partie de la taille de la cage, de la conception du projet expérimental, ainsi que de l'âge des animaux. Dans les groupes modestes, de deux à trois individus par cage, il est fréquent d'observer des niveaux de stress excessifs chez les sujets subordonnés. Chez la souris mâle, de souche Swiss particulièrement, l'hébergement par paire n'est d'ailleurs généralement pas recommandé, le sujet subordonné peut être fréquemment exposé à des agressions, entraînant souvent du stress et des blessures répétées

(Emond et al., 2003; Ferrari et al., 1998). C'est la raison pour laquelle la plupart des chercheurs préconisent de maintenir la stabilité dans la composition des groupes ; ainsi, il est fortement déconseillé de modifier la composition des groupes dès lors qu'une harmonie a été établie (Jennings et al., 1998), comme en témoignent des études menées sur des souris de souche Swiss et CD-1 (voir Bartolomucci et al., 2002; Baumans & Van Loo, 2013; Jirkof et al., 2020; Ros-Simó & Valverde, 2012). La détermination de l'effectif pour un groupe de souris à co-héberger demeure toutefois ambiguë étant donné qu'une cage surpeuplée, à l'instar de l'isolement, peut également engendrer des conditions de vie stressantes (Delaroque et al., 2021; Laber et al., 2008; Lin et al., 2015). La souche utilisée peut également faire varier le degré de préférence et d'affiliation sociale entre les congénères. Par exemple, des DBA/2J ont tendance à maintenir une proximité physique plus importante avec leurs congénères par rapport à des souris de souche C57BL/6J. Cette affiliation se manifeste également dans les comportements exploratoires. Ainsi, les souris C57BL/6J manifestent une propension à explorer davantage une arène individuellement, tandis que les souris DBA/2J préfèrent généralement une exploration collective (Pieper et al., 1997). Chez la souris albinos, une étude a démontré qu'un groupe de trois ou cinq femelles de souche Swiss se révélait bien plus stable que les paires ou les groupes de quatre individus. Dans les groupes de trois ou cinq individus, les sujets semblent avoir un nombre suffisant de contacts sociaux, la femelle dominante est généralement en mesure de réduire au minimum ses contacts (par exemple en écartant pacifiquement d'autres congénères), tandis que les femelles subordonnées restent en étroite relation les unes avec les autres (Schuhr, 1987). En outre, chez la souche Swiss de type CD-1 et la souche NMRI, les femelles dominantes présentent généralement des niveaux significativement plus bas de corticostérone plasmatique par rapport à leurs congénères subordonnées (Schuhr, 1987; Williamson et al., 2019). Certaines recommandations publiées, telles que les guidelines ARRP ou certaines revues de la littérature, soutiennent également que le raffinement social optimal d'un groupe de souris adultes est de trois à cinq pour

les femelles et de trois à quatre pour les mâles, dans des cages de surface adéquate et en fonction de la souche utilisée (Jirkof et al., 2020; Kappel et al., 2017; Olsson & Westlund, 2007; Van Loo, Mol, et al., 2001).

3.2.4. Environnement semi-naturel

En 2003, le Dr Manuel Berdoy de l'Université d'Oxford a brillamment démontré, via le projet *Ratlife*, la capacité d'adaptation et la diversité des comportements sociaux chez les rats de laboratoire, *Rattus norvegicus*, hébergés dans un environnement de type semi-naturel. Filmé sur plusieurs mois, cette étude a notamment mis en évidence une vaste société polygame et de faibles niveaux d'agression entre les congénères. Ce court-métrage suivait la vie de 50 rats domestiques relâchés dans un vaste enclos extérieur où ils devaient rivaliser, à l'instar de leurs homologues sauvages, pour se nourrir, se loger, tisser des liens sociaux et se reproduire. Peu après son arrivée dans ce nouvel environnement, la colonie a immédiatement manifesté une large gamme d'instincts comportementaux que l'hébergement conventionnel en laboratoire avait longtemps réprimés, s'adaptant ainsi rapidement à son nouvel environnement. Ce projet a également mis en évidence que les années de captivité n'ont exercé pratiquement aucune influence sur le répertoire éthologique et comportemental, ni sur les besoins innés de ces rats semi-captifs (Berdoy, 2003). Dans des conditions favorables, de telles colonies peuvent atteindre plusieurs centaines d'individus après quelques mois (Barnett, 1975, cité par Olsson & Westlund, 2007).

Comme sous-entendu ci-dessus, un environnement semi-naturel se réfère à un processus d'hébergement conçu pour offrir aux individus un milieu se rapprochant davantage de leur habitat naturel. L'objectif de l'environnement semi-naturel est de fournir une expérience d'hébergement plus enrichissante et d'offrir une certaine homologie avec les conditions de vie du milieu naturel, potentialisant ainsi le bien-être et permettant aux chercheurs d'étudier certains comportements et phénomènes qui ne seraient pas ou peu observables dans des hébergements plus conventionnels (Hernández-Arteaga & Ágmo, 2023; Makowska & Weary, 2016).

En y apportant certaines nuances et distinctions additionnelles, un environnement semi-naturel peut parfois faire référence à une condition d'hébergement qualifiée de « super-enrichie » (« *super-enrichment* »), comme décrite dans certaines études (voir Augustsson et al., 2003; Bailoo et al., 2018; Hutchinson et al., 2005; Love et al., 2022; Mazarakis et al., 2014). Théoriquement, un environnement semi-naturel tire parti des aspects les plus pertinents de l'éthologie et du comportement animal, deux disciplines majeures de la neuroscience comportementale ayant émergé au cours du 20^{ème} siècle, investiguant l'architecture et les règles régissant le comportement animal. De manière assez semblable aux études éthologiques menées dans le milieu sauvage, un environnement semi-naturel offre la possibilité d'étudier le comportement des rongeurs tout en mettant en évidence l'importance des mécanismes innés. Ces mécanismes, en interaction avec les contraintes environnementales, influencent la variété des comportements observés en réponse aux dangers, aux facteurs de stress ou aux opportunités (Shemesh & Chen, 2023).

Les caractéristiques de l'environnement semi-naturel peuvent varier en fonction de l'espèce de rongeur et des objectifs de recherche, mais ces dernières englobent généralement plusieurs éléments communs. Les rongeurs sont habituellement co-hébergés dans de larges groupes sociaux de type dème, c'est-à-dire des unités sociales distinctes, pour refléter leurs interactions sociales naturelles. Les cages, les enclos ou les salles d'hébergements sont généralement vastes afin d'offrir davantage d'espace et d'opportunités aux rongeurs, favorisant ainsi leur mobilité, leur exploration et l'établissement de plusieurs zones de nidification. Dans des conditions de laboratoire, des éléments d'enrichissement physique, tels que des abris, des tunnels, des objets masticables et des plateformes, sont souvent ajoutés afin de créer une complexité environnementale motivationnelle. Pour stimuler les comportements exploratoires et cognitifs, des dispositifs d'alimentation fournissent également aux rongeurs des motivations, les forçant ainsi à résoudre des problèmes pour accéder à la nourriture, offrant alors l'opportunité d'expression des comportements de *foraging*. L'aménagement peut autant inclure des zones de

lumière et d'obscurité, des cachettes, de la végétation artificielle ou naturelle et une diversité d'objets à explorer. Enfin, en remplacement des copeaux de bois standard, une litière naturelle, comme de la terre ou de la sciure de bois non traitée, peut être utilisée pour encourager les comportements de *digging* et de construction de nids (Garey et al., 2002; Lewejohann et al., 2009; Mieske et al., 2021). Les environnements semi-naturels offrent plusieurs avantages, notamment une très bonne validité externe, une amélioration de la reproductibilité, une potentialisation du bien-être animal, et offre aux chercheurs une facilitation dans l'observation et la quantification des comportements éthologiques naturels. Cependant, un inconvénient notable réside dans leur capacité limitée à accueillir simultanément un grand nombre d'animaux, ce qui entraîne des contraintes logistiques telles que la nécessité de disposer d'une superficie plus grande pour l'hébergement et des ressources financières plus importantes pour les mettre en place, entre autres. L'utilisation des environnements semi-naturels est restée à un niveau relativement stable et peu élevé pendant plusieurs décennies (voir Beeler et al., 2012; Garey et al., 2002; Lewejohann et al., 2009; Mieske et al., 2021; St-Cyr et al., 2018). Néanmoins, les progrès considérables dans l'analyse automatisée des comportements enregistrés par système vidéo, même chez les animaux vivant en groupe social, ont facilité la mise en place d'études dans les environnements semi-naturels, les rendant ainsi plus attrayantes pour les équipes de recherche (Hernández-Arteaga & Ågmo, 2023).

4. Effets de l'enrichissement environnemental chez le rongeur

La découverte de la panoplie des effets de l'enrichissement environnemental s'est articulée autour de la remarquable capacité du cerveau adulte à subir des modifications structurelles et fonctionnelles en réponse à des stimuli environnementaux. L'enrichissement environnemental, en tant qu'approche expérimentale préclinique, a été expressément élaboré dans le but de sonder et d'exploiter l'aptitude de la transformation cérébrale en offrant un environnement riche et stimulant aux animaux d'expérience (Mohammed et al., 2002). Selon certains auteurs, les racines historiques du concept relatif aux modifications cérébrales induites par des facteurs liés à l'environnement peuvent être retracées jusqu'à la Grèce antique, sous l'impulsion d'Aristote (Diamond, 2001; Mohammed et al., 2002), parfois considéré comme le précurseur de l'éthologie. C'est au 18^{ème} siècle qu'a été émise l'hypothèse selon laquelle les tissus nerveux réagissent aux expériences de l'environnement en se développant et en subissant des modifications structurelles. Dès 1815, le physiologiste allemand Johann Gaspar Spurzheim s'interrogeait sur la possibilité d'augmenter la taille des organes grâce à l'exercice physique. Tant le cerveau que les muscles pourraient accroître leur volume grâce à l'exercice physique, probablement parce que le sang afflue en plus grande quantité vers les parties stimulées, assurant de ce fait leur bonne nutrition (Diamond, 2001). L'impact de l'environnement sur le cerveau fut également suggéré par Charles Darwin en 1874 dans ses observations naturalistes de lapins sauvages (Diamond, 2001; Mohammed et al., 2002; Zentall, 2021). Dans son ouvrage « *The Descent of Man and Selection in Relation to Sex* », Darwin observait que les lapins domestiques présentaient une réduction significative du volume cérébral par rapport à celui des lapins sauvages. Ces différences anatomiques étaient ainsi probablement dues à l'expérience des stimuli externes ; les animaux domestiques n'ayant pas la pleine opportunité d'utiliser leurs processus cognitifs, leurs instincts innés et leurs sens que leurs homologues vivant dans leur milieu naturel. Outre les observations de Darwin, la nature regorge de

bien d'autres exemples de variations dans la structure cérébrale entre les animaux sauvages et leurs homologues captifs, notamment parmi les moutons, les porcs ou les rongeurs. Une étude détaillée de ces différences pourrait constituer un projet de recherche à part entière, attendu qu'encore aujourd'hui, le phénomène de neuroplasticité chez les individus adultes envoûte l'attention des chercheurs, et ce depuis de nombreuses décennies.

L'enrichissement environnemental de l'hébergement chez le rongeur a essentiellement débuté comme une variable expérimentale de premier plan au travers d'une série de projets initiés dans les années 1960, se penchant sur la corrélation entre l'environnement d'hébergement et la structure cérébrale fondamentale des animaux d'expériences (Diamond, 2001; Rosenzweig, 1996). Ces études ont été grandement influencées par les spéculations et les observations initiales du neuropsychologue canadien Donald Hebb (Hebb, 1947, 1949, cité par Diamond, 2001; Mohammed et al., 2002; Rosenzweig & Bennett, 1996). En 1947, Hebb fait une découverte marquante en observant que des rats de laboratoire élevés en isolement, manifestaient des différences neurophysiologiques et comportementales significatives par rapport à leurs congénères élevés de la même manière que des animaux de compagnie, dans un environnement enrichi offrant la liberté de se déplacer dans une vaste pièce d'hébergement. Les travaux de Hebb en ont ainsi fait un des pionniers dans l'élaboration du concept d'enrichissement environnemental, mettant en avant son influence sur la plasticité et le développement cérébral. Selon une récente scoping review (Torres-Reveron & Dow-Edwards, 2022), plus de 50 000 articles décrivant les effets de la modification des conditions d'hébergement des animaux expérimentaux sur une vaste gamme d'aspects comportementaux, neuro-structuraux, ainsi que sur des aspects hormonaux et métaboliques, ont été recensés. À partir des premières conclusions concernant les effets de l'enrichissement sur des paramètres macroscopiques tels que la masse du cerveau (Susser & Wallace, 1982; van Praag et al., 2000), des études de plus en plus précises ont convergé pour démontrer des effets significatifs au niveau

cellulaire et moléculaire, y compris la structure neuronale (Fernández et al., 2003; Leggio et al., 2005), la gliogenèse (Steiner et al., 2004), la plasticité synaptique et l'expression génétique (Farmer et al., 2004; Ohline & Abraham, 2019). Des études ont également démontré que l'enrichissement environnemental atténue, sous divers angles, les agressions entre congénères et facilite la guérison cérébrale dans diverses situations, comme les accidents vasculaires et les traumatismes (Dahlqvist et al., 2004; Xerri et al., 2003), le stress prénatal (Morley-Fletcher et al., 2003; Razavinasab et al., 2022) et même le processus de vieillissement (Bennett et al., 2006; Frick & Fernandez, 2003; Mattson et al., 2001; Prolla & Mattson, 2001).

4.1. Effets neuroanatomiques et neurobiologiques

Au fil de nombreuses décennies de recherche, les neurosciences ont mis en lumière la capacité des stimuli externes liés à l'environnement à exercer une influence profonde sur la structure et le fonctionnement cérébral. Ces manifestations englobent notamment la neurogenèse, des modifications du nombre et de la forme des épines dendritiques, des changements de volume cortical ou encore des changements neurochimiques. N'étant pas le sujet principal de thèse, cette vaste gamme d'effets ne sera pas détaillée en profondeur dans la présente sous-section, ce sujet pourrait faire l'objet d'un travail de recherche complet (pour une revue, voir Malone et al., 2022). Toutefois, nous les expliquerons succinctement afin d'offrir un aperçu. Comme nous l'avons brièvement mentionné précédemment, ce n'est qu'à partir de la seconde moitié du siècle dernier que les premières études contrôlées menées sur des animaux de laboratoire démontraient que l'enrichissement de leur hébergement pouvait entraîner des modifications chimiques et anatomiques du cortex cérébral, lesquelles, par corollaire, amélioreraient alors leur mémoire et leurs capacités cognitives (Diamond, 2001). Notons tout de même que la majeure partie des données fondamentales relatives aux processus d'enrichissement et ses répercussions sur le cerveau et le comportement provient d'études menées chez

le rat de laboratoire. C'est d'ailleurs grâce aux travaux du Professeur Mark Rosenzweig que les effets cérébraux de l'enrichissement sur les cellules nerveuses et leurs neurotransmetteurs ont été généralisés à plusieurs espèces de mammifères et d'oiseaux (voir Rosenzweig & Bennett, 1996). Lors des premières expériences des années 60, seuls les cerveaux de jeunes animaux étaient étudiés et la découverte de la capacité du cortex cérébral à s'épaissir en réponse à un environnement plus stimulant a suscité des interrogations sur la probabilité d'observer les mêmes effets sur des animaux plus âgés. Après avoir observé des résultats concordants chez des rats d'âge moyen soumis à un enrichissement environnemental physique, la recherche s'est ainsi tournée vers l'investigation de ses effets sur des animaux âgés, et là encore, une augmentation de l'épaisseur corticale fut largement constatée (Diamond, 2001). Entre les années 60 et 70, d'autres chercheurs avant-gardistes ont démontré qu'un environnement enrichi chez le rat entraînait une augmentation du poids du cortex visuel et somatosensoriel par rapport à une condition d'isolement (Krech et al., 1962; Rosenzweig, 1966). Des rats exposés à un environnement enrichi présentaient encore une augmentation de l'épaisseur corticale, en particulier dans le cortex occipital (Diamond et al., 1964) et auditif (Engineer et al., 2004), ainsi que d'autres changements morphologiques très nets, comme une augmentation de la masse cérébrale dans les zones corticales et hippocampiques (Bennett et al., 1969; Diamond et al., 1987; Susser & Wallace, 1982). Au niveau neuronal, l'enrichissement environnemental a été largement associé à une augmentation de la taille des corps cellulaires et du noyau des neurones, du nombre et de la taille des arborescences dendritiques (Greenough et al., 1973; Greenough & Volkmar, 1973; Kolb et al., 2003; Rosenzweig & Bennett, 1969) ou encore à des altérations dans les cellules gliales (Hawrylak & Greenough, 1995; Sirevaag & Greenough, 1991). D'autres études ont également confirmé les effets de l'enrichissement sur l'accroissement de la neurogenèse hippocampique (Kempermann, 2019; Kempermann et al., 1997; Merkley et al., 2014; Steiner et al., 2004) ou sur le

nombre et la taille des synapses (Briones et al., 2004; Jones et al., 1997; Landers et al., 2011; Mollgaard et al., 1971).

Selon les hypothèses de Donald Hebb, les effets de l'enrichissement environnemental seraient initiés par de vastes modifications cellulaires (Ali, 2015). Outre les observations macroscopiques rapportées ci-dessus, les processus neurochimiques exercent également un rôle primordial dans les mécanismes de plasticité et dans les fonctions comportementales liés à l'enrichissement, tels que certains neurotransmetteurs comme la dopamine, la sérotonine, le glutamate ou encore le GABA, des facteurs neurotrophiques tels que le *BDNF* (*Brain-Derived Neurotrophic Factor*) et le *NGF* (*Nerve Growth Factor*), des protéines associées à des gènes précoces telles que la *c-Fos*, de même que le système *HPA* (Bakos et al., 2009; Melendez et al., 2004; Pham et al., 1999; Rasmuson et al., 1998; Simpson & Kelly, 2011). Certains travaux ont notamment révélé une augmentation des niveaux de sérotonine (5-HT) chez des rats adultes hébergés dans des conditions environnementales enrichies, dans la zone hippocampique (Galani et al., 2007; Ueda et al., 2005), le cortex préfrontal et le striatum (Brenes et al., 2008; Brenes & Fornaguera, 2008). Les effets neuronaux de l'enrichissement sont toutefois complexes et peuvent varier en fonction de la durée de son exposition. Par exemple, une équipe de chercheurs n'a trouvé aucune différence significative dans le niveau basal de dopamine chez des rats adultes hébergés dans des conditions enrichies par rapport à leurs congénères en isolement après une période d'hébergement de 12 mois (Del Arco, Segovia, Garrido, et al., 2007). Par contre, cette même équipe observe que lorsqu'une période d'enrichissement plus courte (environ 3 mois) était proposée, une réduction significative de la densité des récepteurs D1 dans le cortex préfrontal est observée par rapport aux rats isolés (Del Arco, Segovia, Canales, et al., 2007). Certains chercheurs ont supposé que cette réduction de densité des récepteurs D1 peut être liée à une réponse au stress induite par cette modification environnementale. Plus récemment, certains travaux ont mis en évidence des modifications plus complexes, impliquant à la fois des aspects neurochimiques liés à la dopamine et des processus hormonaux comme

la libération de corticostérone et d'*ACTH*, notamment dans le contexte de la réponse au stress (Garrido et al., 2013; Segovia et al., 2008). Notons de surcroît que les études divergent quant aux processus hormonaux de l'axe *HPA* impliqués dans la réponse au stress en fonction des différentes conditions d'hébergement, engendrant ainsi une certaine controverse dans ce domaine de recherche (voir Harvey et al., 1984; Simpson & Kelly, 2011). Toutefois, certaines études concordent en démontrant que l'augmentation des fonctions surrénales se révèle significativement plus faible chez les rongeurs hébergés dans des conditions enrichies, cet effet étant d'autant plus visible à la suite d'un stress ponctuel ou chronique. Ainsi, certains auteurs mettent en évidence une diminution des niveaux d'*ACTH* et de corticostérone basaux chez des rats hébergés dans des conditions d'enrichissement physique après une période d'isolement (Belz et al., 2003), d'autres démontrent une augmentation de corticostérone après une période d'enrichissement de 40 jours combinant la modalité sociale et physique, cependant, une diminution de corticostérone plasmatique est observée dans les mêmes conditions environnementales après une exposition au stress de manipulation répétée (Moncek et al., 2004). Chez la souris mâle C57BL/6J, des chercheurs ont constaté que les niveaux de corticostérone ne différaient pas entre les individus hébergés dans une structure sociale stable et ceux dont la structure sociale était perturbée suite à un stress social (introduction d'un individu non familial). Ces niveaux étaient par ailleurs significativement plus faibles comparés à ceux des individus hébergés en isolement (Berry et al., 2012). D'autres auteurs ont relevé des niveaux de corticostérone plasmatiques plus élevés chez des souris CD-1 hébergées dans des conditions d'enrichissement social et physique par rapport à des individus isolés. Cependant, après avoir été soumis à un événement stressant (*light/dark box*), l'augmentation de la corticostérone plasmatique était plus prononcée chez les individus en isolement (Ros-Simó & Valverde, 2012). Enfin, des souris Swiss femelles hébergées dans un environnement physique complexe manifestent des niveaux de stress chronique plus faibles, mesurés par des taux de glucocorticoïdes fécaux plus minimes et des glandes surrénales plus

petites, en comparaison avec des individus hébergés dans un environnement standard ou appauvri (Bailoo et al., 2018).

4.2. Effets comportementaux, cognitifs et psychologiques

Le concept multidimensionnel de l'enrichissement environnemental suscite depuis de nombreuses années un vif intérêt au sein de la discipline comportementale des neurosciences. Outre ses effets neurobiologiques largement démontrés, les processus d'enrichissement de l'hébergement sont également captivant lorsqu'il s'agit d'en explorer les effets sur le plan comportemental, les fonctions cognitives et les aspects psychologiques chez le rongeur d'expérience. Les études menées sur l'enrichissement visant à explorer ses effets comportementaux se basent essentiellement sur le constat suivant : une cage d'hébergement standard offre peu d'opportunités au rongeur d'exprimer ses comportements innés (Balcombe, 2006, 2010; Olsson & Dahlborn, 2002). Ainsi, il est tout à fait prévisible que l'apport de diversité adaptée à l'environnement d'hébergement et à l'espèce entraîne une modification positive de son comportement. Le niveau d'activité générale, parfois subdivisée en comportements spécifiques tels que les comportements exploratoires et locomoteurs, la recherche de nouveauté, les comportements liés au sommeil, au stress, à l'anxiété ou encore à la dépression, les comportements sociaux et les comportements liés à la nutrition ou les stéréotypies, figurent parmi les paramètres les plus évalués lors de la mise en place d'un enrichissement (Bayne, 2018). Une grande partie des données scientifiques actuelles suggèrent que l'introduction exclusive du raffinement lié aux besoins de l'espèce ou encore de formes simples d'enrichissement supplémentaires adaptées dans une cage d'hébergement standard améliore significativement le bien-être général des rongeurs, se traduisant par une régulation de certains des comportements liés à l'activité (Bailoo et al., 2018).

Du point de vue des comportements exploratoires, plusieurs études sont parvenues à établir un constat commun relatif à l'activité locomotrice des rongeurs d'expérience. Plus précisément, l'activité locomotrice produite dans une arène ou

open field reflète le niveau global d'activité motrice et peut être utilisée comme un indice de comportements liés à l'anxiété ou à l'anxiolyse, de traitement d'informations simples, comme l'apprentissage ou la rétention mnésique, ainsi que la réponse et l'adaptation à la nouveauté (Elliott & Grunberg, 2005; Varty et al., 2000; Zimmermann et al., 2001). Par conséquent, des niveaux d'activité locomotrice élevés et persistants insinuent que le rongeur ne s'habitue pas à cet environnement initialement nouveau ou ne traite pas efficacement les informations perçues. En revanche, des niveaux d'activité qui diminuent graduellement sous-entendent une habituation et un traitement plus efficace des stimuli environnementaux au fur et à mesure de l'exposition à cet environnement (Elliott & Grunberg, 2005). Selon certaines études, l'enrichissement de l'environnement jouerait un rôle clé dans les processus d'exploration, de réponse et d'habituation à la nouveauté. Globalement, des rongeurs exposés à un environnement enrichi expriment généralement une tendance à s'habituer plus rapidement à la nouveauté et à réguler les comportements liés à l'anxiété, améliorant ainsi leur capacité à faire face au danger (Benaroya-Milshtein et al., 2004; Hendershott et al., 2016; Voss et al., 2013). Chez le rat, des individus hébergés dans des conditions d'isolement expriment des niveaux locomoteurs anormalement élevés dans un environnement nouveau de type *open field*, mais également une incapacité d'habituation à ce même environnement au fur et à mesure des expositions (Brenes et al., 2008; Fone & Porkess, 2008; Hall et al., 2000; Hellemans et al., 2004). L'isolement social chronique est souvent associé au développement du syndrome d'isolement, initialement introduit par Hatch et collaborateurs en 1965 chez le rat, et Valzelli en 1973 chez la souris (cf. section 4.4). Ce syndrome entraîne des perturbations comportementales, tels que des stéréotypies et notamment une hyperactivité et des altérations dans les mécanismes d'habituation à un environnement non familier (Balcombe, 2006; Hellemans et al., 2004). Chez la souris, des résultats très similaires sont également observés. Certaines études menées chez diverses souches ont conduit à des résultats remarquablement concordants. Une équipe de chercheurs (Bailoo et al., 2018) a récemment utilisé

un protocole de variation proportionnelle de la valeur de l'enrichissement proposé : une condition appauvrie, une condition standard raffinée comprenant de la litière et du matériel de nidification, une condition enrichie comprenant des tunnels et des abris en plastique, et une condition super-enrichie comprenant en plus de tous les éléments cités, une panoplie d'objets supplémentaires, comme des abris en papier, des échelles, du matériel de nidification et de la nourriture additionnels ou encore des plateformes. Dans l'ensemble, cette large étude démontre que des souris issues de deux souches différentes (C57BL/6J et Swiss) utilisaient activement les opportunités qui leurs étaient proposées, et que leur tendance à interagir avec les divers enrichissements s'intensifiait au fur et à mesure que la valeur d'enrichissement augmentait. Ce phénomène suggère ainsi que les options proposées offraient aux individus des opportunités qu'ils intégraient spontanément dans l'expression de leurs comportements. Globalement, les individus hébergés au sein de l'environnement super-enrichi présentaient les bénéfices les plus marqués dans un éventail de mesures du bien-être général. En ce sens, les comportements stéréotypés, certaines mesures comportementales liées à l'anxiété, comme le pourcentage de temps passé dans les bras ouverts d'un *elevated plus maze* ou l'activité locomotrice manifestée dans un *open field*, voire certaines mesures physiologiques liées au stress, évoluaient de manière cohérente, reflétant de la sorte une amélioration générale du bien-être (Benaroya-Milshtein et al., 2004; Fernández-Teruel et al., 2002; Friske & Gammie, 2005; Fuss et al., 2010; Roy et al., 2001). Cependant, une inconsistance plane encore par rapport à certaines variations environnementales. En effet, dans l'étude précédente (Bailoo et al., 2018), les variations dans l'enrichissement proposé n'ont pas systématiquement entraîné les altérations attendues dans toutes les mesures comportementales étudiées. Certains chercheurs ont notamment observé que seul l'apport de matériel de nidification exerce une influence significative sur le bien-être et l'expression des comportements innés (Gross et al., 2011; Olsson & Dahlborn, 2002; Sherwin, 1997; Van de Weerd et al., 1997), d'autres ont montré que l'enrichissement social de l'environnement à lui seul n'exerce que des effets

très limités sur les comportements exploratoires chez la souris (Pietropaolo et al., 2004), tout comme chez le rat (Zimmermann et al., 2001). Inversement, dans une autre étude, des souris Swiss bénéficiant d'une combinaison d'enrichissement physique et social exprimaient des comportements locomoteurs réduits, passant notamment plus de temps dans la zone périphérique de *l'open field*, mais également moins de temps d'interaction avec un objet non familier, contrairement à leurs congénères hébergées dans des conditions d'isolement (Pietropaolo et al., 2004). Suivant une approche similaire, une autre étude a démontré que la combinaison d'enrichissement psychomoteur et d'enrichissement social potentialisait l'habituation des souris dans un *elevated zero maze* et dans un *open field* lors de leurs expositions répétées (Rabadán et al., 2019).

La relation entre des conditions d'hébergement appauvries et le développement de stéréotypies comportementales est également solidement établie (Balcombe, 2006; Mason, 1991). Les comportements stéréotypés se caractérisent généralement par des schémas de comportement répétitifs, constants et dépourvus de toute fonction évidente, fréquemment observés chez les animaux maintenus en isolement ou dans des conditions appauvries. La stéréotypie comportementale est très souvent le reflet d'un bien-être compromis et d'une souffrance psychologique chez le rongeur d'expérience (Mason 1991), s'exprimant, en fonction de certaines souches, au travers de comportements comme le toilettage exacerbé (*barbering*), le mâchonnement du grillage de la cage, des sauts soudains et répétés du grillage vers le sol ou encore lorsque le rongeur virevolte rapidement (Fureix et al., 2016; Nevison et al., 1999). Certaines données scientifiques suggèrent que les causes spécifiques des stéréotypies comportementales varient selon les espèces étudiées, mais elles découleraient pratiquement toutes généralement de la frustration engendrée par l'absence d'opportunités d'expression des comportements innés dans la cage d'hébergement. Selon certaines données, les stéréotypies sont pratiquement inexistantes chez les animaux en milieu naturel, indiquant que les conditions en laboratoire constituent certainement une cause sous-jacente à ces comportements

anormaux (Animal Welfare Institute, 2015; Keller et al., 2021). Les études menées en utilisant divers processus d'enrichissement environnemental ont largement démontré leurs effets bénéfiques sur les comportements stéréotypés. Par exemple, la simple présence de matériel de nidification au sein de la cage d'hébergement permet une réduction considérable d'expression de stéréotypies par rapport à une condition d'appauvrissement chez la souris CD-1 (Gross et al., 2011). Dans des environnements plus complexes comprenant des abris, des surfaces d'escalade ou du matériel de nidification en plus grande quantité, une nette diminution des stéréotypies est également observée par rapport aux individus hébergés en isolement (Gross et al., 2012). Cependant, il semblerait que le type d'enrichissement n'exerce aucune influence significative sur le niveau de stéréotypie observé dans une cage d'hébergement et sur les comportements liés à l'anxiété mesurés dans certains tests. Ainsi, ces conclusions soumettent le constat que, chez certaines souches de souris de laboratoire ni l'ajout de complexité structurelle, ni l'introduction de nouveauté n'exercent des effets notables et bénéfiques sur le développement des stéréotypies ou de l'anxiété, comparativement à la simple présence du matériel de nidification (Gross et al., 2011; Olsson & Dahlborn, 2002). Les résultats tirés de la littérature restent encore à ce jour très équivoques. Cette discordance a notamment été appuyée par une autre étude (Latham & Mason, 2010) utilisant des souris issues de la même souche (CD-1) et hébergées dans des conditions très similaires : des cages contenant soit uniquement du matériel de nidification, soit du matériel de nidification accompagné d'autres enrichissements physiques, tels que des boîtes de nidification, des tunnels en plastique et un objet non familier remplacé chaque semaine. Les souris hébergées exclusivement en présence de matériel de nidification développaient des niveaux de stéréotypie comparables à l'étude de Gross et al. (2011), tandis que les individus issus de la condition d'enrichissement supplémentaire exprimaient significativement moins de comportements stéréotypés. La récente étude de Bailoo et al. (2018) vient également conforter cette ambivalence en montrant qu'une condition super-enrichie fournit certainement de nombreux

bénéfices en terme d'expressions de comportements stéréotypés, d'anxiété ou encore de réponse au stress, mais sans remarquer de différences significatives envers les autres processus d'enrichissement étudiés. À d'autres niveaux comportementaux, certaines données expérimentales convergent vers le postulat d'une amélioration des performances dans les tâches d'apprentissage et de mémoire, ainsi que vers une réduction des comportements dépressifs et des comportements liés à l'anxiété après une exposition à divers environnements enrichis, à l'instar de l'opportunité d'exercice physique, d'une complexité physique et sociale ou d'une combinaison de ces processus (Aujnarain et al., 2018; Hendershott et al., 2016; Mesa-Gresa et al., 2013; Morgan et al., 2018; Rabadán et al., 2019; Sparling et al., 2020; Wang et al., 2023).

Malgré de nombreux résultats agissant comme porte-étendard des effets bénéfiques de l'enrichissement environnemental, il semblerait qu'en réalité, telle qu'elle est conçue et pratiquée actuellement, cette approche ne constitue pas une solution complète à la problématique du bien-être animal dans des conditions de captivité (Olsson & Dahlborn, 2002). Selon certaines constatations empiriques, de nombreuses études démontrent que dans des conditions d'expérimentation, l'expression de comportements anormaux, par exemple le développement de stéréotypie, d'anxiété ou de symptômes dépressifs, reste infaillible. Dans la pratique, une certaine proportion d'animaux de laboratoire développera tout de même des comportements anormaux, même lorsque les conditions d'hébergement ont été raffinées et optimisées, tout simplement parce que les formes simples d'enrichissement et de raffinement, telles que la fourniture de matériels de nidification, voire certains processus très complexes comme les environnements semi naturels, ne parviennent jamais à pallier totalement le manque de stimulation environnementale rencontrée dans le milieu naturel (Powell et al., 1999, 2000; Würbel et al., 1998; Zimmermann et al., 2001). Une interrogation subsiste néanmoins quant aux fondements de l'intérêt du bien-être des animaux de laboratoire. Certains avancent que, étant donné que ces animaux ont toujours vécu dans des conditions de laboratoire ou de domestication, ceux-ci n'ont jamais

expérimenté les stimulations environnementales issues du milieu naturel. Contrairement à certaines espèces initialement sauvages et redirigées dans des environnements captifs, les rongeurs de laboratoire, entre autres, sont des animaux nés et hébergés en captivité. Le fait que leurs ancêtres sauvages aient été capturés suggère des différences par rapport à ceux qui ne l'ont pas été et leur domestication subséquente pourrait avoir conduit à la perte de certains de leurs comportements naturels au fil des générations (Arakawa, 2018; Berry & Bronson, 1992). Ainsi, à quoi bon se conformer aux principes de raffinement et d'enrichissement du milieu d'hébergement dans l'optique de répondre aux besoins intrinsèques et de fournir des stimulations supplémentaires aux espèces étudiées si celles-ci n'en ont aucunement vécu l'expérience ? Cette pensée dogmatique pourrait par conséquent réduire considérablement la problématique du bien-être animal en captivité et la rendre extrêmement futile. Toutefois, il nous semble crucial d'intégrer dans la pensée analytique que la grande majorité des besoins innés des animaux de laboratoire est inscrite dans leur patrimoine génétique, demeurant par ailleurs très similaire à celui de leurs homologues sauvages. Les travaux du Dr. Berdoy (2003) viennent d'ailleurs corroborer ce postulat en démontrant que, malgré des générations de captivité, cette vaste gamme de comportements et de besoins reste immanente et prête à se manifester dès qu'une opportunité se présente. Il est de surcroît très probable que l'adaptation des souris de laboratoire en milieu semi-naturel soit très comparable à celle observée chez le rat (Animal Welfare Institute, 2015; Mieske et al., 2021). Ce patrimoine génétique commun soulève également des questions importantes sur la nature de ces besoins innés et leur adaptation aux environnements artificiels aménagés en laboratoire. Les rongeurs de laboratoire expriment un large éventail de comportements intrinsèques lorsqu'ils sont confrontés à des situations offrant l'opportunité d'expression de ces comportements, indiquant qu'ils conservent une grande partie de leur répertoire comportemental hérité (Arakawa, 2018; Dewsbury, 1983). En effet, même si les animaux de laboratoire, comme les rongeurs, n'ont pas subi l'expérience du milieu sauvage, il est ainsi très probable que leurs comportements

et leurs besoins naturels soient le reflet d'une série d'adaptations transmis génétiquement par leurs ancêtres sauvages (Animal Welfare Institute, 2015; Bayne, 2018; Morgan & Tromborg, 2007; Newberry, 1995).

4.3. Effets ontogénétiques

À l'instar des conditions environnementales enrichies et des conditions appauvries ou d'isolement chronique, le facteur de l'âge constitue une variable majeure basée sur certaines propriétés biologiques influençant divers processus cognitifs. Comme nous l'avons sous-entendu dans la section 2, l'âge constitue donc une variable non-négligeable lorsque des recherches sur l'enrichissement environnementales sont entreprises. Bien que la plupart des revues reconnaissent que l'enrichissement exerce des effets différents selon l'âge auquel il est introduit (et bien entendu, selon la modalité étudiée), très peu d'études comparatives ont évalué directement les effets ontogénétiques selon certaines tranches d'âge. La majorité des études rapporte que, de manière générale, la période de l'adolescence se montre la plus sensible à diverses interventions, y compris l'enrichissement environnemental, par rapport à l'âge adulte (Torres-Reveron & Dow-Edwards, 2022). L'adolescence représente une étape de transition cruciale entre l'enfance et l'âge adulte, marquée par des changements cérébraux et hormonaux importants, se traduisant par un affinement émotionnel, social et cognitif exerçant un rôle majeur dans le développement social de l'individu adulte. Cette période est particulièrement sensible aux effets de tous types de stress, singulièrement ceux issus du contexte social comme le harcèlement ou l'isolement. Plusieurs études renforcent l'idée que l'enrichissement proposé pendant l'adolescence bénéficie davantage aux tâches d'apprentissage, de mémoire et à certaines propriétés neurobiologiques que lorsqu'il est mis en place à l'âge adulte (Doreste-Mendez et al., 2019; Mora-Gallegos et al., 2015; Sampedro-Piquero et al., 2013). Nous savons que l'adolescence constitue une période neurodéveloppementale marquée par de profonds changements neuronaux, physiques, cognitifs, émotionnels et sociaux, non seulement chez l'être humain,

mais également chez tous les mammifères. En général, les animaux adolescents sont par exemple plus sensibles aux stimuli stressants et secrètent des niveaux plus élevés de glucocorticoïdes en réponse à ces facteurs de stress (Camarini et al., 2018). Chez le rongeur, parmi les changements comportementaux les plus marquants, les individus adolescents montrent une augmentation du temps passé en interaction sociale avec leurs congénères (Primus & Kellogg, 1989) et une recherche de nouveauté accrue (Adriani et al., 1998) pouvant parfois les conduire à adopter des comportements à risque, comme des prédispositions à la récompense liée aux substances (Brabant et al., 2005; Nyssen et al., 2016; Van Hees et al., 2022; Weiss et al., 2020). Certains chercheurs soutiennent que ces changements comportementaux résultent, au moins en partie, d'une maturation accélérée du cerveau et des réorganisations cérébrales principalement localisées dans le cortex préfrontal et les régions mésolimbiques liées à la motivation et à la récompense (Spear, 2000a).

L'âge à partir duquel la différenciation des conditions d'hébergement est mise en place varie considérablement d'une étude à l'autre. Chez le rat et la souris, ce processus peut aller de l'application immédiate après le sevrage jusqu'à deux ans à la suite (Simpson & Kelly, 2011). Cependant, la plupart des chercheurs initie généralement l'enrichissement environnemental au cours du premier mois de vie, plus fréquemment juste après le sevrage (21-23 jours). Le premier mois de vie constitue une période très sensible durant laquelle les expériences contribuent de manière significative au développement comportemental de l'animal (Einon & Morgan, 1977; Olsson & Westlund, 2007). Bien que les effets bénéfiques de l'enrichissement pendant l'âge adulte soient avérés (Chandler et al., 2020; Olsson & Westlund, 2007; Pham et al., 2005; Pietropaolo et al., 2004; Rogers et al., 2017; Segovia et al., 2008; van Praag, 2008), les recherches se concentrant sur les effets de l'enrichissement dès l'adolescence suggèrent que ces divers processus seraient les plus bénéfiques s'ils sont proposés dès le premier mois de vie, ceux-ci pourraient ainsi jouer un rôle critique dans l'expression d'effets comportementaux relativement durables à l'âge adulte (Brenes et al., 2008;

Hellemans et al., 2004; McQuaid et al., 2018; Simpson & Kelly, 2011). Par exemple, des processus d'enrichissement physique proposés dès la fin du sevrage renforcent la préférence sociale, réduisent les comportements liés à l'anxiété et améliorent l'apprentissage spatial à l'âge adulte chez la souris mâle et femelle (Aujnarain et al., 2018; Hendershott et al., 2016; McQuaid et al., 2018). En outre, certains auteurs ont observé des effets considérables de l'enrichissement sur le stress prénatal. Par exemple, une diminution des comportements liés à l'anxiété est observée chez des jeunes souris mâles issues de mères ayant été soumises à un stress répété pendant la fin de la gestation (Pascual et al., 2015). Dans une récente étude comparative (Chandler et al., 2020), des chercheurs ont investigué divers effets comportementaux suivant une courte période d'enrichissement environnemental chez des souris C57BL/6J adolescentes et adultes. L'apport d'enrichissements physiques variés pendant deux semaines, composé d'une roue d'activité, de nids, d'abris et de tunnels, était suffisant pour influencer les comportements liés à l'anxiété à la fois chez les souris adolescentes et adultes. Ainsi, les souris ayant bénéficié d'une période d'enrichissement passaient significativement plus de temps dans l'exploration d'un *elevated plus maze* et passaient également plus de temps dans la zone centrale, généralement liée au danger, d'un *open-field*. De même, les résultats du test du *Morris water maze*, mesurant l'apprentissage et la mémoire, ont révélé que l'enrichissement permettait d'améliorer significativement les capacités de mémorisation, quel que soit l'âge. Les individus ayant bénéficié d'une période d'enrichissement présentaient un niveau plus élevé de réussites dans la localisation de la plateforme immergée par rapport aux individus hébergés dans des conditions standards. Les résultats indiquent encore que, dans la globalité des tests comportementaux effectués, les souris adolescentes bénéficiant de l'enrichissement acquéraient ces compétences plus rapidement que leurs homologues adultes. D'autres chercheurs avaient révélé quelques années auparavant le même pattern de résultats, tant chez la souris (Hendershott et al., 2016) que chez le rat (Peña et al., 2009; Sampedro-Piquero et al., 2013).

Notons encore que les modifications environnementales jouent un rôle essentiel dans le renforcement de la neuroplasticité. Comme nous l'avons discuté précédemment (cf. section 4.1), les améliorations cognitives induites par l'enrichissement environnemental sont par ailleurs étroitement liées à une augmentation de l'expression des facteurs neurotrophiques, c'est-à-dire les protéines potentialisant la croissance et la survie des cellules cérébrales, ainsi qu'à une neurogenèse accrue dans l'hippocampe, une des régions cruciales de la mémoire (Olson et al., 2006). Un vaste attirail de données suggère que des environnements enrichis sur le long-terme, c'est-à-dire au fur et à mesure du développement du rongeur, peuvent également jouer un rôle clé dans le maintien de la santé cognitive à mesure du vieillissement (Birch & Kelly, 2019; Singhal et al., 2019). Des recherches ont prouvé en ce sens que l'activité physique pouvait constituer un puissant stimulant de la mémoire (O'Callaghan et al., 2009; Voss et al., 2013). En outre, la stimulation environnementale physique à long terme peut être aussi efficace que l'exercice pour atténuer les comportements liés à l'anxiété (Galani et al., 2007) et le déclin mnésique associé au vieillissement (Birch et al., 2013; Bruel-Jungerman et al., 2005) chez le rongeur. Par exemple, une étude a démontré que l'apport d'un enrichissement de type physique et cognitif, riche en opportunités intellectuelles, peut atténuer de nombreuses déplétions liées au vieillissement cérébral (Mattson et al., 2001). Par ailleurs, il semblerait encore que la restriction alimentaire peut faciliter le ralentissement de ses effets (Prolla & Mattson, 2001). Les mécanismes sous-jacents aux effets bénéfiques de la restriction alimentaire et de l'enrichissement sur les processus du vieillissement cérébral impliquent la stimulation de l'expression des facteurs neurotrophiques comme le *BDNF*. La libération des facteurs neurotrophiques et de certaines protéines de stress induit par la restriction alimentaire pourrait protéger les neurones en stabilisant notamment l'homéostasie calcique cellulaire, en inhibant l'apoptose (mort cellulaire programmée), et en facilitant la prolifération de nouvelles cellules neuronales générées dans le cerveau adulte, menant ainsi à la plasticité et à l'autoréparation (Mattson, 2000; Mattson et al., 2001).

4.4. Isolement social et surpopulation

Comme nous l'avons mentionné précédemment, il n'est pas rare de constater dans le corpus de la littérature scientifique que le terme « isolement » est employé pour décrire l'hébergement individuel des rongeurs. Toutefois, comme le discutent Van Loo et collaborateurs (2001), il nous semble important d'intégrer que l'hébergement individuel des rongeurs doit constituer une mesure temporaire, ces derniers ont par ailleurs souvent la possibilité de sentir, d'entendre, voire d'entretenir des interactions visuelles avec d'autres congénères hébergés dans la même pièce d'animalerie, limitant effectivement le degré de sévérité de cet isolement (Van Loo, de Groot, et al., 2001; Van Loo, Mol, et al., 2001). Néanmoins, le fait d'héberger individuellement un animal captif le prive de stimuli sociaux directs, ce qui, dès lors, peut entraîner des altérations comportementales significatives (Olsson & Westlund, 2007). Contrairement à l'hébergement individuel, l'isolement social se caractérise par la déprivation totale de contacts, d'interactions sociales et plus largement de *social buffering*. Selon certains auteurs, les effets de l'isolement social chronique, tel que modélisé chez le rongeur, sont considérés comme une représentation pertinente de celui rencontré chez l'être humain. L'isolement social chronique est par ailleurs reconnu comme un facteur de risque puissant de déclin cognitif et de maladies neurodégénératives dans la population humaine (Heinrich & Gullone, 2006; Matthews & Tye, 2019). De nos jours, les caractéristiques de l'isolement social chez le rongeur peuvent varier dans leur degré de sévérité en fonction des études entreprises et des décisions éthiques qui s'y réfèrent. L'isolement social peut caractériser une condition d'hébergement individuel avec ou sans la présence de matériel de nidification, pouvant éventuellement fournir l'opportunité d'établir des interactions visuelles, auditives ou olfactives indirectes avec d'autres individus, ou encore, très rarement, une condition d'appauvrissement sensorielle, physique et sociale stricte, caractérisée par un isolement dans une animalerie distincte. La recherche établit également une différenciation entre les rongeurs hébergés en isolement (« *isolation-housed* ») et ceux élevés en isolement (« *isolation-reared* »).

L'hébergement en isolement fait généralement référence à des rongeurs adultes maintenus individuellement dans des cages, mais, auparavant, élevés dans un environnement standard, raffiné et éventuellement enrichi en cohabitation avec d'autres congénères. Ainsi, ces rongeurs ne sont hébergés en isolement qu'après une période de cohabitation sociale, généralement après leur phase principale de développement, c'est-à-dire à la fin de l'adolescence, ou après une phase d'acclimatation faisant suite à un transfert, que ce soit pour des raisons de conception expérimentale ou à des fins de recherche spécifique. Les rongeurs élevés en isolement sont des animaux ayant été élevés en cage individuelle dès leur adolescence ou à un âge anticipé, voire très précoce, directement après le sevrage ou plus rarement dans l'enfance, traduisant ainsi une absence presque totale d'interactions sociales avec d'autres congénères pendant leur développement (Olsson & Westlund, 2007; Wilkinson et al., 1994). Cette forme d'isolement est très certainement la plus reconnue pour entraîner des altérations comportementales et physiologiques sérieuses en raison d'une carence de développement de liens sociaux et d'autres besoins liés pendant la phase développementale critique (voir Brenes et al., 2008; Dudek et al., 2021; McQuaid et al., 2018; Simpson & Kelly, 2011). Fondamentalement et indépendamment de sa forme, l'isolement social chronique est notamment reconnu pour engendrer des modifications comportementales et physiologiques significatives chez un large éventail d'espèces animales (Arakawa, 2018; Balcombe, 2006; Cacioppo & Hawkley, 2009). Comme l'ont mis en évidence les chercheurs pionniers sur les effets neurobiologiques de l'enrichissement (voir Bennett et al., 1969 ; Diamond et al., 1964 ; Rosenzweig & Bennett, 1969), il est bien établi que tant un environnement physiquement appauvri qu'une privation sociale exercent des influences significatives sur la structure cérébrale, les paramètres biochimiques et les comportements, entraînant de cette manière des altérations globales de ces mêmes propriétés (Valzelli, 1973). En outre, l'isolement social chronique peut très souvent mener au développement du syndrome d'isolement (Balcombe, 2006; Kappel et al., 2017; Valzelli, 1973; Van Loo et al., 2003), se manifestant par une

gamme de perturbations comportementales, à l'instar des comportements stéréotypés, de l'hyperactivité, des comportements agonistiques, des crises convulsives, de la nervosité, de l'anxiété chronique, des symptômes dépressifs et du stress chronique, ces affres pouvant entre autres se répercuter sur le chercheur via des difficultés de manipulation (Balcombe, 2006; Hellemans et al., 2004; Ieraci et al., 2016; Kappel et al., 2017; Van Loo, de Groot, et al., 2001). Par ailleurs, en plus de ces symptômes comportementaux, des conséquences physiologiques peuvent très souvent survenir, telles qu'une fonction immunitaire réduite, une vulnérabilité accrue aux tumeurs, des ulcères gastriques, une plus forte sensibilité aux substances addictogènes et aux toxines, ainsi que l'augmentation d'une panoplie de problèmes de santé (Butler et al., 2016; Donovan et al., 2020; Hermes et al., 2009). De plus, même certains schémas comportementaux élémentaires liés aux instincts intrinsèques de survie peuvent se révéler profondément compromis par l'isolement social chronique. Par exemple, dans un dispositif où l'eau est accessible via un levier, plus de 30% des souris isolées, sans aucune expérience préalable, se montrent totalement incapables d'apprendre comment s'abreuver et meurent dès lors de déshydratation dans les jours suivant, tandis que ce nombre chute à 18% si les individus sont isolés après une période d'hébergement social d'une semaine (Valzelli, 1973). Ces données soulignent ainsi l'importance de l'apprentissage par imitation et l'apprentissage social (Byrne & Russon, 1998; Caldwell & Whiten, 2002; Valzelli, 1973). En outre, certains des changements comportementaux et neurochimiques observés chez des rongeurs élevés en isolement ont des implications pouvant être appliquées à l'étude des troubles neuropsychologiques développementaux. Ces découvertes ont notamment mener à l'idée d'élever des rongeurs en isolement afin de constituer un modèle animal de ces troubles, étant donné que certaines des altérations comportementales et neurochimiques observées présentent une pertinence translationnelle (Fone & Porkess, 2008), en particulier pour plusieurs symptômes fondamentaux de la schizophrénie (Pietropaolo et al., 2008), mais également pour certaines altérations observées dans la dépression (Ieraci et al., 2016).

À l'inverse de l'isolement social chronique, des animaux hébergés dans un environnement enrichi sont généralement moins vulnérables à l'hyperactivité ou à la nervosité. Ce postulat s'explique en partie par le fait que la restriction des stimuli sensoriels rend le système nerveux plus sensible et plus réactif aux stimulations externes (Van de Weerd et al., 2002). Plus spécifiquement chez la souris, une hyperactivité comportementale est très souvent observée au cours de plusieurs tests réalisés après une période d'isolement chronique. Par exemple, chez deux souches *inbred*, C57BL/6J et DBA/2J, élevées en isolement pendant 7 semaines, une expression de comportements hyperactifs, notamment une réduction de l'habituation dans les tests évaluant l'activité locomotrice et l'exploration, et une réduction d'immobilité dans un test de nage forcée ont été observées (Van de Weerd et al., 2002; Võikar et al., 2005). Par ailleurs, Sullens et al. (2021) rapportent des résultats d'exploration et d'hyperactivité similaires chez des souris âgées, suggérant ainsi que l'hyperactivité induite par l'isolement social peut s'observer tout au long de la vie (An et al., 2017; Hasebe et al., 2015). En outre, certains auteurs ont démontré que l'isolement entraîne une hyperactivité et des comportements exploratoires accrus dans d'autres tests, comme *l'elevated plus maze* ou *l'open field*, par rapport à des conditions d'hébergement standards. En ce sens, des rongeurs adolescents et adultes isolés expriment également une augmentation des comportements exploratoires et locomoteurs et une réduction des comportements liés à l'anxiété dans ces mêmes tests (Bailoo et al., 2018; Fei et al., 2019; Hilakivi et al., 1989). Il s'avérerait semblablement que l'isolement social chez les souris âgées entraîne une réduction des comportements liés à l'anxiété et une augmentation de l'activité locomotrice spontanée dans le test de *l'open-field*, se traduisant notamment par la tendance à explorer davantage le centre de l'arène par rapport à des souris hébergées en groupe social, passant plus de temps à parcourir sa périphérie. Cependant, l'observation de comportements similaires dans *l'elevated plus maze* se révèle parfois incohérente, suggérant que l'effet anxiolytique de l'isolement est relativement changeant et peut varier entre les laboratoires ou diminuer au fil des sessions de test (Sparling et al.,

2020; Sullens et al., 2021). Par exemple, des auteurs (Rodgers & Cole, 1993) ont démontré qu'une mise en isolement social pendant 1 à 3 semaines renforce certes l'agressivité chez des souris mâles DBA/2J, mais ne modifie sensiblement pas l'exploration et les comportements liés à l'anxiété dans le labyrinthe par rapport à des sujets hébergés dans un environnement social. Enfin, d'autres études ont décrit des effets anxiolytiques (Hilakivi et al., 1989; Võikar et al., 2005) ou des effets anxiogènes (Ferrari et al., 1998). Võikar et al. (2005) ont constaté que des souris mâles DBA/2J et C57BL/6J hébergées individuellement semblaient moins anxieuses dans le labyrinthe que les animaux en groupe, tandis que Ferrari et al. (1998) ont rapporté une augmentation générale des mesures d'anxiété chez des souris Swiss mâles isolées par rapport à leurs homologues en groupe. À l'heure actuelle, l'étude des comportements liés à l'anxiété dans les tests évaluant ces processus se révèle incohérente, faute de pouvoir contrôler bon nombre de paramètres. Ce manque de contrôle se montre encore plus délicat lorsqu'une différenciation des conditions d'hébergement entre en considération. Nous proposerons une discussion détaillée de ce sujet en lien avec les résultats de notre troisième étude dans la partie conclusive de ce travail (cf. section 2.3 du chapitre 10).

Outre les aspects comportementaux liés à l'hyperactivité et à l'anxiété, de nombreux chercheurs ont mis en lumière la relation entre l'isolement social et les comportements agressifs. Les comportements agressifs dirigés vers un congénère furent par ailleurs les premiers effets observables à être identifiés chez la souris lors des études sur l'isolement (voir Valzelli, 1967, 1973; Yen et al., 1959). À cet égard, les changements biochimiques et comportementaux induits par l'isolement social prolongé chez différentes souches de souris sont fréquemment associés à des variations du taux cérébral de certaines monoamines, comme la sérotonine (Liu et al., 2019; Malick & Barnett, 1976; Tanaka et al., 2017; Valzelli & Bernasconi, 1979), la dopamine (Araki et al., 2014), mais aussi le facteur de libération de la corticotrophine (*CRH*) ou encore le système GABA (Hasebe et al., 2015; Hodge & Butcher, 1975; Ojima et al., 1995), ces dernières se manifestant de manière

significative chez les souches réagissant à l'isolement avec un degré constant d'agressivité. Cet effet serait par ailleurs réversible et drastiquement plus représentatif chez les individus mâles (Matsumoto et al., 2019; Valzelli, 1973), notamment chez les souches Swiss, C57BL/6J et DBA (Goldberg et al., 1973; Sandnabba, 1995a; Valzelli & Bernasconi, 1979). Selon les premières symptomatologies du syndrome d'isolement (Valzelli, 1973), les souris isolées présentent des glandes surrénales plus volumineuses et plus lourdes ainsi qu'une concentration plasmatique de corticostérone plus élevée que les souris hébergées dans des conditions standards (Sigg, 1969, cité par Valzelli, 1973). Par ailleurs, il est également bien reconnu que les hormones stéroïdes mâles, comme la testostérone, jouent un rôle critique dans les réactions comportementales d'agression provoquée par l'isolement chronique (Conner et al., 1969; Ogawa et al., 2004; Valzelli, 1973). Les individus très territoriaux, possèdent généralement des niveaux plus élevés de testostérone, des testicules et des glandes sexuelles secondaires plus volumineux, et des glandes surrénales plus petites que leurs congénères subordonnés (Brain & Parmigiani, 1990; Parmigiani et al., 1989). Chez la souris DBA/2J, l'isolement social augmente considérablement l'incidence de comportements agonistiques entre mâles lors d'un test d'agressivité mené dans un environnement neutre. De fait, tandis que seuls 13% des individus hébergés en groupe exprimaient des comportements agressifs dirigés envers un individu non familial, 86% des individus hébergés en condition d'isolement manifestaient des comportements agressifs et des attaques physiques ciblées (Rodgers & Cole, 1993). Selon ces chercheurs, la fréquence des agressions est directement proportionnelle à la durée de l'isolement. En conséquence, 100 % des individus isolés pendant 3 semaines et 88% de ceux isolés pendant 2 semaines exprimaient des attaques physiques ciblées. Chez la souris Swiss mâle, l'augmentation de l'agressivité est également liée à la durée d'isolement (Ojima et al., 1995; Pinna et al., 2003). Par exemple, au cours des 4 premières semaines d'isolement social, une augmentation notable de l'agressivité est observée. Ainsi, les souris isolées exprimaient des comportements agonistiques lorsqu'elles étaient confrontées

l'une à l'autre dans un environnement neutre. Après les 4 premières semaines d'isolement, les niveaux d'agressivité atteignaient un plateau, suggérant que les individus exprimaient un niveau stable ou constant dans les comportements agressifs. Au même titre, ce plateau d'agressivité peut persister jusqu'à 8 semaines d'isolement, tandis que ces comportements agressifs sont pratiquement absents chez les femelles Swiss (Pinna et al., 2003), mais peuvent être induits par l'administration de stéroïdes comme le propanoate de testostérone (Pinna et al., 2005). Dans une récente étude, les comportements agressifs induits par l'isolement social chez la souris Swiss mâle peuvent être significativement diminués par l'administration de cannabidiol (CBD), agissant par le biais de mécanismes associés à l'activation des récepteurs sérotoninergiques 5-HT_{1A} et cannabinoïdes CB₁. En ce sens, différentes doses de CBD administrées ont significativement induit une diminution du nombre d'attaques physiques. En outre, à des doses intermédiaires (15 et 30 mg/kg), l'administration de cannabidiol permet encore d'augmenter le temps avant l'initiation des agressions et réduit considérablement la durée des attaques (Hartmann et al., 2019). Bien que l'agression entre congénères ait été largement étudiée, certaines recherches ont élargi les tests d'agression dans d'autres domaines d'investigation, plus ou moins particuliers. Par exemple, une étude intéressante a investigué les comportements d'agressions prédatrices lorsqu'un grillon vivant était introduit dans la cage de souris mâles hébergées en isolement. Les sujets de cette étude étaient obtenus grâce à une séquence continue d'élevage sélectif, basée sur l'agression inter-sujets induite par l'isolement social. Ainsi, cet élevage sélectif a pu engendrer une lignée à forte agressivité et une lignée à faible agressivité dérivées d'une souche Swiss commune. Les individus issus de la lignée agressive exprimaient des délais plus courts avant d'attaquer le grillon et passaient plus de temps à le poursuivre et à exprimer des comportements agressifs par rapport aux individus de la lignée non-agressive et de la lignée standard. De surcroît, les mâles de la lignée non-agressive manifestaient des comportements agressifs nettement moins importants que ceux des lignées agressive et standard (Sandnabba, 1995a). Par ailleurs,

aucune différence significative n'a pu être démontrée entre les lignées agressive et non agressive chez la souris Swiss femelle (Sandnabba, 1995b). Cependant, tout comme dans l'étude de Pinna et collaborateurs (2005), des administrations d'androgènes ou de stéroïdes peuvent inverser cette tendance. Ainsi, une autre étude a pu observer que des souris Swiss femelles issues d'une lignée agressive, ayant été exposées à un prétraitement aigu de propanoate de testostérone dès le deuxième jour de vie, suivi d'administrations répétées à l'âge adulte, exprimaient des comportements agressifs lors d'un test d'interaction avec un congénère non familial à un niveau similaire à celui observé chez les mâles isolés issus de cette même lignée (Sandnabba et al., 1994).

À l'instar de l'isolement social chronique, la surpopulation peut également être une cause du stress chronique, particulièrement dans les pays et les communautés pauvres (voir Baum et al., 1999). Selon le psychologue américain Daniel Stokols, une distinction doit néanmoins s'établir entre la densité, c'est-à-dire une condition physique définie en termes de paramètres de surface, et l'expérience de l'encombrement social ou de la surpopulation, caractérisée par un état psychologique suscité par l'interaction des facteurs spatiaux, sociaux et psychologiques. De nombreux auteurs emploient fréquemment ces termes de manière interchangeable, négligeant de la sorte la distinction entre l'aspect physique de la densité, liée aux contraintes spatiales, et l'état expérientiel de l'encombrement social ou de la surpopulation, dans lequel les individus exposés à des espaces restreints perçoivent les aspects contraignants (Stokols, 1972). Selon la distinction proposée par Stokols, la densité est ainsi considérée comme un antécédent nécessaire, plutôt qu'une condition suffisante, pour l'expérience de l'encombrement. Toute forme de limitation spatiale implique des inconvénients potentiels, tels que la restriction des déplacements ou la diminution de l'intimité. Cependant, ces contraintes potentielles ne sont pas nécessairement saillantes et expérimentées de manière identique pour tous les individus occupant cette même zone restreinte. Malgré l'apparence trompeuse de ce terme, la surpopulation est aussi liée à une condition d'hébergement appauvrie chez le rongeur (Delaroque et

al., 2021; Lin et al., 2015). L'hébergement des rongeurs dans des cages à forte densité est en outre reconnu pour modifier profondément les comportements fonctionnels chez le rat et la souris, pouvant de ce fait mener à l'expérience négative de surpopulation pour certains congénères (Arakawa, 2005; Brown & Grunberg, 1995). La surpopulation sociale peut être assez facilement modélisée chez la souris et le rat en faisant varier la densité, soit en limitant l'espace physique d'hébergement, soit en augmentant considérablement le nombre de congénères dans une même cage, menant alors à un encombrement social et des interactions forcées entre les individus (Gregor et al., 1972), et pouvant induire des altérations comportementales semblables à celles rencontrées dans l'isolement. À l'instar de l'isolement, la surpopulation entraîne également une augmentation des taux de corticostérone et du glucose sanguin, ces modifications étant associées à des altérations de la composition du microbiote intestinal, ainsi qu'à une modeste inflammation (Delaroque et al., 2021). Dans la récente étude de Delaroque et collaborateurs (2021), les chercheurs ont utilisé un modèle de surpopulation dans lequel des souris étaient hébergées en groupe de 10 individus par cage et comparées à un groupe contrôle d'hébergement social standard comprenant 5 individus, durant une période d'environ 11 semaines. De manière surprenante, les résultats obtenus dans certains tests comportementaux évaluant l'exploration, l'activité locomotrice et les comportements liés à l'anxiété se révèlent très similaires à ceux obtenus pour l'isolement social (voir Bailoo et al., 2018; Fei et al., 2019; Hilakivi et al., 1989 ; Võikar et al., 2005). En conséquence, les individus de la condition surpeuplée exprimaient des comportements locomoteurs plus importants, comme une distance parcourue plus longue et une vitesse supérieure dans un *elevated plus maze*. En outre, les souris issues des cages surpeuplées entraient plus fréquemment dans le compartiment sombre lors d'un test de la *light/dark box*, mais ne manifestaient pas de modifications significatives dans le test de *l'open-field*. Toutefois, ces modifications comportementales étaient accompagnées d'un taux de corticostérone deux fois plus élevé par rapport aux souris contrôles, de même qu'à une altération du métabolisme, telle qu'une prise

de poids et une nette augmentation de la glycémie à jeun. À nouveau, et comme ce fut le cas pour l'isolement, l'expression de ces comportements se révèle parfois incohérente. Une autre étude a par exemple recueilli des résultats opposés à ceux de Delaroque et collaborateurs (2021). Plus précisément, dans cette étude (Lin et al., 2015), deux groupes d'hébergement d'une durée de 9 semaines étaient comparés, un groupe social contrôle comprenant 4 individus par cage et un groupe social comprenant 8 individus. La condition dite surpeuplée n'a pas significativement influencé l'activité locomotrice globale, ni le temps passé au centre de l'arène dans le test de *l'open-field*. Cependant, une réduction du ratio distance au centre et distance totale parcourue, ainsi qu'une défécation accrue sont observées, suggérant par conséquent une augmentation des comportements liés à l'anxiété. Aucune différence marquante n'est rapportée, ni dans le test de *l'elevated plus maze* ni dans le test de nage forcée entre les deux groupes, bien que de telles différences aient été observées respectivement dans les études de Delaroque et al. (2021) et de Vöikar et al. (2005). Outre les comportements locomoteurs, une augmentation des comportements agressifs entre congénères est fréquemment observée dans des conditions d'hébergement à forte densité (Brain, 1975; Calhoun, 1962; Greenberg, 1972). Néanmoins, il existe actuellement un manque notable d'études explorant les effets de la surpopulation sur les comportements agressifs chez le rongeur, contrairement à l'isolement social ayant fait l'objet de plusieurs recherches intéressantes. Deux anciennes études menées sur la surpopulation ont tout de même révélé que l'encombrement social prolongé mène très souvent à l'expérience de surpopulation et à un stress psychosocial puissant chez la souris, entraînant davantage de comportements agonistiques dans la cage d'hébergement et dans un environnement neutre à la suite d'un choc électrique, ces comportements augmentaient d'ailleurs proportionnellement en fonction de la durée de l'hébergement (Greenberg, 1972; Gregor et al., 1972).

Chapitre 5

Effets de l'enrichissement de l'hébergement sur les processus toxicomanogènes de l'alcool

L'étude de l'influence conjointe de la qualité de vie et de l'addiction aux substances chez l'être humain offre une fenêtre captivante sur la complexité des dynamiques individuelles et sociales. Le concept de la qualité de vie, élaboré dans les sciences sociales, fut initialement appliqué en pratique médicale dans l'objectif de déterminer si les traitements contre le cancer pouvaient non seulement prolonger l'espérance de vie des patients, mais aussi améliorer leur sentiment de bien-être (Vanagas et al., 2004). Plus tard, le concept de qualité de vie fut étendu aux études investiguant les addictions en termes de fonctionnement, de bien-être et de satisfaction globale de vie (voir Habrat et al., 2002; Torrens et al., 1999). Le concept de qualité de vie est généralement défini par une combinaison de facteurs environnementaux et psychosociaux, il constitue par ailleurs un indicateur fondamental du bien-être général d'un individu. Parallèlement, l'addiction aux substances, qu'elle soit ancrée dans les substances licites comme l'alcool ou certains médicaments, ou illicites comme la cocaïne ou les opiacés, injecte une dimension perturbatrice supplémentaire dans la vie quotidienne d'un individu. De surcroît, ces deux composantes semblent souvent interagir de manière intriquée, créant un équilibre délicat entre le désir de résilience et d'une meilleure qualité de vie et les obstacles qu'impose le syndrome d'addiction. Dans cette perspective, cette exploration vise à sonder les multiples facettes de cette interaction, cherchant à comprendre comment la qualité de vie et l'addiction aux substances se conjuguent pour construire la trajectoire complexe du développement d'un

individu. Comme nous l'avons évoqué dans le chapitre 4, l'étude des effets préventifs de l'enrichissement ou de la qualité de vie n'a été investiguée que modestement chez l'être humain. Toutefois, il existe des preuves substantielles issues d'études épidémiologiques et cliniques soutenant une série de corrélations positives, notamment entre les difficultés psychosociales, les affects négatifs, le stress chronique et la vulnérabilité au développement de l'addiction (Sinha, 2008). Par exemple, des événements de vie négatifs tels que la perte d'un parent, le divorce, les conflits familiaux, le manque de soutien parental, la violence physique, les abus émotionnels et la négligence, la maltraitance sexuelle ou encore l'isolement social et la solitude ont tous été associés à un risque accru de développement de l'addiction aux substances. À l'inverse, certaines composantes peuvent mener à une amélioration de la qualité de vie dans la lutte préventive ou contre l'addiction acquise, telles que l'exercice physique (Abdullah et al., 2022; Lynch et al., 2013; Zhang & Yuan, 2019), la pleine conscience et la médiation (Dakwar & Levin, 2009; Zgierska et al., 2009), ou le développement de l'attachement et des relations sociales (Burkett & Young, 2012; Estevez et al., 2017, 2019).

Dans le cadre des modèles animaux de l'addiction, la notion de qualité de vie chez le rongeur peut, sous réserve de certaines précautions, être assimilée à celle que l'on rencontre généralement chez l'être humain. Pour rappel, le concept de qualité de vie chez le rongeur englobe principalement les aspects physiques et sociaux liés aux conditions d'hébergement, ainsi qu'à leurs raffinements et enrichissements. En outre, l'enrichissement environnemental a été largement étudié en tant que facteur protecteur ou thérapeutique efficace contre les effets toxicomanogènes des substances. Dans la littérature, force est de constater que ce phénomène concerne le plus généralement l'impact préventif de l'enrichissement où des environnements raffinés et/ou plus stimulants peuvent atténuer les mécanismes menant à la motivation, à la récompense et à d'autres processus liés à l'addiction chez le rongeur. Selon une récente revue, les

Chapitre 5

Effets de l'enrichissement de l'hébergement sur les processus toxicomanogènes de l'alcool

psychostimulants classiques correspondent toujours aux substances addictogènes les plus investiguées dans le domaine de l'enrichissement environnemental chez le rongeur. Ainsi, entre 2009 et 2022, la cocaïne, l'amphétamine, la méthamphétamine et le méthylphénidate constituaient la majorité des substances étudiées dans les travaux recensés, tandis que la nicotine, les substances opioïdes et l'éthanol concernaient toutes moins de 20% de ces rapports (Malone et al., 2022). La plupart des recherches menées depuis les études pionnières dans le domaine tentent généralement de déterminer dans quelle mesure l'enrichissement de l'hébergement modifie certains processus liés à l'addiction, tels que l'apprentissage de l'auto-administration intraveineuse, intracérébrale ou orale de drogues, l'hyperréactivité et la sensibilisation locomotrice ou encore la préférence de lieu conditionné. Ce type de recherche, explorant en particulier les substances stimulantes, ferait à ne pas douter l'objet d'un autre sujet de thèse très intéressant (voir Lespine, 2018). Ainsi, sans approfondir davantage cette question, de nombreuses études ont démontré que différentes formes d'enrichissement environnemental ont, dans une grande majorité d'occurrences, des conséquences bénéfiques sur le ralentissement et la réduction de l'acquisition, la réduction de l'expression et la réinstallation de l'auto-administration de cocaïne (Cosgrove, 2002; Lynch et al., 2010; Powell et al., 2020; Smith et al., 2008; Zlebnik et al., 2010), la réduction de la préférence de lieu conditionnée induite par la cocaïne (Chauvet et al., 2009; Freese et al., 2018; Solinas et al., 2008) et la sensibilisation comportementale (Chauvet et al., 2009; Geuzaine & Tirelli, 2014; Lespine & Tirelli, 2015, 2018; Solinas et al., 2008). Des résultats similaires ont été obtenus avec d'autres drogues stimulantes telles que les amphétamines (Garcia et al., 2017; Stairs et al., 2017), la nicotine (Hamilton et al., 2014; Mesa-Gresa et al., 2013; Sikora et al., 2018) et certaines substances opioïdes comme l'héroïne (Barrera et al., 2021; El Rawas et al., 2009; Galaj et al., 2016; Imperio et al., 2018) et la morphine (Cole et al., 2013; Paolone et al., 2003; Xu et al., 2014).

Au contraire des substances stimulantes, l'étude des effets potentiellement préventifs de l'enrichissement n'a été menée que marginalement pour l'alcool. Toutefois, depuis quelques années, nous observons une légère augmentation des études disponibles dans la littérature, ces recherches entreprenant différentes procédures d'enrichissement et d'alcoolisation, avec des objectifs définis et des comportements mesurés différents. La majorité de ces études s'intéresse généralement aux effets préventifs de l'enrichissement sur la consommation orale volontaire ou l'auto-administration d'alcool chez le rongeur, tandis que la préférence de lieu conditionnée ou la sensibilisation comportementale ne concernent pas plus de 25% des études disponibles (Malone et al., 2022). De manière générale, la majorité des études démontrent que des rongeurs hébergés dans des conditions enrichies s'auto-administrent significativement moins d'éthanol que des individus hébergés dans des conditions standards ou appauvries. Par exemple, une étude a évalué la consommation volontaire d'éthanol, la préférence et la motivation à la consommation chez des rats sélectionnés pour leur préférence à l'éthanol, menant en ce sens à une consommation orale élevée ou faible du mélange disponible (Deehan et al., 2011). La consommation orale d'éthanol n'était pas équivalente en fonction de différentes conditions d'élevage. Ainsi, les résultats démontrent que les rats préférants et non préférants élevés dans des conditions enrichies physiquement et socialement consommaient significativement moins d'éthanol lors de différentes sessions de consommation par rapport aux rats préférants et non préférants élevés dans des conditions d'isolement et d'appauvrissement physique. Lorsque ces mêmes individus avaient la possibilité du libre choix entre deux biberons, contenant de l'éthanol ou de l'eau, les rats préférants de la condition enrichie consommaient également significativement moins d'éthanol que les rats préférants issus de la condition appauvrie durant les 24 heures suivantes. Similairement, des rats élevés dans un environnement appauvris montrent une plus grande propension à répondre de manière opérante à l'éthanol par rapport aux rats élevés dans des

Chapitre 5

Effets de l'enrichissement de l'hébergement sur les processus toxicomanogènes de l'alcool

environnements standards ou enrichis. De plus, un pourcentage plus élevé d'individus du groupe appauvris étaient capables de changer de levier de réponse lorsque la disponibilité de l'éthanol était redirigée vers un second levier. Enfin, seuls ces individus exprimaient une préférence pour l'alcool lorsqu'un biberon d'eau était disponible simultanément (Deehan et al., 2007). En outre, l'enrichissement physique et/ou social permet non seulement de réduire la préférence pour l'éthanol, mais également d'abaisser le point de rupture de la consommation chez le rat, contrairement à des conditions d'appauvrissement physique ou d'isolement social (Cortés-Patiño et al., 2016; de Carvalho et al., 2010; Hall et al., 1998; Lallai et al., 2016; Schenk et al., 1990). Chez la souris, de multiples études viennent corroborer ces découvertes. Plusieurs chercheurs démontrent qu'un appauvrissement physique ou un isolement social chronique potentialise les comportements d'auto-administration d'éthanol subséquents, particulièrement lorsque ces conditions d'hébergement sont entreprises pendant l'adolescence (Lopez et al., 2011; Lopez & Laber, 2015; Rico-Barrio et al., 2019; Rodríguez-Ortega et al., 2018). Ainsi, indépendamment du sexe, les souris hébergées en isolement manifestent une augmentation significative de la consommation volontaire d'éthanol, mais ce comportement peut être contré en fournissant certains enrichissements. De plus, pourvoir une forme simple de raffinement pendant la période critique de développement, par exemple du matériel de nidification, peut réduire de manière impressionnante la préférence et la consommation volontaire d'éthanol à l'âge adulte (Lopez & Laber, 2015). L'isolement social peut ainsi engendrer une expérience de stress psychosocial chronique pendant l'adolescence (Lopez et al., 2011) ou une exposition ponctuelle à l'âge adulte (Marianno et al., 2017). Ces études mettent alors en évidence un effet préventif important de l'hébergement enrichi permettant de neutraliser les effets négatifs de l'isolement préexistant sur les comportements toxicomanogènes relatifs à la consommation orale d'éthanol (Holgate et al., 2017; Rico-Barrio et al., 2019). Par ailleurs, des recherches investiguant l'impact de l'exercice physique sur

la consommation volontaire d'alcool ont également révélé des nuances intéressantes dans la diminution de la préférence de la consommation orale. Chez la souris, la distance parcourue pendant les périodes d'utilisation d'une roue d'activité semble être un facteur déterminant dans la réduction de la consommation d'alcool, offrant ainsi un aperçu intéressant de la relation entre l'activité physique et les habitudes de consommation (Gallego et al., 2015). En outre, une étude a récemment illustré chez la souris C57BL/6J que les incidences de la défaite sociale (« *social defeat* »), induisant généralement des symptômes dépressifs et une augmentation de la recherche et de la consommation de substances, pouvaient être contrecarrées par l'exercice physique pendant ou après l'exposition au stress social. Ainsi, suivant un protocole classique d'interaction sociale avec un congénère non familier, les souris dites « soumises », ayant expérimenté la défaite sociale, exprimaient une augmentation significative de la consommation d'éthanol dans un protocole classique de *drinking in the dark*. Toutefois, les souris soumises bénéficiant d'un accès libre à l'exercice physique manifestaient des niveaux de consommation et une motivation pour l'éthanol comparables au groupe contrôle et au groupe résilient (Reguilón et al., 2023). Ces travaux vont au-delà des observations comportementales en explorant entre autres les processus moléculaires sous-jacents. Ces rapports révèlent notamment des changements génétiques dans le striatum en fonction de l'environnement d'exercice, suggérant ainsi que des mécanismes moléculaires spécifiques pourraient être à l'œuvre dans l'effet protecteur de l'exercice sur la consommation volontaire (Darlington et al., 2016). De plus, ces études soulignent la dynamique complexe entre l'exercice et la consommation d'alcool, montrant aussi comment l'accès alternatif à l'exercice peut façonner les comportements de consommation d'alcool chez les souris, y compris des effets de sevrage lors de l'interruption de l'activité physique (Ozburn et al., 2008).

Chapitre 5

Effets de l'enrichissement de l'hébergement sur les processus toxicomanogènes de l'alcool

Des études questionnant les effets de l'enrichissement sur la consommation orale volontaire, quelques-unes se sont intéressées à la préférence de lieu conditionnée. La préférence de lieu conditionnée (« *conditioned place preference* » ou « *CPP* ») est un modèle largement utilisé pour étudier la phase initiale de récompense dans le cycle de l'addiction chez le rongeur (Koob, 2009; Tzschentke, 1998, 2007). Globalement, l'enrichissement environnemental agit en tant que frein au développement du *CPP* induit par la cocaïne (Freese et al., 2018; Solinas et al., 2010) et l'héroïne (El Rawas et al., 2009; Galaj et al., 2016). Ces effets pourraient être associés à la capacité de l'environnement d'hébergement à prévenir la réactivité de l'axe *HPA* induite par le stress et les substances addictogènes (Morley-Fletcher et al., 2003) et/ou à moduler certains processus cognitifs (van Praag et al., 2000). Cependant, les études examinant la préférence de lieu conditionnée induite par l'éthanol chez la souris renseignent généralement des résultats plutôt contradictoires, menant selon certains auteurs à la manifestation des effets renforçants de l'éthanol illustrés par une préférence de lieu, généralement le compartiment d'une boîte, induite par des expositions répétées à l'alcool dans ce même contexte (Chester & Cunningham, 1999; Font et al., 2013; Gremel & Cunningham, 2008; Itzhak et al., 2009; Yunusoğlu, 2022), ou au contraire au *CPA*, une aversion de lieu conditionnée (Bechtholt et al., 2004; Cunningham et al., 2006; Cunningham & Henderson, 2000; Font et al., 2006). Ces résultats antinomiques peuvent notamment s'expliquer par la souche utilisée et les doses d'éthanol administrées (Crabbe et al., 1992; Cunningham et al., 2003; Groblewski et al., 2008; Pautassi et al., 2017; Risinger & Oakes, 1996). Lorsque le facteur de l'environnement d'hébergement est introduit dans le protocole, les résultats obtenus se révèlent encore plus incohérents. Ainsi, une étude a démontré que des expositions répétées à l'alcool dans un même environnement pouvait induire la préférence de lieu à la fois chez des souris issues d'une condition enrichie socialement et physiquement, mais plus modestement chez des individus issus d'une condition standard (Rae et al., 2018). Dans une approche différente,

des chercheurs ont observé que des rats exposés à un environnement enrichi présentaient une nette réduction de la préférence de lieu conditionnée induite par l'éthanol par rapport à leurs homologues hébergés en conditions standards (de Carvalho et al., 2010). Enfin, Pautassi et al. (2017) ont également évalué le *CPP* chez des souris Swiss exposées à un enrichissement physique pendant l'adolescence ou à l'âge adulte. Ils démontrent qu'une préférence de lieu conditionnée induite par l'éthanol est observée chez les individus adultes, à la fois dans le groupe enrichi et le groupe standard. Toutefois, seuls les individus adolescents hébergés dans un environnement enrichi exprimaient une préférence de lieu conditionnée. Selon ces auteurs (Pautassi et al., 2017), l'absence de *CPP* induite par l'éthanol n'est pas surprenante chez les souris adolescentes élevées dans les conditions standards. En effet, étant donné l'immaturation cérébrale, les effets renforçants de l'éthanol se manifestent avec moins d'efficacité, comme le prouvent certaines études sur la sensibilisation (Camarini et al., 2011; Carrara-Nascimento et al., 2011; Faria et al., 2008), rendant alors les rongeurs adolescents significativement moins vulnérables au *CPP* induite que les souris adultes (Dickinson et al., 2009). Cependant, une fois pré-exposés au stress ou à des doses d'alcool, les individus plus jeunes peuvent exprimer une réponse conditionnée, suggérant ainsi une sensibilisation de l'effet renforçant dépendant des adaptations induites par des stimuli antérieurs (Camarini et al., 2018; Carrara-Nascimento et al., 2014; Song et al., 2007). En considérant certaines études sur le *CPP* entreprises pendant l'adolescence, des résultats incohérents sont toutefois observés, ce qui est généralement moins le cas chez les souris plus matures. Par exemple, une préférence de lieu conditionnée induite par l'éthanol est observée, à la fois chez des femelles adolescentes précoces (32-38 jours) et tardives (54-60 jours) ayant reçu une dose de 2,5 g/kg d'éthanol, de même que chez des mâles adolescents précoces ayant reçu une dose de 1,25 ou 2,5 g/kg. De manière intrigante, les mâles adolescents tardifs n'exprimaient manifestement pas de *CPP* (Roger-Sánchez et al., 2012). Cette étude suggère notamment une diminution

Chapitre 5

Effets de l'enrichissement de l'hébergement sur les processus toxicomanogènes de l'alcool

graduelle des effets renforçants de l'éthanol avec l'âge, mais ce rapport n'a malheureusement pas comparé ces résultats à ceux d'un groupe adulte. D'autres études ont cependant effectué de telles comparaisons, indiquant de manière analogue que les souris adolescentes sont potentiellement moins sensibles que leurs homologues adultes aux effets renforçants de l'éthanol, nécessitant ainsi des doses plus fortes dans l'objectif d'induire ces mêmes effets (voir Dickinson et al., 2009; Song et al., 2007).

Le manque considérable d'études se penchant sur la sensibilisation locomotrice et la tolérance comportementale induites par l'alcool est encore plus criant à ce jour, les recherches empiriques effectuées se comptent d'ailleurs sur les doigts d'une main, la dernière étude publiée remontant à plus de 10 ans, du moins à notre connaissance. Dès lors, seulement trois études intéressantes concernant les effets de l'enrichissement physique ou social sur la sensibilisation locomotrice à l'éthanol sont à énumérer (voir Araujo et al., 2005; Päivärinta, 1990; Rueda et al., 2012), ainsi qu'une revue de la littérature s'intéressant aux influences de ces mêmes facteurs (voir Camarini et al., 2018), tandis qu'aucun rapport ne s'est intéressé à la tolérance. Les deux premières études de cette thèse viendront s'ajouter à cette liste (cf. chapitres 7 et 8). Dans l'unique étude investiguant les effets de l'enrichissement physique sur la sensibilisation locomotrice à l'éthanol, Rueda et collaborateurs (2012) ont décrit un effet protecteur de l'enrichissement, non seulement dans le développement, mais également dans l'inversion de la sensibilisation. Ce rapport indique que des souris Swiss mâles hébergées dans des conditions enrichies physiquement, 17 jours avant et durant les 15 jours d'exposition à l'éthanol, n'ont ni développé, ni exprimé une sensibilisation comportementale significative, bien que les effets aigus stimulants de l'éthanol soient manifestes. Ces résultats étaient par ailleurs totalement opposés dans la condition d'hébergement standard où les individus exprimaient des effets aigus stimulants, une acquisition et une expression significatives des effets sensibilisés. Dans un protocole différent, un deuxième échantillon était exposé à un

enrichissement identique pendant 1 semaine, mais cette fois, après la phase développementale de la sensibilisation. Les résultats démontrent que l'apport d'un enrichissement de courte durée était suffisant pour contrer l'expression de la sensibilisation induite par l'éthanol. Bien que ces chercheurs n'aient pas spécifiquement introduit un groupe d'hébergement appauvri, cette étude s'est ainsi montrée intéressante pour décrire non seulement un effet préventif de l'enrichissement sur le développement de la sensibilisation comportementale, mais aussi comme un possible outil thérapeutique dans la suppression de la rétention à moyen terme de la sensibilisation acquise. Bien que les mécanismes sous-jacents des effets de l'enrichissement environnemental sur la sensibilisation comportementale à l'alcool demeurent encore inconnus, une explication possible réside dans ses effets sur les niveaux du *BDNF*. Dans l'étude précédente (Rueda et al., 2012), il apparaît que l'enrichissement environnemental diminue clairement les niveaux de ce facteur neurotrophique dans le cortex préfrontal des souris sensibilisées à l'éthanol, un résultat se montrant cohérent avec une étude démontrant une diminution de l'activité du récepteur *BDNF-TrkB* dans le cortex préfrontal médian de rats exposés à l'enrichissement et exprimant une sensibilisation réduite à la cocaïne (Lu et al., 2010). À l'inverse, une autre étude révélait que des souris exposées à l'enrichissement environnemental, manifestant une préférence de lieu induite par l'éthanol, exprimaient également des niveaux plus élevés de *BDNF* dans le cortex préfrontal par rapport à des individus élevés dans des conditions standards (Pautassi et al., 2017). À l'instar des mécanismes dopaminergiques intervenant dans le processus de sensibilisation (voir Broadbent et al., 2005; Camarini et al., 2011; Camarini & Pautassi, 2016), les influences du *BDNF* se montrent elles aussi très laborieuses à élucider.

L'enrichissement social semble également altérer les différentes phases de la sensibilisation locomotrice à l'alcool. En outre, l'isolement social chronique potentialise significativement les effets renforçants de l'alcool via la mesure de l'hyperactivité locomotrice (Päivärinta, 1990). Ainsi, des souris Swiss mâles

Chapitre 5

Effets de l'enrichissement de l'hébergement sur les processus toxicomanogènes de l'alcool

élevées en isolement social chronique pendant plus de 36 semaines expriment un effet stimulant important sur l'activité locomotrice après une exposition hebdomadaire de différentes doses d'éthanol. De plus, une dose faible de 1 g/kg d'éthanol entraînait les effets stimulants les plus amples, une dose de 0,5 g/kg entraînait des effets locomoteurs moins marqués, mais tout de même statistiquement significatifs, tandis qu'une dose modérée plus conventionnelle de 2 g/kg n'entraînait curieusement aucun effet stimulant notable. En revanche, ces doses n'ont pratiquement exercé aucun effet sur l'activité locomotrice des individus hébergés en groupe social de 8-10 souris par cage (Päivärinta, 1990). Selon des études menées préalablement sur des groupes de souris co-hébergées, des preuves tangibles ont ainsi relié les effets stimulants locomoteurs induits par l'éthanol à l'activation du système mésolimbique de la dopamine (Di Chiara & Imperato, 1988; Strömbom & Liedman, 1982). Cette perspective a été largement étayée aujourd'hui et démontre par ailleurs qu'une exposition aiguë à l'alcool induit initialement une augmentation de la synthèse et de la libération de dopamine cérébrale, provoque ensuite des cycles alternés d'activité dopaminergique réduite et accrue, diminuant progressivement pour revenir à une activité basale après plusieurs heures (Abraham et al., 2014; Brodie, 2002; Camarini & Pautassi, 2016). De plus, l'isolement social est largement connu pour renforcer la neurotransmission dopaminergique (Rosenzweig & Bennett, 1972; Valzelli, 1973). De fait, selon les premières observations rapportées par les chercheurs pionniers du domaine, le renouvellement de la dopamine augmente (Valzelli, 1973) tout comme la sensibilité de liaison des récepteurs (Guisado et al., 1980; Weinstock et al., 1978), rendant ainsi les neurones plus sensibles à la présence de dopamine. À l'opposé, des rapports plus récents ont également établi les effets bénéfiques de l'enrichissement sur la réduction de la neurotransmission dopaminergique, dans le cortex préfrontal notamment (Del Arco, Segovia, Canales, et al., 2007; Garrido et al., 2013; Segovia et al., 2008). Par ailleurs, cette réduction d'activité dopaminergique pourrait être à la base des réponses comportementales réduites

par les psychostimulants et d'autres substances toxicomanogènes chez les individus élevés dans des environnements enrichis (Segovia et al., 2009). Parallèlement, l'hébergement dans des cages à forte densité augmente l'ampleur de l'expression de la sensibilisation locomotrice à l'éthanol. Une étude a observé que, par rapport à des groupes sociaux plus modestes (5 individus par cage), des souris Swiss femelles hébergées en forte densité (15 individus par cage) expriment une surpopulation significative, marquée entre autres par une fréquence d'activité locomotrice incontestablement plus élevée, traduisant ainsi qu'un environnement à caractère surpeuplé potentialise de surcroît l'hyperréactivité comportementale induite par l'éthanol (Araujo et al., 2005). Contrairement à l'étude de Päivärinta (1990), l'isolement social ne constituait pas ici la propriété la plus sensible à l'effet stimulant locomoteur après des injections répétées d'éthanol (Araujo et al., 2005). En outre, il aurait été particulièrement intéressant d'appliquer le même protocole en utilisant des souris mâles, étant donné que ces derniers sont généralement reconnus pour se montrer plus sensibles à la surpopulation (Camarini et al., 2018; Kappel et al., 2017; Olsson & Westlund, 2007). Une explication potentielle de cette tendance est l'absence presque totale de relations de dominance dans les groupes de femelles co-hébergées (Brown & Grunberg, 1995), ainsi, les résultats obtenus avec des individus mâles auraient probablement pu livrer d'autres enseignements. Une hypothèse intéressante discutée postule que les individus pourraient également avoir été influencés par la réaction de leurs congénères aux conditions d'hébergement et/ou aux effets de l'éthanol via un mécanisme de conditionnement social (voir Caldwell & Whiten, 2002; Choleris & Kavaliers, 1999; Robinson & Berridge, 2000). Pour tester cette hypothèse, ces mêmes auteurs (Araujo et al., 2006) ont mené une expérience où toutes les souris femelles hébergées dans une même cage étaient exposées à la dose identique d'éthanol pendant 21 jours consécutifs (groupe homogène), tandis que dans une autre cage, seulement la moitié des individus était exposée à cette même dose, l'autre moitié recevant du soluté salin, constituant un groupe de traitement hétérogène. Ainsi, l'hébergement

Chapitre 5

Effets de l'enrichissement de l'hébergement sur les processus toxicomanogènes de l'alcool

des individus en groupe homogène potentialisait l'expression d'une sensibilisation locomotrice par rapport à l'hébergement en groupe hétérogène, fournissant une preuve des influences socio-comportementales entre congénères sur la réponse sensibilisée à l'éthanol. De manière intéressante, les auteurs (Araujo et al., 2005) démontrent encore que, indépendamment de la densité de la population testée, une dose modérée de 1,8 g/kg d'éthanol se révélait efficace pour induire des effets stimulants aigus et le développement d'une sensibilisation locomotrice. Notons cependant que la durée d'hébergement préalable des souris, environ 5 jours, était bien moins importante que celle décrite dans Päivärinta (1990). Malgré les contradictions protocolaires, ces deux études confirment que des conditions d'hébergement particulières, telles que la forte densité ou l'isolement social, constituent des facteurs de stress psychosocial puissants susceptibles de potentialiser la sensibilité aiguë initiale et la sensibilisation comportementale (Gamallo et al., 1986; Phillips et al., 1997), tandis qu'un enrichissement social modéré pourrait retarder, voire bloquer son acquisition et son expression.

Chapitre 6

Conclusions provisoires et objectifs

Les théories contemporaines de l'addiction (voir Robinson & Berridge, 1993, 2001, 2008) considèrent que l'addiction résulte d'adaptations neuro-comportementales durables engendrées par la consommation chronique de substances. Dans le syndrome d'addiction alcoolique, au fil de ses usages répétés, certains effets comportementaux de l'alcool vont diminuer, voire disparaître. Ce phénomène est appelé « tolérance chronique ». Parallèlement, d'autres manifestations comportementales induites par la consommation chronique d'alcool vont s'accroître ou même apparaître. Ce second phénomène est défini par le terme de « sensibilisation » ou « tolérance inverse ». Ces processus adaptatifs constituent deux facettes importantes du passage d'une consommation modérée vers le syndrome d'addiction. Le syndrome d'addiction alcoolique est en effet caractérisé par l'escalade de la consommation d'alcool liée en particulier à une sensibilisation motivationnelle, c'est-à-dire une augmentation graduelle de la motivation à rechercher et à consommer la boisson (Piazza & Deroche-Gamonet, 2013; Vanderschuren & Pierce, 2010). La vulnérabilité au développement de la tolérance ou de la sensibilisation aux effets de l'alcool est notamment liée aux conditions de vie. Parmi les facteurs influençant la vulnérabilité au développement de ces deux phénomènes, on cite souvent les conditions environnementales enrichies/appauvries dans lesquelles un individu subsiste, en particulier pendant la période sensible de l'adolescence. Il est cependant difficile d'étudier ces effets chez l'homme, faute de pouvoir les manipuler expérimentalement.

Depuis de nombreuses décennies, l'utilisation de modèles murins offre des perspectives intéressantes sur l'influence de la qualité de vie et de l'environnement d'hébergement sur les comportements toxicomanogènes. Les études investiguant les influences de l'enrichissement environnemental sur le bien-être des rongeurs, en mettant entre autres l'accent sur les aspects physiques et sociaux de leur hébergement, démontrent comment la mise en place de modifications environnementales peut jouer un rôle central dans la modération des comportements liés à l'addiction. Une grande majorité des résultats actuels suggère fortement que des environnements enrichis, tant sur le plan physique que social, exercent des effets significatifs dans la réduction de l'acquisition, de l'expression et de la réinstallation des comportements d'auto-administration de substances comme la cocaïne, les amphétamines, la nicotine, ou encore les substances opioïdes chez le rongeur. Ces environnements semblent agir comme des facteurs protecteurs ou thérapeutiques contre les mécanismes menant à la motivation, à la récompense et à d'autres processus en rapport avec l'addiction. Cependant, pour certaines substances, comme l'alcool, ces différentes procédures sont nettement moins étudiées et les résultats obtenus se révèlent par ailleurs plus mitigés. Bien que certaines observations relèvent une réduction significative de la consommation orale d'alcool chez les rongeurs hébergés dans des environnements enrichis, d'autres aspects, comme la préférence de lieu conditionnée ou la sensibilisation comportementale, induits par des expositions répétées à l'alcool semblent plus variables et moins concluants. En outre, les effets de l'enrichissement de l'environnement sur la sensibilisation locomotrice induite par l'alcool demeurent encore aujourd'hui une composante largement sous-étudiée. Les études menées sur la sensibilisation locomotrice dévoilent d'ailleurs des résultats contrastés, soulignant ainsi la complexité des interactions entre l'environnement, le comportement et les effets addictogènes de l'alcool. Malgré des avancées tangibles dans la compréhension de l'impact de la manipulation de l'environnement sur les comportements liés à l'addiction, certaines lacunes subsistent, notamment dans la compréhension des mécanismes moléculaires

Chapitre 6

Conclusions provisoires et objectifs

sous-jacents. Le peu d'études que nous connaissons actuellement suggèrent que l'enrichissement environnemental chez la souris peut jouer un rôle crucial dans la réduction de la sensibilisation comportementale, en le proposant soit avant l'établissement d'une sensibilisation locomotrice (Araujo et al., 2005; Rueda et al., 2012), soit à la suite de cette sensibilisation acquise (Rueda et al., 2012), dans l'objectif d'en observer respectivement les effets potentiellement préventifs et thérapeutiques. De surcroît, aucune étude à ce jour ne s'est intéressée aux mécanismes de tolérance comportementale potentiellement altérés par ces mêmes procédures d'enrichissement.

Dans un premier temps, le présent travail fût construit sur base de deux volets, ces derniers ayant pour objectifs d'explorer à la fois le potentiel préventif (volet 1) et thérapeutique (volet 2) de l'enrichissement social d'hébergement sur les différentes phases de la sensibilisation locomotrice et sur le développement graduel de la tolérance comportementale induites par une exposition chronique à l'éthanol. En raison de la crise sanitaire liée au COVID-19, nous tenons à informer les lecteurs que nos activités de recherche ont été interrompues pendant près de 8 mois, nous obligeant à réévaluer nos objectifs expérimentaux initialement prévus. Pour des raisons de faisabilité et de timing, le deuxième volet s'intéressant aux potentiels effets thérapeutiques de cet enrichissement social sur la sensibilisation et la tolérance acquises a hélas dû être écarté. Ainsi, trois études s'intégrant dans deux thématiques ont été entreprises. L'ensemble des trois études, qui seront présentées dans les prochains chapitres, a été soutenu par les subventions du Recherche, Innovation, Support et Entreprises (RISE) de l'Université de Liège obtenues par Théo van Ingelgom, et par les Fonds Spéciaux pour la Recherche de l'Université de Liège obtenus par le Professeur Étienne Quertemont. Afin de contextualiser ces différentes études, nous décrivons ci-après les principaux objectifs des deux thématiques étudiées.

La principale thématique de ce travail abordera une exploration du potentiel protecteur de l'enrichissement social de l'hébergement et, à contrario, le facteur

de risque potentiel de l'isolement social, sur les effets toxicomanogènes de l'éthanol chez la souris de souche Swiss. Le premier article de cette thématique (« *Effects of social housing conditions on ethanol-induced behavioral sensitization in Swiss mice* ») se focalisera sur les caractéristiques préventives de cette manipulation sociale de l'hébergement sur les différentes phases de la sensibilisation locomotrice induite par des expositions répétées à l'éthanol. Selon les théories contemporaines de l'addiction, la sensibilisation résulterait de mécanismes cérébraux et jouerait un rôle critique dans l'addiction à l'alcool et aux autres substances addictogènes (Vanderschuren & Pierce, 2010). En psychopharmacologie, la sensibilisation, ou tolérance inverse, désigne généralement l'augmentation progressive des effets neuronaux, somatiques ou comportementaux d'une substance consécutivement à son absorption régulièrement ou chroniquement répétée (Robinson & Berridge, 1993, 2001, 2008). En ce sens, le phénomène de sensibilisation comportemental à l'alcool se caractérise par une augmentation progressive des effets stimulants locomoteurs induits par l'éthanol résultant de son exposition répétée ou encore par l'expression d'effets à une dose à laquelle ils ne sont généralement pas observés (Didone et al., 2008, 2019; Masur et al., 1986; Masur & Boerngen, 1980). En outre, certaines études ont largement prouvé l'influence de l'environnement d'hébergement sur les processus menant à l'addiction aux substances stimulantes chez le rongeur (pour une revue récente, voir Malone et al., 2022). Cependant, nous constatons un manque considérable d'études investiguant cette même influence sur la sensibilisation locomotrice induite par l'alcool ; comme nous l'avons expliqué dans le chapitre 5, nous ne recensons à ce jour que trois études empiriques. Concernant spécifiquement l'environnement social, Päivärinta (1990) démontrait que des souris mâles isolées socialement sont plus vulnérables aux effets stimulants locomoteurs induits par une dose unique d'éthanol. Araujo et al. (2005) ont également rapporté des niveaux plus élevés de sensibilisation locomotrice induite par l'éthanol, tant chez des souris femelles isolées que provenant de cages surpeuplées. Au regard de ces deux études, l'objectif de ce premier rapport était

Chapitre 6

Conclusions provisoires et objectifs

d'explorer les effets de différentes conditions sociales d'hébergement, à travers la variation de la taille des groupes les composant, sur les effets stimulants de l'éthanol et sur la sensibilisation comportementale induite par l'exposition chronique d'éthanol. Dans la présente étude, des souris Swiss femelles adolescentes étaient hébergées dans des groupes de différentes tailles, allant d'une condition d'isolement à deux, quatre et huit individus par cage, durant une période de six semaines. Contrairement à l'étude d'Araujo et al. (2005), les dimensions des cages étaient ici volontairement ajustées afin de proposer une surface au sol équivalente pour chaque individu issu des différentes conditions, mais aussi dans le but de prévenir les conditions stressantes de la surpopulation. Par la suite, un protocole standard de sensibilisation locomotrice à l'éthanol a été mis en place au moyen d'une injection quotidienne d'une dose modérée d'éthanol durant huit jours consécutifs dès le début de l'âge adulte. En se basant sur les études précédemment publiées (voir Araujo et al., 2005 ; Päivärinta, 1990) et sur les résultats d'études pilotes menées dans notre laboratoire (Didone, van Ingelgom, Quertemont et Tirelli, résultats non publiés), une série de questions peut ainsi être soulevée : L'élevage en différentes conditions sociales altère-t-il significativement les comportements exploratoires basaux ? Peut-on s'attendre à une hyperréactivité locomotrice induite par l'alcool différente en fonction de ces quatre conditions sociales ? L'isolement social potentialise-t-il l'acquisition de la sensibilisation ? Au contraire, l'hébergement social prévient-il significativement son développement ou bloque-t-il l'expression de cette sensibilisation acquise ? Dans l'établissement des objectifs de cette première étude, nous souhaitons avancer l'hypothèse selon laquelle les individus isolés exprimeraient une plus grande vulnérabilité aux effets stimulants de l'éthanol. À l'inverse, il était attendu que les individus hébergés en groupe social, notamment les groupes de quatre ou huit souris, manifestent une sensibilité réduite aux effets stimulants de l'éthanol et une acquisition retardée de la sensibilisation après les administrations répétées. En tenant compte du manque important d'études ayant questionné ces propriétés, le premier rapport de ce travail cherche à combler un vide de recherche notable

dans ce domaine spécifique et constitue à notre sens une étude novatrice, mettant singulièrement en lumière l'impact sous-estimé des conditions environnementales sociales sur la sensibilité aiguë, la sensibilisation et la réponse sensibilisée des effets locomoteurs de l'éthanol.

Le second article, « *Effects of social housing conditions on tolerance to the sedative and hypothermic effects of ethanol in female Swiss mice* », reprendra les caractéristiques expérimentales identiques de l'hébergement de la première étude en les exposant à l'induction d'une tolérance chronique induite par l'alcool. Cette étude cherchera au même titre à analyser si les résultats obtenus lors de la sensibilisation varient dans le même sens que ceux que nous obtiendrons avec la tolérance comportementale induite par l'exposition chronique à l'éthanol. Selon les critères des troubles liés à l'usage de substances du *DSM-V*, nous considérons aujourd'hui que l'existence d'une tolérance peut constituer une première étape dans la dépendance physique à l'alcool, bien que nous ne sachions réellement pas dans quelle mesure ces deux phénomènes agissent sur le syndrome d'addiction alcoolique en lui-même. Cependant, la dépendance physique ne contribuerait possiblement pas, ou peu, aux symptômes psychologiques et à l'hypermotivation menant à la rechute (cf. chapitre 2). De nos jours, les neuroscientifiques affirment généralement que la tolérance peut également contribuer au phénomène de *binge drinking* et d'escalade de la consommation de substances dans le processus d'addiction (King et al., 2002; Piazza & Deroche-Gamonet, 2013; Quoilin et al., 2013). Chez le rongeur, la tolérance chronique à l'alcool a largement été démontrée pour ses effets ataxiques (Linsenbardt et al., 2009; Phillips et al., 1996; Silveri & Spear, 2001), hypothermiques (Crabbe, 1994; Rustay et al., 2001), anxiolytiques (Koob et al., 1987; Sharma et al., 2007) et sédatifs (Linsenbardt et al., 2009; Masur et al., 1986; Quoilin et al., 2013; Silvers et al., 2003). Dans certaines études (Lessoov & Phillips, 1998; Phillips et al., 1997), il a même été suggéré que la tolérance chronique à l'éthanol, principalement la tolérance à ses effets sédatifs, pourrait expliquer, du moins en partie, l'hyperactivité locomotrice exprimée lors des administrations répétées d'éthanol.

Chapitre 6

Conclusions provisoires et objectifs

En d'autres termes, une diminution progressive de l'ampleur des effets sédatifs de l'éthanol après des administrations répétées permettrait une meilleure expression de ses effets stimulants, conduisant alors à une sensibilisation locomotrice plus robuste. En ce sens, la sensibilisation aux effets locomoteurs de l'éthanol serait ainsi parfois considérée comme un sous-produit du développement d'une tolérance chronique à ses effets sédatifs (voir Phillips, 1997). Bien qu'ils partagent des bases neurobiologiques communes, certaines études ont toutefois dissocié ces deux phénomènes (voir Didone et al., 2008; Masur et al., 1986; Phillips et al., 1996; Quoilin et al., 2013; Tabakoff & Kiianmaa, 1982). L'objectif principal de cette étude sera d'analyser si le développement de la tolérance comportementale diffère aussi en fonction des quatre conditions d'hébergement social. Dans cette perspective, nous utiliserons deux paradigmes comportementaux de la tolérance : la tolérance aux effets sédatifs et la tolérance aux effets hypothermiques, induites toutes deux par une injection quotidienne d'une dose élevée d'alcool durant 10 jours consécutifs. Ces deux modèles de tolérance nous amèneront alors à la question suivante : selon les résultats obtenus lors de la sensibilisation, peut-on constater une évolution de réponses similaire sous des conditions d'hébergement social identiques ? En d'autres termes, le ou les groupes d'hébergement développant et exprimant la sensibilisation la plus marquée à une dose modérée expriment-ils également une plus forte tolérance à une dose élevée d'éthanol, et inversement ? Dans l'élaboration des objectifs de ce deuxième rapport, à l'instar de la première étude, nous nous attendions à ce que les individus issus de la condition d'isolement développent plus rapidement la tolérance comportementale et atteignent une magnitude des effets hypothermiques et sédatifs tolérés plus significative en comparaison avec ceux évoluant en groupe social, plus particulièrement chez les individus provenant des conditions d'hébergement en groupes de quatre et huit par cage. Dès lors, l'isolement social pourrait agir en tant que facilitateur au développement de la tolérance aux effets sédatifs et hypothermiques de l'éthanol, marqué notamment par une disparition des effets de sédation et un recouvrement de la température corporelle homéostatique plus

rapides au fur et à mesure des expositions à l'alcool. À l'inverse, ces mêmes effets devraient être significativement plus lents à se mettre en place et la magnitude atteinte de tolérance devrait également être plus modérée dans les groupes d'hébergement social. À notre connaissance, cette étude est la première investiguant l'impact de l'enrichissement de l'environnement sur le développement de la tolérance comportementale à l'alcool.

La deuxième thématique de ce travail découle majoritairement des résultats obtenus lors de recherches pilotes et de ceux récoltés dans la première étude. Le troisième rapport, « *Effects of social housing conditions on anxiety-like behaviors, response to novelty and habituation in female Swiss mice* », explorera des effets comportementaux complémentaires : les comportements liés à l'anxiété, la réponse à la nouveauté et l'habituation, ainsi que les effets locomoteurs et anxiolytiques induits par l'éthanol, en fonctions des mêmes conditions d'hébergement social. Selon certaines études, l'enrichissement environnemental jouerait un rôle clé dans les processus d'exploration et d'habituation à la nouveauté dans un environnement de mesure. Plusieurs études ont démontré que des rongeurs isolés socialement manifestent des niveaux d'activité locomotrice significativement plus élevés dans un environnement nouveau, comme *l'elevated plus maze* ou *l'open-field*, mais aussi un déficit, voire une incapacité totale d'habituation à ces mêmes environnements au fur et à mesure des expositions (Brenes et al., 2008; Fone & Porkess, 2008; Hall et al., 2000; Hellemans et al., 2004). Comme nous l'avons décrit dans le chapitre 4, l'isolement social chronique est souvent associé au syndrome d'isolement, entraînant diverses perturbations comportementales, entre autres une hyperactivité et des altérations dans les mécanismes d'adaptation à un environnement non familier (Balcombe, 2006; Hellemans et al., 2004). Plus spécifiquement chez la souris, une hyperactivité comportementale est très souvent observée dans plusieurs tests réalisés après une période d'isolement chronique ou de surpopulation (Bailoo et al., 2018; Fei et al., 2019; Sullens et al., 2021; Van de Weerd et al., 2002; Võikar et al., 2005). D'autres auteurs ont confirmé une augmentation des comportements exploratoires

Chapitre 6

Conclusions provisoires et objectifs

locomoteurs et une réduction des comportements liés à l'anxiété dans ces mêmes tests (Bailoo et al., 2018; Dickson & Mittleman, 2021; Fei et al., 2019; Hilakivi et al., 1989). Selon des résultats similaires observés dans une série d'études pilotes se référant au premier rapport de ce travail (Didone, van Ingelgom et Quertemont, résultats non publiés), de telles observations pourraient être reliées au concept de réponse à la nouveauté (Brabant et al., 2005; Didone, Quoilin et al., 2016; Nyssen et al., 2016), c'est-à-dire à la tendance naturelle des rongeurs à explorer activement des environnements inconnus. Interprétés de cette manière, les résultats obtenus dans le premier rapport montrent des niveaux réduits de réponse à la nouveauté, se traduisant par une baisse d'activité locomotrice, chez les individus hébergés en groupes plus larges. Les études précédentes utilisant l'enrichissement physique de l'environnement n'ont pas relevé de changements analogues dans l'exploration d'un nouvel environnement chez des souris ou des rats bénéficiant d'enrichissements (Geuzaine & Tirelli, 2014; Lespine & Tirelli, 2015; Melón & Boehm, 2011; Rueda et al., 2012). Cependant, une étude spécifique portant sur l'influence de différentes conditions d'hébergement (Garcia et al., 2017) a pu démontrer que des rats isolés exprimaient une plus forte réponse à la nouveauté et une sensibilisation aux amphétamines plus marquée. Selon ces auteurs, une forte recherche de nouveauté pourrait potentialiser la vulnérabilité aux effets renforçants des substances et la sensibilisation locomotrice (Spear, 2000a, 2000b). Bien que l'explication de telles observations nécessite clairement des études supplémentaires, il est tentant de suggérer le rôle du système dopaminergique mésolimbique, impliqué dans la recherche de nouveauté et ayant également été associé à des modifications liées à l'enrichissement environnemental. Cependant, l'observation de comportements similaires dans *l'elevated plus maze* se révèle parfois incohérente (voir chapitre 4), suggérant que l'effet comportemental anxiolytique de l'isolement est relativement changeant et peut varier entre les laboratoires ou diminuer au fil des sessions de test (Cook et al., 2002; File, 1990; File et al., 1990; Rodgers et al., 1992; Sparling et al., 2020; Sullens et al., 2021). Pour cette étude, nous adopterons le même protocole

d'hébergement que dans nos deux premiers rapports. Dans un premier temps, les quatre groupes d'hébergement seront évalués dans un *elevated plus maze (EPM)*, à la suite de l'administration d'une faible dose d'éthanol ou de solution saline (phase 1). Dans un second temps (phase 2), nous conserverons les groupes traités avec la solution saline et les exposerons pendant quatre jours consécutifs à un environnement non familier (*open-field*). Enfin, un ultime passage dans *l'open-field*, après l'administration d'une dose modérée d'éthanol ou de solution saline (phase 3), viendra compléter ce protocole. Dans la première phase de l'étude, nous chercherons préalablement à détecter de possibles différences dans les comportements liés à l'anxiété en fonction des quatre conditions d'hébergement, et si une faible dose d'éthanol affecte uniformément ou différenciellement les quatre groupes. L'administration d'éthanol devrait induire assez logiquement des effets anxiolytiques et désinhibants significatifs dans tous les groupes, ces effets se traduisant par un temps passé dans les bras ouverts du labyrinthe et des prises de risque plus importants, ainsi qu'une activité locomotrice accrue. Au vu des résultats très discordants dans la littérature, nos hypothèses concernant l'effet modulateur de l'hébergement social ont été émises avec réserve. Toutefois, nous nous attendions à ce que l'isolement social entraîne une augmentation de l'activité locomotrice globale, menant par conséquent à une exploration plus importante dans les différents bras du labyrinthe et plus de comportements à risque. Dans la seconde phase, nous tenterons d'évaluer l'influence de ces différentes conditions sociales sur la réponse à la nouveauté et les comportements locomoteurs exploratoires lors de la première exposition à *l'open-field*, ainsi que l'habituation progressive de ces individus face à cet environnement initialement nouveau au fil des quatre sessions. Une diminution graduelle de l'activité locomotrice était attendue, traduisant une habituation au contexte de test, mais ces réponses devraient très probablement varier en fonction des différentes conditions d'hébergement. Ainsi, nous nous attendions à ce que l'isolement entraîne une plus forte réponse à la nouveauté et un déficit d'habituation, conséquence d'une hyperactivité constante liée aux conditions de stress psychosocial de l'isolement.

Chapitre 6

Conclusions provisoires et objectifs

À l'inverse, nous nous attendions à ce que les individus hébergés en groupes plus larges expriment des niveaux réduits de réponse à la nouveauté, s'interprétant par un niveau d'activité locomotrice plus réduit et une habituation à l'environnement plus efficace. Cette exploration réduite d'un environnement nouveau pourrait être associée à des niveaux moindres de recherche de sensations chez les souris hébergées dans des conditions sociales considérées comme plus bénéfiques, caractérisées par des niveaux optimaux de contacts sociaux. Enfin, comme démontré dans notre premier rapport, les individus élevés en isolement social devraient exprimer une plus forte sensibilité aux effets stimulants aigus de l'éthanol. En revanche, nous nous attendions à ce que les individus hébergés en groupe social, en particulier dans les groupes de quatre ou huit souris par cage, manifestent une sensibilité réduite aux effets stimulants de l'éthanol, voire une légère sédation.

PARTIE EXPÉRIMENTALE

Chapitre 7

“Effects of social housing conditions on ethanol-induced behavioral sensitization in Swiss mice”

Théo van Ingelgom, Vincent Didone, Leeloo Godefroid et Étienne Quertemont

Publié dans Psychopharmacology (2024)

Abstract

Rationale In previous animal model studies, it was shown that drug sensitization is dependent upon physical environmental conditions. However, the effects of social housing conditions on drug sensitization are much less known.

Objective The aim of the present study was to investigate the effects of social conditions, through the size of housing groups, on ethanol stimulant effects and ethanol-induced behavioral sensitization in mice.

Materials and methods Male and female Swiss mice were housed in groups of different sizes (isolated mice, two mice per cage, four mice per cage and eight mice per cage) during a six-week period. A standard paradigm of ethanol-induced locomotor sensitization was then started with one daily injection of 2.5 g/kg ethanol for 8 consecutive days.

Results The results show that social housing conditions affect the acute stimulant effects of ethanol. The highest stimulant effects were observed in socially isolated mice and then gradually decreased as the size of the group increased. Although the rate of ethanol sensitization did not differ between groups, the ultimate sensitized levels of ethanol-induced stimulant effects were significantly reduced in mice housed in groups of eight.

Conclusions These results are consistent with the idea that higher levels of acute and sensitized ethanol stimulant effects are observed in mice housed in stressful housing conditions, such as social isolation.

1. Introduction

The development of drug and alcohol addiction is highly dependent upon physical and social environmental conditions. In particular, stressful living conditions have been shown to promote drug and alcohol abuse in humans (Antelman et al., 1980; Kalivas & Stewart, 1991; Keyes et al., 2012; Koob & Volkow, 2016; Sinha, 2009; Wojdala et al., 2020). Indeed, coping with stress is reported to be an important motive for drug and alcohol consumption in various populations (Edwards et al., 1981; Khantzian, 2013; Lazarus, 1999). This is believed to explain in part the high comorbidity between post-traumatic stress disorder and substance use disorder (Davis et al., 2013; Matonda-Ma-Nzuzi et al., 2019; Sofuoglu et al., 2014). However, epidemiological studies have also shown that drinkers with high levels of alcohol consumption are more vulnerable to stress (Keyes et al., 2012; Sayette, 1999; Sinha, 2008). This suggests that stress and substance use disorders might be linked by more complex, bi-directional, causal relationships. In that respect, animal models of substance and alcohol use can help to detangle the relationships between stress and drug abuse. Among the various forms of chronic stress, the impoverishment of the physical and social housing environment in laboratory animals has attracted a great deal of attention in recent years. For instance, many recent studies reported that environmental enrichment of housing conditions reduces the negative effects of stress in rodents (Akre et al., 2011; Bahi, 2017; Bahi & Dreyer, 2020; Bailoo et al., 2018; Camarini et al., 2018; Olsson & Dahlborn, 2002).

Environmental enrichment of housing (EE) is generally defined as any modification aimed at improving the physiological and psychological well-being of captive animals by providing them with stimuli bound to the specific needs of their own species (Baumans, 2005; Baumans & Van Loo, 2013; Fraser, 2009; Newberry, 1995; Sztainberg & Chen, 2010). These enriched environmental modifications generally pertain to several properties intrinsic to the animal species, such as the psychomotor properties (e.g. running wheel), the social properties (e.g. housing in

social groups), the visuospatial properties (e.g. providing handling objects), the cognitive properties (e.g. labyrinths or tunnels) or the nutritional properties (e.g. foraging or food variation). In many studies, environmental enrichment consists in housing captive animals in social groups, while providing them with a variety of objects, which could facilitate sensory, cognitive, motor and social stimulation compared to the usual “standard housing conditions”. Nowadays, “standard housing conditions” for experimental animal have widely evolved. According to the directives and guidelines for the health and protection of animals used for scientific purposes (e.g. ARRIVE or the 3 R’s rule), housing of mice and rats have to be refined at least with nesting materials and as much as possible in a physically and socially appropriate enriched environment. Such enriched environment leads to important beneficial consequences both for their welfare and the quality of research data derived from them (Bailoo et al., 2018; Olsson & Dahlborn, 2002; Olsson & Westlund, 2007). In contrast, old standard housing conditions for mice and rats (bedding, food and water) were designed primarily for economic (minimal use of space, equipment and labor), ergonomic (ease of handling, visibility of animals), hygiene (easy to sanitize) and standardization (minimization of variation) reasons (Bailoo et al., 2018; Olsson et al., 2003). However, these old-fashioned standard conditions, and especially social isolation, are now unacceptable and considered as an environmental impoverishment relative to the needs of the species for both rats and mice.

EE in rodents is widely used in the scientific literature as an animal model for studying the effect of the physical, cognitive, and social environment on the development of various forms of psychopathology and neurological diseases. Appropriate enriched environmental conditions promote adapted social behaviors in experimental animals and reduce abnormal anxiety reactions and depressive symptoms. Kuleskaya et al. (2011) reported that housing conditions had a significant impact on various mice behaviors. For example, female mice housed in enriched conditions displayed faster and better-quality learning, as well as an

increase in exploratory behaviors and reduced anxious behaviors. EE was also shown to induce morphological, molecular and neurochemical changes in different brain areas (Diamond, 2001; Landers et al., 2011; Rosenzweig & Bennett, 1972; Sale et al., 2009). For example, EE was shown to alter brain plasticity and to promote dendritic ramifications in several brain areas (Greenough et al., 1973; Kempermann, 2019; Kolb et al., 2003; Komleva et al., 2013). In addition, in-vivo MRI studies reported that both male mice and rats housed in social groups with enriched physical conditions expressed neuroanatomical beneficial changes such as volumetric cerebral changes in the brain areas devoted to higher cognitive processes (Scholz et al., 2015; Susser & Wallace, 1982).

In the field of animal models of drug addiction, EE was also reported to be a reliable protective or therapeutic agent against the effects of addictive drugs. For example, many studies reported that various forms of EE have beneficial consequences against cocaine effects. EE was shown to reduce the acquisition, expression and reinstatement of cocaine self-administration (Cosgrove et al., 2002; Lynch et al., 2010; Powell et al., 2020; Smith et al., 2008; Zlebnik et al., 2010) to prevent cocaine-induced conditioned place preference (Chauvet et al. 2009; Freese et al. 2018; Solinas et al. 2008) and behavioral sensitization (Chauvet et al., 2009; Geuzaine & Tirelli, 2014; Lespine & Tirelli, 2015, 2018; Solinas et al., 2008) in both male and female rodents. Similar results were obtained with other drugs of abuse, such as amphetamines (Garcia et al., 2017; Stairs et al., 2017), nicotine (Hamilton et al., 2014; Mesa-Gresa et al., 2013; Sikora et al., 2018) and heroin (Barrera et al., 2021; Galaj et al., 2016; Imperio et al., 2018). Regarding alcohol, EE was recently reported to decrease alcohol consumption and preference in both male and female rodents (Berardo et al., 2016; Deehan et al., 2011; Holgate et al., 2017; Lopez & Laber, 2015; Marianno et al., 2017; McCool & Chappell, 2009; Munn et al., 2011). Whereas many studies have investigated the effects of physical EE in animal models of drug addiction, much less is known about the effects of social enrichment of the housing conditions. Social isolation is well established as a

stress condition in mice and rats from both sexes (Araujo et al., 2005; Conrad & Winder, 2011; Deehan et al., 2007; Gamallo et al., 1986; Lopez & Laber, 2015; Olsson & Westlund, 2007; Valzelli, 1973). However, the optimal size of housing groups of mice and rats is unclear, as overcrowded cages may also become stressful living conditions (Delaroque et al., 2021; Lin et al., 2015). In mice, according to published guidelines like ARRP (Animal Research Review Panel) and literature reviews, the optimal size for a group of adult mice is three to five for females and three to four for males (Kappel et al., 2017; Olsson & Westlund, 2007; Schuhr, 1987; Van Loo, de Groot, et al., 2001; Van Loo, Mol, et al., 2001). As social conditions probably account for a significant part of EE, further studies are required to investigate their effects in animal models of drug addiction.

The aim of the present study was to investigate the effects of social conditions, through the size of housing groups, on ethanol stimulant effects and ethanol-induced behavioral sensitization in Swiss mice. Drug sensitization is believed to result from brain central mechanisms and is suggested to play a critical role in ethanol and drug addiction (Vanderschuren & Pierce, 2010). For example, the incentive sensitization theory (Robinson & Berridge, 1993) is one of the current leading theories of addiction. The theory places the mechanism of dopamine sensitization at the heart of its explanation of drug-induced behavioral dependence. In rodent studies, drug-induced behavioral sensitization is considered homologous to the intensification of drug craving after repeated episodes of drug consumption and the paradigm is therefore used to model various features of drug addiction. In laboratory rodents, ethanol-induced behavioral sensitization is most often tested by the progressive increase in its locomotor stimulant effects over repeated administrations of the same ethanol dose (Didone et al., 2008, 2019; Masur et al., 1986; Masur & Boerngen, 1980). Previous studies reported that the locomotor stimulant effects of ethanol are affected by social housing conditions. For example, Päivärinta (1990) showed that socially isolated male mice are more vulnerable to the locomotor stimulant effects of a single

ethanol dose. Araujo et al. (2005) also reported higher levels of ethanol-induced locomotor sensitization in female mice from both isolation and overcrowded cages. In the present study, male and female Swiss mice were housed in groups of different sizes (isolated mice, two mice per cage, four mice per cage and eight mice per cage) during a six-week period starting on post-natal day 28. However, and in contrast with the study from Araujo et al. (2005), the sizes of the cages were adapted to avoid stressful overcrowding conditions. A standard paradigm of ethanol-induced locomotor sensitization was then started with one daily injection of 2.5 g/kg ethanol during 8 consecutive days. Based on previously published studies (see Araujo et al. 2005; Päivärinta 1990) and the results of previous pilot studies in our laboratory (Didone, van Ingelgom, Quertemont and Tirelli, unpublished results), it was hypothesized that isolation-housed mice would be more vulnerable to the stimulant effects of ethanol. In contrast, mice housed in groups, and especially in groups of four or eight, should display a reduced sensitivity to the stimulant effects of ethanol and their sensitization upon repeated administrations.

2. Materials and methods

2.1. Subjects

For the present study, 128 female Swiss mice were bred in our colony with male and female progenitors purchased from Janvier Laboratories (Le Genet-Saint-Isle, France). Pups were first gathered with their mothers in groups of three litters in wide breeding cages from birth to weaning (post-natal days 0 to 21) and then housed in groups of 8 from postweaning to the beginning of adolescence (post-natal days 21 to 28) in smaller breeding cages. After this breeding period, 128 four-weeks old female mice were randomly allocated into four groups with different housing conditions: single housed mice (G1), 2 mice per cage (G2), 4 mice per cage (G4) and 8 mice per cage (G8), each group of mice including 32 mice. Mice from G1 and G2 groups were housed in standard cages (30 x 12 x 13 cm, floor area of 360 cm²), mice from the G4 group were housed in medium cages (32.5 x 17 x 14 cm, floor area of 553 cm²) and mice from the G8 group in large cages (37.5 x 21.7 x 18 cm, floor area of 820 cm²). All cages were made of transparent polycarbonate (Tecniplast, Milano, Italy), filled with pine sawdust bedding, and arranged on shelves allowing olfactory, visual and acoustic interactions. The animal room was maintained on a 12-hour light/dark cycle (lights on at 7:00 A.M.) with low light intensity levels (50-60 lx), kept at a temperature of 19-24 °C and a relative humidity at 40 to 50%. Standard diet food (Carfil Quality BVDA, Oud-Turnhout, Belgium) and tap water were available ad libitum except during the experimental procedures. All experimental procedures were conducted during the light phase of the cycle, between 7:00 A.M. and 1:00 P.M and according to the Belgian implementation of the animal welfare guidelines laid down by the European Union ("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"). This protocol was reviewed and approved by the Ethics and Animal Care Committee for the use of experimental animals from the University of Liège. Every effort was made to minimize the number of animals used and their suffering. A second part

of the study was initially planned with male mice using the same methodology and an identical number of animals. However, the experiment with males had to be interrupted after a first experimental cohort of 64 mice due to the levels of injuries observed in some of them. Four male mice had to be euthanized and four others had to receive care due to leg injuries before the end of the sensitization protocol. Consequently, it was decided to end the male part of the experiment. The results of this first cohort are reported as supplementary material.

2.2. Experimental housing conditions

The four experimental housing conditions were defined by the presence or absence of congeners into the home cage. Mice of the G1 group were single housed (isolated), whereas mice of the G2 (paired), G4 (standard group) and G8 (large group) groups were housed respectively in groups of 2, 4 or 8 animals. These housing conditions remained constant during the whole experiment from the pre-testing phase (6 weeks) to the experimental phase (10 days). Except for the number of mice per cage, all other housing and cleaning conditions were identical between groups.

2.3. Drugs

In the present study, ethanol injections were 20% v/v, diluted from 99.9% ethanol in an isotonic sterile 0.9% saline solution. Ethanol and control saline solutions were injected via the intraperitoneal (i.p.) route. The 2.5 g/kg ethanol dose was selected on the basis of previous studies showing an optimal development of ethanol sensitization at this dose in Swiss mice (Didone et al., 2008, 2019; Didone, Masson, et al., 2016; Legastelois et al., 2014; Quoilin et al., 2014).

2.4. Behavioral test chambers

Locomotor activity was recorded using a videotracking software (Viewpoint, Lyon, France). The testing environment is composed of two sets of four squared open fields (40 x 40 x 40 cm), allowing the recording of eight mice simultaneously. These sets form an 80 x 80 cm squared complex. The floor and the wall are made in black hard plastic (Forex - View Point, Lyon, France), contrasting the background of the environment with the color of the mouse. A camera (Bosch - Viewpoint, Lyon, France) is positioned directly above the open fields, such that the whole surface is covered. The videotracking software measures the horizontal travel distance (cm) of the mice. Target detection considers the mice center of gravity. The testing environment was cleaned with a disinfectant/water solution between each batch.

2.5. Experimental design and procedure

The whole experiment lasted 52 days, including 42 days (6 weeks) for the pre-testing phase and 10 days for the ethanol sensitization and testing procedure. This experimental protocol (Figure 10) is derived and adapted from Didone et al. (2008, 2016, 2019) and Broadbent et al. (2005), including a habituation session to the testing environment, one daily ethanol or saline challenge for 8 sessions (sensitization induction) and a test session for the expression of the sensitized effects (sensitization expression). During the 6-weeks pre-testing phase, mice were maintained in their specific housing conditions. The sensitization protocol started on the first day of the 7th week with the habituation session. All mice were moved to the experimental room, weighed, and injected with sterile 0.9% saline and their locomotor activity was immediately recorded for the next 5 min (distance travelled in cm). In each housing condition group, mice were then subdivided into two experimental subgroups, which were equated for basal locomotor activity during the habituation session (Figure 10). Together, all these groups constituted a 4 (housing conditions) x 2 (pharmacological treatments) experimental design. The induction of sensitization started the next morning after the habituation

session. For 8 days, mice were daily injected with 2.5 g/kg ethanol (or saline for the control groups), immediately placed into the open fields and their locomotor activity was recorded for the next 5 min. This session duration was chosen in order to specifically capture the stimulant effects occurring during the ascending limb of the blood alcohol concentrations (Didone et al., 2008, 2019; Quoilin et al., 2012a). Mice were weighed again on day 1 and day 5 to check for body weight fluctuations.

The morning after the last sensitization session, an ethanol test session was carried out. All the mice were weighted and injected with 2.5 g/kg ethanol and immediately placed into the open fields. Their locomotor activity was recorded for 30 min. The aim of this last session was to test for inter-group ethanol sensitization by comparing mice of the saline control groups receiving their first ethanol challenge with mice of the ethanol groups receiving their 9th daily ethanol challenge. Relative to the sensitization sessions, the test session was of longer duration in order to capture possible delayed effects in the time course of ethanol-induced locomotor effects (Didone et al. 2008, 2019).

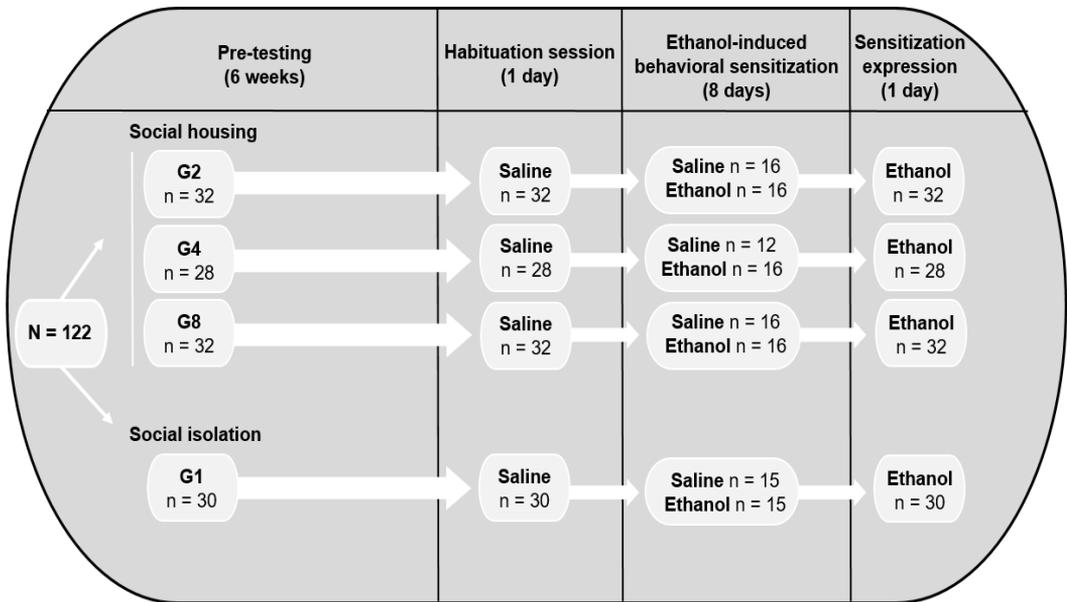


Figure 10.

Experimental design of the study. Female Swiss mice were randomly divided in four groups according to the housing conditions: single housed (G1), in pairs (G2) or in groups of 4 (G4) and 8 (G8) animals.

2.6. Attrition

During the pre-testing phase and before the start of the ethanol sensitization procedure, six mice had to be removed from the experimental protocol. Two mice of the G1 group died from unknown causes. Additionally, a male mouse was assigned by mistake into a cage of the G4 group, such that the three female mice in the cage were found pregnant; those were therefore removed from the experiment.

2.7. Statistical power analysis

Before the start of the study, minimum sample sizes for the experimental groups were estimated with a priori statistical power analyses on the main analysis of the sensitization development. Power was set at 0.8, type-I error rate at 0.05 and an effect size of $f=0.125$. This analysis was performed with GPower 3.1.

2.8. Data analysis

All behavioral data were analyzed using fixed-effect or mixed-effect analyses of variance (ANOVA) followed by Newman–Keuls post hoc tests or planned contrasts. In case of a significant Levene test, square-root transformations normalized raw data prior to the ANOVA more nearly meeting the assumption of homogeneity of variance. Effect sizes (standard or partial eta squared and Cohen's d) with 95% confidence intervals (CI) were calculated for the statistically significant effects. Statistical significance was set at $p < 0.05$. All analyzes and plots were performed with RStudio (ggplot2) and Statistica 13.2.

Locomotor activity on the habituation session was analyzed using a fixed-effect one-way ANOVA. For the first ethanol session (acute response), locomotor activity was analyzed using a fixed-effect two-way (pharmacological treatment x housing condition) ANOVA. The development of ethanol sensitization across the 8-ethanol sessions was analyzed using a mixed-effect three-way ANOVA with pharmacological treatments and housing conditions as between-subject factors

and the 8-sensitization sessions as a within-subject factor. Following a significant Mauchly's test, the Greenhouse-Geisser correction was applied to adjust for violations of the assumptions of compound symmetry and sphericity. In order to test for within-group ethanol sensitization, planned contrasts were performed independently for each experimental subgroup to compare their mean locomotor activity on the first and last sensitization session. Planned contrasts were also computed for ethanol subgroups to compare the last sensitization session between the four groups, i.e. to test for differences in ethanol-sensitized responses. Finally, the results of the sensitization test session were analyzed with a fixed-effect two-way (pharmacological treatments x housing conditions) ANOVA.

3. Results

The results for the male cohorts are reported as supplementary materials.

3.1. Habituation session

The one-way ANOVA performed on the locomotor activity during the five minutes of the habituation session displayed a significant main effect of the housing conditions [$F(3,118)=8.08$; $p<0.001$; $\eta^2=0.17$ with 95% CI (0.06, η^2 , 0.28)]. As shown in Figure 11A, the Newman-Keuls post-hoc comparisons revealed lower levels of mean locomotor activity in mice housed in groups of eight (G8) relative to all other groups ($p<0.001$): vs. G1: $d=0.95$ with 95% CI (0.42, d , 1.48), vs. G2: $d=0.96$ with 95% CI (0.44, d , 1.48) and vs. G4: $d=0.87$ with 95% CI (0.34, d , 1.40).

3.2. Acute session

The two-way ANOVA computed on the locomotor activity during the 5 minutes of the first sensitization session displayed a significant main effect of housing conditions [$F(3,113)=7.60$; $p<0.001$; $\eta^2_p=0.17$ with 95% CI (0.05, η^2_p , 0.27)] and a significant housing condition x pharmacological treatment interaction [$F(3,113)=3.19$; $p=0.026$ $\eta^2_p=0.08$ with 95% CI (0, η^2_p , 0.16)], whereas the main effect of the pharmacological treatment was not statistically significant [$F(1,113)=1.20$; $p=0.275$; $\eta^2_p=0.01$]. The Newman–Keuls post-hoc comparisons revealed that ethanol-injected mice in the G8 group displayed reduced locomotor activity relative to ethanol-injected mice in G4 [$p=0.037$; $d=0.90$ with 95% CI (0.09, d , 1.71)], G2 [$p<0.001$; $d=1.73$ with 95% CI (0.90, d , 2.56)] and G1 [$p<0.001$; $d=1.63$ with 95% CI (0.82, d , 2.44)]. Relative to their respective saline control groups, there were statistically significant acute stimulant effects in the G1 and G2 ethanol groups, but not in the G4 and G8 ethanol groups. The results of one mouse in the G2/saline group were lost due to technical recording issues. The results are shown in Figure 11B

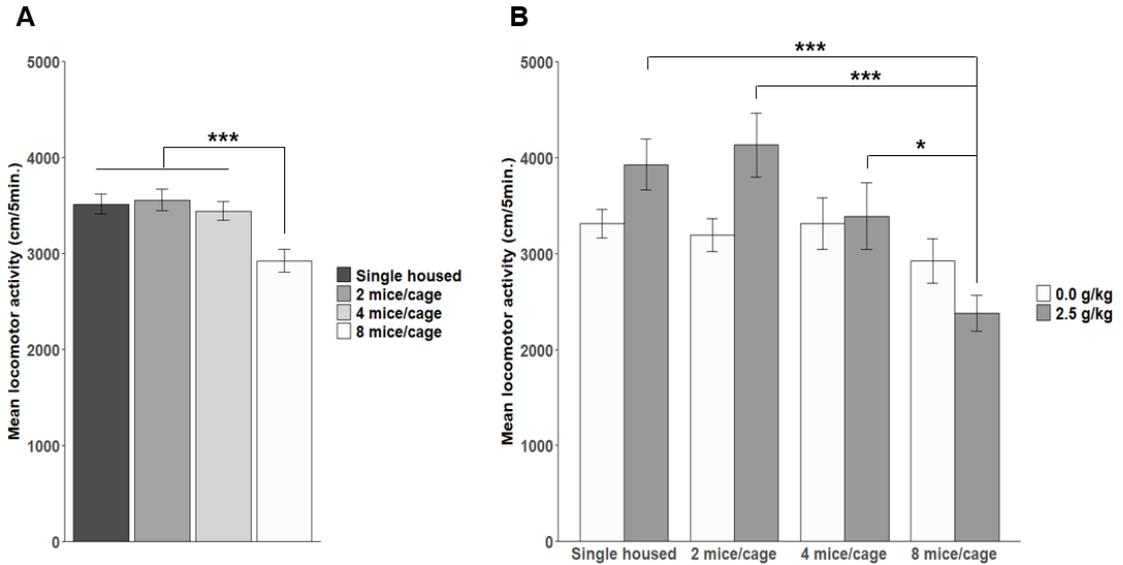


Figure 11.

A. Locomotor activity (Mean \pm SEM) on the habituation session after a saline challenge. *** $p < 0.001$: significantly different from the G8 ethanol group.

B. Locomotor activity (Mean \pm SEM) on the acute session after the injection of 2.5 g/kg ethanol or 0.0 g/kg (saline). *** $p < 0.001$ and * $p < 0.05$: significantly different from the G8 ethanol group.

3.3. Ethanol-induced behavioral sensitization

The mixed-design 2 x 4 x 8 ANOVA computed on the locomotor activity during the sensitization sessions showed a significant main effect of housing conditions [F(3,112)=8.09; $p < 0.001$; $\eta^2_p = 0.18$ with 95% CI (0.06, η^2_p , 0.28)], pharmacological treatment [F(1,112)=89.51; $p < 0.001$; $\eta^2_p = 0.44$ with 95% CI (0.31, η^2_p , 0.54)] and sensitization sessions [F(7,784)=3.75; $p < 0.001$; $\eta^2_p = 0.03$ with 95% CI (0.01, a η^2_p , 0.05)], remaining significant at $p < 0.001$ after G-G. adjustment, and a significant interaction between sensitization sessions and pharmacological treatment [F(7,784)=34.57; $p < 0.001$; $\eta^2_p = 0.24$ with 95% CI (0.18, a η^2_p , 0.28)], remaining significant at $p < 0.001$ after G-G. adjustment. This significant main interaction indicated an overall development of sensitization in all groups of mice following repeated ethanol administrations. The planned contrasts showed significant differences between the last and the first sensitization session in mice repeatedly injected with ethanol in each housing group (G1: [F(1,112)=23.40; $p < 0.001$; $d = 1.56$ with 95% CI (0.75, d , 2.37)], G2: [F(1,112)=10.50; $p < 0.01$; $d = 0.67$ with 95% CI (0.04, d , 1.38)], G4: [F(1,112)=21.52; $p < 0.001$; $d = 0.99$ with 95% CI (0.26, d , 1.72)] and G8: [F(1,112)=33.07; $p < 0.001$; $d = 1.44$ with 95% CI (0.66, d , 2.22)]). The planned contrasts performed on the locomotor activity of ethanol mice during the last sensitization session also revealed that G8 ethanol mice displayed lower levels of locomotor activity than G2 [F(1,112)=10.05; $p < 0.01$; $d = 0.83$ with 95% CI (0.11, d , 1.55)] and G1 [F(1,112)=16.12; $p < 0.001$; $d = 1.40$ with 95% CI (0.62, d , 2.18)] ethanol mice. In other words, the sensitized levels of locomotor activity reached by ethanol G8 mice on the last sensitization session was significantly reduced relative to these two housing groups, whereas the rate of development of ethanol sensitization was not significantly different from all the other groups. Figure 12A shows the locomotor activity of mice from the four housing conditions groups on every sensitization session and Figure 12B highlights the locomotor sensitized levels on the last sensitization session.

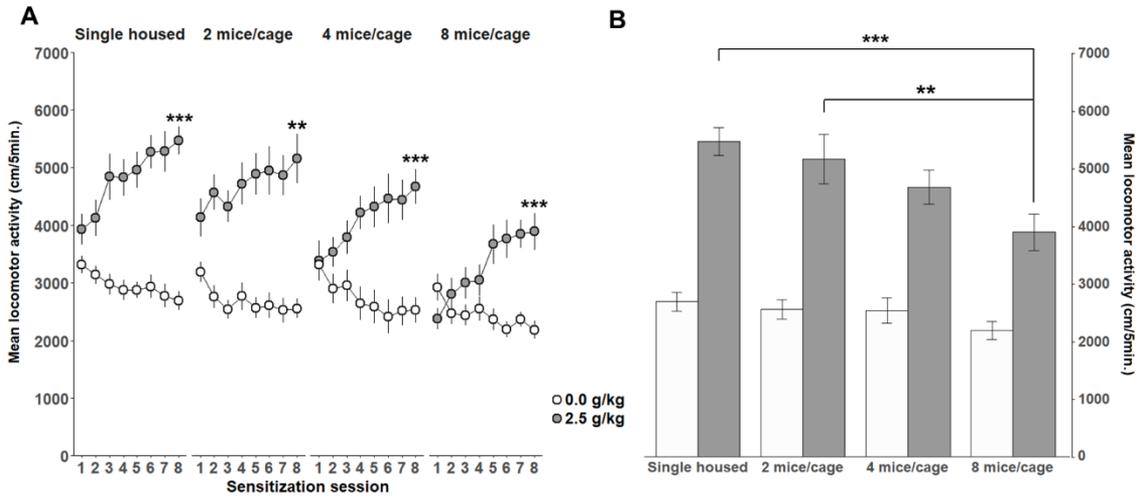


Figure 12.

A. Development of ethanol sensitization after eight injections of either 2.5 g/kg ethanol or 0.0 g/kg (saline) for the four groups of mice (Mean ± SEM). *** $p < 0.001$ and ** $p < 0.01$: significantly different from the first session, as indicated by the planned contrasts.

B. Sensitized levels of locomotor activity on the last sensitization session (8th session) for the four groups of mice (Mean ± SEM). *** $p < 0.001$ and ** $p < 0.01$: significantly different from the G8 ethanol group.

3.4. Sensitization test session

The two-way ANOVA computed on the locomotor activity during the 30 minutes sensitization test session (with a 2.5 g/kg ethanol challenge) revealed a main effect of housing conditions [$F(3,112)=7.06$; $p<0.001$; $\eta^2_p=0.16$ with 95% CI (0.04, η^2_p , 0.26)] and treatment [$F(1,112)=60.80$; $p<0.001$; $\eta^2_p=0.35$ with 95% CI (0.21, η^2_p , 0.47)]. However, the interaction between these two factors was statistically non-significant [$F(3,112)=0.62$; $p=0.60$; $\eta^2_p=0.02$]. The Newman–Keuls post-hoc comparisons revealed that all mice from the four housing conditions significantly expressed the sensitized effects of ethanol. In other words, all the ethanol groups displayed more locomotor activity than all their respective control saline groups receiving their first ethanol injection [G1: $p<0.05$; $d=0.83$ with 95% CI (0.08, d , 1.58)], [G2: $p<0.01$; $d=1.40$ with 95% CI (0.63, d , 2.17)], [G4: $p<0.001$; $d=1.39$ with 95% CI (0.57, d , 2.21)] and [G8: $p<0.001$; $d=1.84$ with 95% CI (1.01, d , 2.67)]. Reduced ethanol stimulant effects (both acute and sensitized) in the G8 group relative to all other groups explain the statistically significant main effect of housing conditions. Interestingly, the Newman–Keuls post-hoc comparisons also revealed that G8 mice repeatedly challenged with saline expressed significantly reduced acute ethanol locomotor effects relative to all other groups of saline-treated mice [vs. G1: $p<0.001$; $d=1.37$ with 95% CI (0.64, d , 2.09)], G2: $p<0.01$; $d=1.30$ with 95% CI (0.60, d , 2.01)] and [G4: $p<0.05$; $d=0.99$ with 95% CI (0.23, d , 1.75)]. Figure 13 shows the locomotor activity of mice from the four housing condition groups on the 30 minutes sensitization test session.

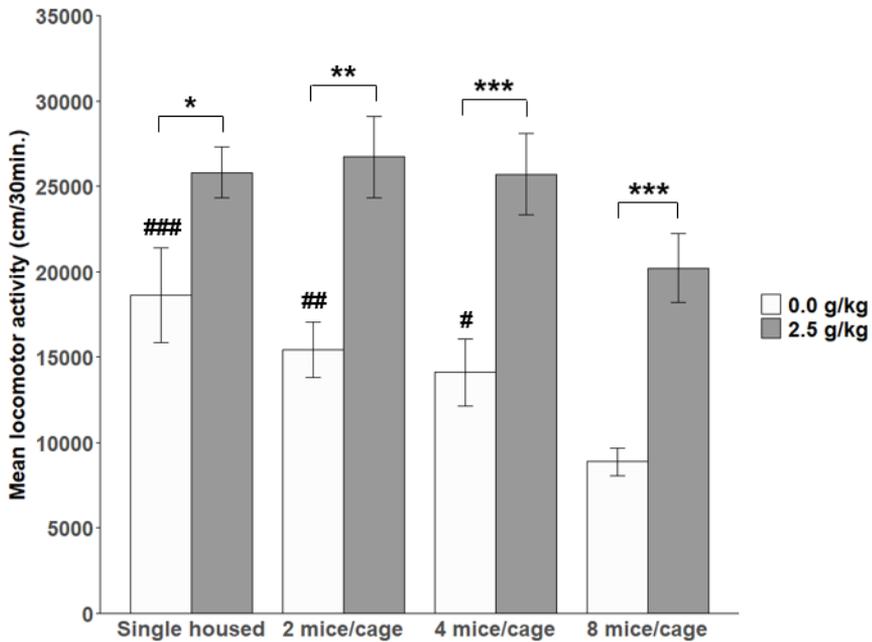


Figure 13.

Locomotor activity on the sensitization test session, the next day after the last sensitization session (9th session). All mice were injected with 2.5 g/kg ethanol. *** $p < 0.001$, ** $p < 0.01$ and * $p < 0.05$: significantly different from the respective control group that was repeatedly injected with saline during the sensitization procedure. ### $p < 0.001$, ## $p < 0.01$ and # $p < 0.05$: respectively different from G8/saline control group.

4. Discussion

The results of the present study show that social housing conditions in female Swiss mice alter the acute stimulant effects of ethanol and the sensitized response to ethanol at the end of a sensitization procedure. More precisely, the highest stimulant responses to ethanol were observed in single housed mice and then gradually decreased as the size of the group increased to reach statistical significance in mice housed in groups of eight. Although the rate of ethanol sensitization did not differ between groups, the ultimate sensitized levels of ethanol-induced stimulant effects after the 8th injection were significantly reduced in mice housed in groups of eight. It is also noteworthy that mice of the control group receiving their first ethanol injection on the test session also displayed significantly reduced levels of acute ethanol stimulant effects when housed in groups (see control group of Figure 13). Finally, mice housed in groups of eight also showed reduced levels of locomotor activity on the first habituation session. Very similar results were obtained in male mice (see supplementary material), although the experiment with males was ended after a first experimental cohort due to injurious aggression between male mice.

In female Swiss mice, the present results are consistent with the idea that higher levels of acute and sensitized ethanol stimulant effects are observed with chronic stressful housing conditions. A number of previous studies have reported higher levels of locomotor stimulant effects for a variety of abused drugs when female rodents are submitted to chronic stress, such as social isolation, overcrowding, early maternal separation or social conflict (Araujo et al., 2005, 2006; Camarini et al., 2018; Fosnocht et al., 2019; Gamallo et al., 1986; Kawakami et al., 2007, 2016; Lynch, 2006; Sinha, 2008). Concomitantly, other studies have shown that housing conditions intended to reduce stress, such as wheel running, physical enrichment or social housing, also decreased the stimulant effects of abused drugs in both males and females (Araujo et al., 2005; Bahi, 2017; Cosgrove et al., 2002; Darlington et al., 2016; Lespine & Tirelli, 2015, 2018; Lopez & Laber, 2015;

Rodríguez-Ortega et al., 2018; Rueda et al., 2012; Solinas et al., 2008). In the present study, the highest levels of acute and sensitized ethanol stimulant effects were recorded in female mice housed in social isolation, which is generally considered as a stressful housing condition in mice (Du Preez et al., 2021; Farbstein et al., 2021; Matsumoto et al., 2019; Olsson & Westlund, 2007; Sullens et al., 2021). This is in agreement with the results of Araujo et al. (2005) and Päivärinta

(1990) who also showed that socially isolated mice are more vulnerable to the stimulant effects of ethanol. However, in contrast to Araujo et al. (2005), housing female mice in groups of large sizes (8 in the present study) did not lead to new increases in the locomotor stimulant effects of ethanol. In the study from Araujo et al. (2005) the relationship between the size of the housing groups and the levels of ethanol stimulant effects followed a U shape with the highest levels of stimulant effects observed in female isolated mice and in female mice housed in groups of 15. However, and in contrast to that study, the sizes of the cages were adapted in the present study to focus on social conditions and avoid overcrowding from insufficient living space. Therefore, the present results are not in contradiction with those of Araujo et al. (2005) and together are consistent with the thesis that stressful housing conditions, whether it be from social isolation or from overcrowding, increase the locomotor stimulant effects of ethanol in female mice.

In male Swiss mice, the general conclusion is less obvious. The same effects than in female were observed for the relationship between the size of the housing groups and the acute and sensitized ethanol stimulant effects. As in female Swiss mice, the highest levels of ethanol stimulant effects were recorded in isolated male mice, while the lowest levels were observed in male mice housed in groups of eight. However, male mice housed in groups and especially in groups of eight also showed increased levels of aggression, sometimes leading to severe injuries. Previous studies had already shown that male mice housed in groups are highly intolerant to each other, tend to fight and can get hurt, sometimes seriously

(Bisazza, 1981; Kappel et al., 2017; Marashi et al., 2004; Olsson & Westlund, 2007; Van Oortmerssen, 1971). In that context, some strains of mice are more aggressive than others and male Swiss mice are notorious for their high propensity to fight (Kappel et al., 2017; Bisazza 1981). Furthermore, the ethanol sensitization procedure was shown to increase aggression (Fish et al., 2002). This is one of the reasons why we usually favor female mice in our sensitization studies (Didone et al., 2008, 2019; Didone, Masson, et al., 2016). A possible explanation to the heightened aggression of male mice during the ethanol sensitization procedure is related to social hierarchy. Male mice living in groups tend to establish stable social hierarchies with dominant and subordinate individuals (Arndt et al., 2009; Bartolomucci et al., 2004, 2005; Haemisch et al., 1994). The disinhibiting effects of ethanol could disrupt the established hierarchy (Hilakivi et al., 1989; Hilakivi & Lister, 1989; Miczek et al., 1998, 2001) and lead to increased fighting. It is therefore difficult to decide whether housing male Swiss mice in groups is beneficial in terms of stress and welfare and the question is still debated (Kappel et al., 2017). However, it has been repeatedly shown that male mice prefer the company of dominant conspecifics over isolation housing (Van Loo et al., 2003; Van Loo, de Groot, et al., 2001; Van Loo, Mol, et al., 2001) suggesting that social isolation is a stronger chronic stress. In any case, further studies with different methodologies will be required to sort out this question.

In agreement with the above considerations, one might conclude from the present results that groups of eight female mice are an optimal housing condition in female Swiss mice to reduce stress, but not to study the stimulant and sensitized effects of ethanol. For the latter purpose, isolated female mice or mice housed in pairs are better suited to obtain significant levels of sensitized ethanol stimulant effects after a few injections. In most recent published studies on ethanol sensitization, mice were usually housed in groups of 4–5 mice per cage (e.g. Ferreira et al., 2021; O'Brien et al., 2018; Stevenson et al., 2019), which could have reduced the size of the sensitized response. In the sensitization studies from our laboratory, mice are

usually housed in pairs (Didone et al., 2008, 2019; Didone, Masson, et al., 2016; Quoilin et al., 2012b) to compromise with ethical welfare considerations and avoid complete social isolation. Depending on strain, it is often recommended to house mice in groups of two to five per cage for females and three to four for males (Kappel et al., 2017; Olsson & Westlund, 2007). The present results suggest that, at least in female Swiss mice, eight individuals per cage is an adequate housing condition, provided that sufficient cage ground size is granted. In male mice, however, such group housing increases interindividual aggression, especially during an ethanol sensitization procedure.

Based on previous studies (Araujo et al. 2005; Camarini et al. 2018; Kappel et al., 2017; Olsson & Westlund, 2007; Päivärinta 1990; Rueda et al. 2012), it was hypothesized that proper social conditions, i.e. increasing the size of housing groups, would reduce the rate of ethanol sensitization development in mice. Indeed, previous studies showed that environmental enrichment of housing lead to a reduction in drug-seeking, conditioned place preference, relapse and behavioral sensitization to cocaine (Chauvet et al., 2009, 2009; Freese et al., 2018; Lespine & Tirelli, 2015; Powell et al., 2020; Solinas et al., 2008, 2009), amphetamines (Browman et al., 1998; Holgate et al., 2017; Sikora et al., 2018; Stairs et al., 2017), nicotine (Ewin et al., 2015; Hamilton et al., 2014; Mesa-Gresa et al., 2013; Redolat et al., 2009) and heroin (Barrera et al., 2021; Galaj et al., 2016). However, such previous studies mainly focused on physical enrichment. To date only two studies tested the effects of social housing conditions on ethanol-induced behavioral sensitization (see Araujo et al. 2005; Päivärinta 1990) and showed that both social isolation and overcrowding potentiate behavioral sensitization to the locomotor activating effect of ethanol. The present results did not confirm such results as all groups of mice developed robust levels of ethanol sensitization at similar rates. What differed between groups were the initial levels of acute ethanol stimulant effects and the achieved levels of stimulant effects after repeated ethanol injections. However, as discussed in Didone et al. (2019), the sensitized levels of

ethanol stimulation obtained after a given number of repeated ethanol injections might be as important as the rate at which ethanol sensitization develops. Indeed, most female mice (90%) from vulnerable strains, such as Swiss and DBA mice, developed high levels of ethanol sensitization with enough repeated ethanol injections, but differed in the sensitized levels of ethanol stimulation reached after 8–10 ethanol injections. When understood as homologous to the sensitization of ethanol craving in humans, the magnitude of the sensitized response is an important feature of drug addiction. In the present results, the sensitized stimulant effects achieved after 8 ethanol injections is significantly reduced in mice housed in groups of eight, suggesting that social enrichment exerts a protective effect against ethanol-induced locomotor sensitization.

The present results can be interpreted in line with previous studies reporting significant relationships between stress and drug or alcohol abuse. In humans, it is often reported that alcohol is consumed, and abused by some individuals as a self-medication, to cope with stress and especially social stress (Kalivas & Stewart, 1991; Keyes et al., 2011, 2012; Koob et al., 2014; Koob & Volkow, 2016; Kosten, 2011; Sinha, 2008). According to that observation, chronic stress conditions would lead to higher levels of alcohol consumption, in turn increasing the risks of alcohol abuse and addiction. The present results suggest that chronic social stress might also stimulate the neurobiological and cognitive mechanisms involved in the development of drug addiction. Drug-induced behavioral sensitization in rodent studies is used as a model of incentive sensitization, a key explanatory concept in recent drug addiction theories (Berke & Hyman, 2000; Nestler, 2001; Robinson & Berridge, 1993). One strength of the behavioral sensitization experimental paradigm is that drug administration dosage is strictly controlled, thereby allowing interpretations beyond changes in self-administration behaviors. As shown in the present results, higher levels of ethanol sensitization were observed in socially isolated mice relative to mice housed in groups without changes in the quantity or frequency of ethanol self-administration. This suggests that social isolation in

humans, as opposed to better social conditions, might contribute to the development of alcohol addiction by direct mechanisms, in addition to changes in alcohol consumption behaviors to cope with stress. Further studies will be required to investigate these mechanisms that might involve stress-alcohol cross-sensitization (Kawakami et al., 2007; Santos-Rocha et al., 2018) and interferences with dopamine neurotransmission (Broadbent et al., 2005; Camarini et al., 2011; Camarini & Pautassi, 2016; Didone, Masson, et al., 2016). In conclusion, the results of the present study show that ethanol acute and sensitized stimulant effects are affected by social housing conditions in mice. Higher ethanol stimulant effects were observed in isolated mice both males and females. These effects were significantly reduced in mice housed in larger groups. Whereas the rate of sensitization per se was not affected by social housing conditions, mice housed in larger groups showed reduced levels of sensitized ethanol stimulant effects at the end of the sensitization procedure. These results agree with previous human studies showing that chronic stress and especially chronic social stress is a risk factor for the development of alcohol abuse and dependence (Keyes et al., 2012; Wojdala et al., 2020).

Supplementary information

The results below show the effects of social housing on ethanol-induced locomotor sensitization in male Swiss mice. Materials and methods were identical to the experiment in female mice, although the experiment was interrupted after a first experimental cohort of 64 mice due to the levels of aggression in male mice housed in groups. Four male mice had to be euthanized and four others had to receive care due to leg injuries before the end of the sensitization protocol. Consequently, it was decided to end the male part of the experiment. The 64 mice of this first cohort were evenly distributed into the experimental groups.

Results in male mice

Habituation session

The one-way ANOVA performed on locomotor activity scores during the five minutes of the habituation session showed a significant main effect of the housing conditions [$F(3,60)=7.63$; $p<0.001$; $\eta^2=0.27$ with 95% CI (0.07, η^2 , 0.41)]. As shown in Figure 14A, the Newman–Keuls post-hoc comparisons indicated lower levels of mean locomotor activity in mice housed in groups of eight (G8) relative to all other groups ($p<0.001$): vs. G1: $d=1.45$ with 95% CI (0.74, d , 2.13), vs. G2: $d=1.42$ with 95% CI (0.73, d , 2.11) and vs. G4: $d=1.45$ with 95% CI (0.74, d , 2.13).

Acute session

The two-way ANOVA computed on locomotor activity scores of the first sensitization session displayed a significant main effect of housing conditions [$F(3,56)=6.98$; $p<0.001$; $\eta^2p=0.28$ with 95% CI (0.06, η^2p , 0.42)] and a significant main effect of pharmacological treatment [$F(1,56)=18.54$; $p<0.0001$ $\eta^2p=0.25$ with 95% CI (0.08, η^2p , 0.42)], whereas the interaction between these two factors was statistically non-significant [$F(3,56)=1.88$; $p=0.14$; $\eta^2p=0.10$]. The Newman–Keuls post-hoc comparisons indicated that ethanol-injected mice in the G8 group had reduced locomotor activity relative to all other saline and ethanol housing groups

($p < 0.001$): vs. its respective control G8/saline: $d = 1.51$ with 95% CI (0.54, d, 2.49), vs. G1/ethanol: $d = 1.45$ with 95% CI (0.48, d, 2.43), vs. G1/saline: $d = 1.56$ with 95% CI (0.57, d, 2.52), vs. G2/ethanol: $d = 1.43$ with 95% CI (0.45, d, 2.41), vs. G2/saline: $d = 1.51$ with 95% CI (0.54, d, 2.49), vs. G4/ethanol: $d = 1.44$ with 95% CI (0.46, d, 2.42) and vs. G4/saline: $d = 1.54$ with 95% CI (0.56, d, 2.52). The results are shown in Figure 14B.

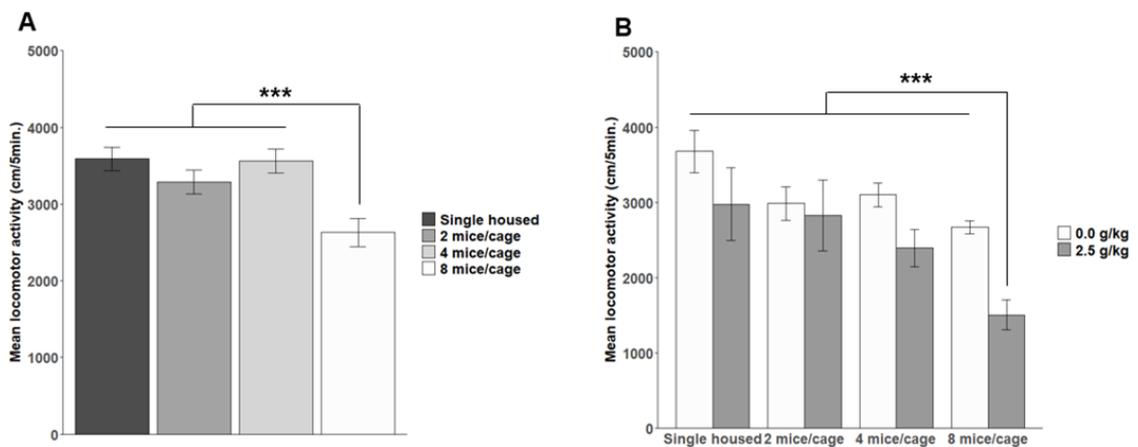


Figure 14.

A. Locomotor activity (Mean \pm SEM) on the habituation session after a saline challenge. *** $p < 0.001$: significantly different from the G8 ethanol group.

B. Locomotor activity (Mean \pm SEM) on the acute session after the injection of 2.5 g/kg ethanol or 0.0 g/kg (saline). *** $p < 0.001$: significantly different from the G8 ethanol group.

Ethanol-induced behavioral sensitization

The mixed-design 2 x 4 x 8 ANOVA computed on locomotor activity scores during the sensitization sessions showed significant main effects of housing conditions [F(3,51)=6.12; $p < 0.01$; $\eta^2_p = 0.27$ with 95% CI (0.06, η^2_p , 0.42)], sensitization sessions [F(7,357)=7.22; $p < 0.0001$; $\eta^2_p = 0.13$ with 95% CI (0.05, a η^2_p , 0.18)], remaining significant at $p < 0.0001$ after G-G. adjustment, and a significant interaction between sensitization sessions and pharmacological treatment [F(7,357)=28.21; $p < 0.0001$; $\eta^2_p = 0.35$ with 95% CI (0.26, a η^2_p , 0.42)], remaining significant at $p < 0.0001$ after G-G. adjustment. The planned contrasts showed significant differences between the last and the first sensitization session in mice repeatedly injected with ethanol in each housing group (G1: [F(1,51)=13.79; $p < 0.001$; $d = 1.06$ with 95% CI (0.40, d , 2.26)], G2: [F(1,51)=9.50; $p < 0.01$; $d = 1.05$ with 95% CI (0.27, d , 1.56)], G4: [F(1,51)=19.07; $p < 0.0001$; $d = 1.06$ with 95% CI (0.70, d , 3.09)] and G8: [F(1,51)=23.61; $p < 0.0001$; $d = 1.02$ with 95% CI (0.13, d , 1.88)]. The planned contrasts performed on locomotor activity scores during the last sensitization session also revealed that G8 ethanol mice displayed lower levels of locomotor activity than G1 [F(1,51)=4.71; $p < 0.05$; $d = 1.43$ with 95% CI (0.43, d , 2.46)] and G4 [F(1,51)=4.64; $p < 0.05$; $d = 1.43$ with 95% CI (0.45, d , 2.41)] ethanol mice. In other words, the sensitized levels of locomotor activity reached by ethanol G8 mice on the last sensitization session was significantly reduced relative to these two housing groups, whereas the rate of development of ethanol sensitization was not significantly different from all the other groups. Figure 15A shows the locomotor activity of mice from the four housing conditions groups on every sensitization session and Figure 15B the locomotor sensitized levels on the last sensitization session.

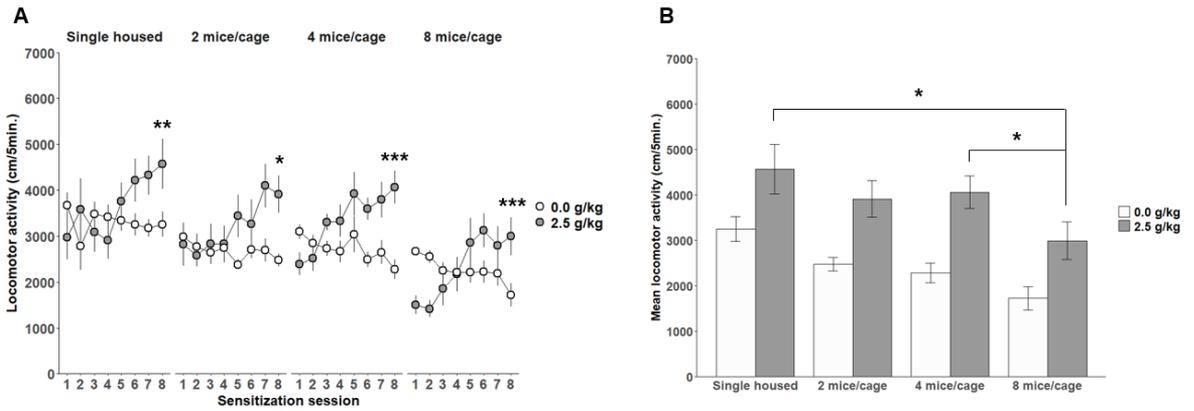


Figure 15.

A. Development of ethanol sensitization after eight injections of either 2.5 g/kg ethanol or 0.0 g/kg (saline) for the four groups of mice (Mean ± SEM). *** p<0.001, ** p<0.01 and * p<0.05: significantly different from the first session, as indicated by the planned contrasts.

B. Sensitized levels of locomotor activity on the last sensitization session (8th session) for the four groups of mice (Mean ± SEM). * p<0.05: significantly different from the G8 ethanol group

Sensitization test session

The two-way ANOVA computed on locomotor activity scores during the 30 minute sensitization test session (with a 2.5 g/kg ethanol challenge) revealed a main effect of housing conditions [$F(3,53)=4.81$; $p<0.01$; $\eta^2_p=0.21$ with 95% CI (0.02, η^2_p , 0.35)] and treatment [$F(1,53)=19.31$; $p<0.0001$; $\eta^2_p=0.27$ with 95% CI (0.08, η^2_p , 0.44)]. However, the interaction between these two factors was statistically non-significant [$F(3,53)=1.85$; $p=0.60$; $\eta^2_p=0.10$]. The Newman–Keuls post-hoc comparison revealed that only mice from the G2 and G4 housing conditions significantly expressed the sensitized effects of ethanol ($p<0.05$). In other words, these ethanol groups display more locomotor activity than their respective saline control group receiving their first ethanol injection [G2: $d=1.02$ with 95% CI (0.13, d , 1.88)] and [G4: $d=1.02$ with 95% CI (0.12, d , 1.86)]. The Newman–Keuls post-hoc comparison also revealed that G8 mice repeatedly challenged with ethanol expressed significantly less locomotor activity ($p<0.05$) than G1 [$d=1.42$ with 95% CI (0.40, d , 2.43)] and G2 [$d=1.45$ with 95% CI (0.47, d , 2.43)] ethanol mice. Figure 16 shows the sensitized locomotor activity of mice from the four housing conditions groups on the 30 minutes test session.

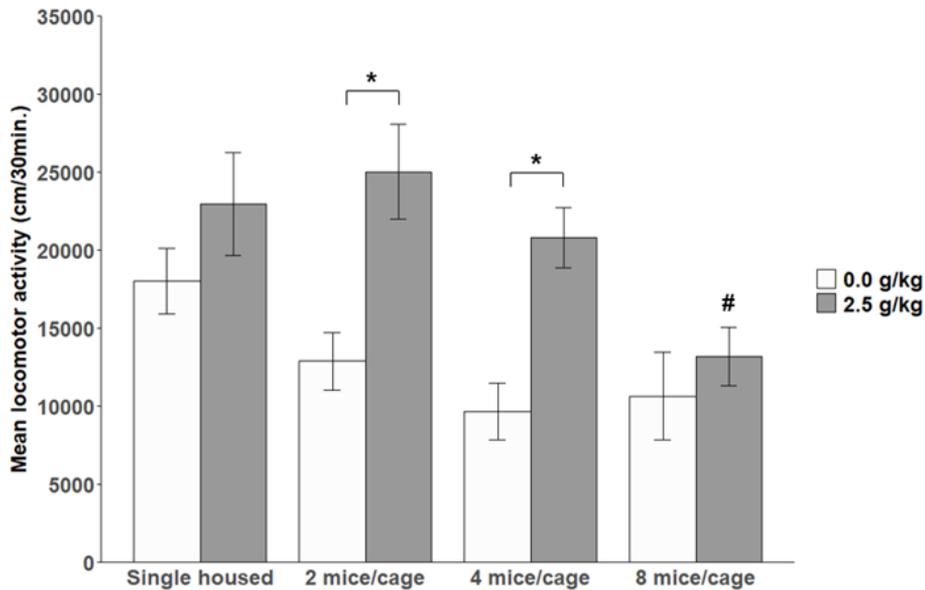


Figure 16.

Locomotor activity on the sensitization test session, the next day after the last sensitization session (9th session). All mice were injected with 2.5 g/kg ethanol. * $p < 0.05$: significantly different from the respective control group that was repeatedly injected with saline during the sensitization procedure. # $p < 0.05$: significantly different from both G1/ethanol and G2/ethanol groups.

Chapitre 8

“Effects of social housing conditions on tolerance to the sedative and hypothermic effects of ethanol in female Swiss mice”

Théo van Ingelgom, Vincent Didone, Leeloo Godefroid et Étienne Quertemont

Soumis à Alcohol (2024)

Abstract

Contemporary theories of addiction suggest that chronic alcohol consumption leads to neuro-behavioral adaptations, such as "behavioral sensitization" and "behavioral tolerance". These processes play a key role in the transition from moderate drinking to alcohol addiction. Alcohol sensitization leads to an increased motivation to drink, while tolerance requires increasing alcohol doses to achieve the same effects. Factors like genetic predispositions and environmental conditions were shown to influence these adaptations. In previous animal model studies, it was shown that drug effects are dependent upon physical environmental conditions. However, the effects of social housing conditions on drug sensitization and tolerance are much less known. The present study focuses on the role of social housing conditions in modulating tolerance to the sedative and hypothermic effects of ethanol in female Swiss mice. Female mice were housed in social groups of different sizes (isolated mice, two mice per cage, four mice per cage and eight mice per cage) during a six-week period. Tolerance to ethanol-induced sedation and hypothermia was then induced with a daily injection of 4.0 g/kg ethanol for 10 consecutive days. After this chronic ethanol treatment, all groups of mice showed significant tolerance to the hypothermic and sedative effects of ethanol. However, higher levels of tolerance were achieved in isolated mice compared to mice living in groups. These results indicate that social environment could play a significant role in the development of alcohol tolerance.

1. Introduction

Contemporary theories of addiction, as discussed by Robinson and Berridge (1993, 2001, 2008), suggest that alcohol addiction results from enduring neuro-behavioral adaptations caused by chronic alcohol consumption. Over time, with repeated use, some behavioral effects of alcohol emerge or increase in magnitude. This phenomenon is termed "behavioral sensitization" or "reverse tolerance." In contrast, other behavioral effects can decrease in magnitude or even disappear at equal alcohol doses, a phenomenon known as "behavioral tolerance". As tolerance to alcohol increases, larger amounts of alcohol are necessary to reach the same effects, whereas the impact of a given dose of ethanol is reduced. These two adaptive processes do not involve the same behavioral effects. Tolerance usually develops for physiological and aversive effects, whereas sensitization is related to the rewarding and motivational properties (Camarini et al., 2010; Elvig et al., 2021; Gardner, 2011; Koob, 2009; Koob & Le Moal, 1997; Ozburn et al., 2013). However, both processes are important determinants of the transition from moderate drug and alcohol consumption to addiction (Piazza & Deroche-Gamonet, 2013; Vanderschuren & Pierce, 2010). Accordingly, the DSM-V definition of alcohol use disorders (AUD) include criteria that are related both to the sensitization of motivational processes and to alcohol tolerance. It was also suggested that alcohol tolerance can contribute to alcohol binge drinking and to the escalation of substance use in addiction (King et al., 2002; Linsenbardt et al., 2009; Miller et al., 2007; Quoilin et al., 2013). For example, a higher tolerance to the effects of alcohol has been linked to a quicker onset and greater severity of AUD (Schuckit, 1994). More specifically, a lower sensitivity to the intoxicating effects of alcohol, including both the subjective experience and the hormonal and electrophysiological responses to alcohol, is associated with a familial history of AUD and a higher risk of alcohol addiction in humans (Schuckit, 2018). This reduced response to alcohol was estimated to have a heritability of 40–60% in human populations (Schuckit, 2018). Animal research also provide evidence for a role of tolerance in alcohol

preference and abuse. For example, some strains of rodents selectively bred for their alcohol preference show reduced response to alcohol administration (Lumeng et al., 1982).

Many studies show that the development of drug and alcohol addiction is dependent upon the physical and social properties of the environment. In particular, high levels of environmental stress have been consistently associated with increased vulnerability to drug and alcohol misuse (Antelman et al., 1980; Kalivas & Stewart, 1991; Keyes et al., 2012; Koob & Volkow, 2016; Sinha, 2009; Wojdala et al., 2020). In that context, the chronic use of drug and alcohol is often considered as a method for coping with stress (Edwards et al., 1981; Khantzian, 2013; Lazarus, 1999), which might explain the frequent co-occurrence of post-traumatic stress and substance use disorders (Davis et al., 2013; Matonda-MaNzuzi et al., 2019; Sofuoglu et al., 2014). However, other studies have also reported that individuals with high levels of alcohol consumption show a greater vulnerability to stress (Keyes et al., 2012; Sayette, 1999; Sinha, 2008), suggesting a complex, bidirectional relationship between stress and substance use disorders. With the ability to strictly control the living environment, animal studies are especially useful to understand these relationships. Many previous studies have manipulated the housing conditions to enrich or impoverish the living environment. It was shown that refining and/or enriching the housing conditions can mitigate the adverse effects of stress (Akre et al., 2011; Bahi, 2017; Bahi & Dreyer, 2020; Bailoo et al., 2018; Camarini et al., 2018; Olsson & Dahlborn, 2002).

Environmental enrichment (EE) is generally defined as any modification aimed at improving the physiological and psychological well-being of captive animals by providing them with stimuli bound to the specific needs of their own species (Baumans, 2005; Baumans & Van Loo, 2013; Fraser, 2009; Newberry, 1995; Sztainberg & Chen, 2010). These enriched conditions pertain to several properties intrinsic to the animal species, such as the psychomotor properties (e.g. running wheel or speedwalk), the social properties (e.g. housing in social groups), the

visuospatial properties (e.g. providing handling objects), the cognitive properties (e.g. labyrinths or tunnels) or the nutritional properties (e.g. foraging or food variation). Globally, EE consists in housing captive animals in social groups, while providing them with a range of objects, which could facilitate cognitive, sensory, motor, and social stimulation compared to the usual “standard housing conditions”. Previous studies have demonstrated that EE improves laboratory animal well-being, reducing anxiety and depression-like behaviors (Bailoo et al., 2018; Kuleskaya et al., 2011; Olsson & Dahlborn, 2002; Olsson & Westlund, 2007). In the field of addiction research, EE was effective in countering the motivational effects of addictive drugs. Positive effects of EE were reported against cocaine, including reduced self-administration (Cosgrove et al., 2002; Lynch et al., 2010; Powell et al., 2020; Smith et al., 2008; Zlebnik et al., 2010), conditioned preference (Chauvet et al. 2009; Freese et al. 2018; Solinas et al. 2008), and behavioral sensitization (Chauvet et al., 2009; Geuzaine & Tirelli, 2014; Lespine & Tirelli, 2015, 2018; Solinas et al., 2008). Similar outcomes were observed with other substances, such as amphetamines (Garcia et al., 2017; Stairs et al., 2017), nicotine (Hamilton et al., 2014; Mesa-Gresa et al., 2013; Sikora et al., 2018), and heroin (Barrera et al., 2021; Galaj et al., 2016; Imperio et al., 2018). Regarding alcohol, EE decreased free-choice consumption and preference (Berardo et al., 2016; Deehan et al., 2011; Holgate et al., 2017; Lopez & Laber, 2015; Marianno et al., 2017; McCool & Chappell, 2009; Munn et al., 2011) and behavioral sensitization (Araujo et al., 2005; Rueda et al., 2012; van Ingelgom et al., 2024) in mice of both sexes.

While the benefits of physical EE in drug addiction models are well documented, the role of social enrichment is less well known. In that field, most previous EE studies either focused on physical enrichment or mixed physical and social enrichment, such that the contribution of the social component cannot be specified. However, social isolation is a known stress factor for mice and rats (Araujo et al., 2005; Conrad & Winder, 2011; Deehan et al., 2007; Gamallo et al., 1986; Lopez &

Laber, 2015; Olsson & Westlund, 2007; Valzelli, 1973; van Ingelgom et al., 2024), the ideal group sizing for housing conditions remains uncertain. It is different for rats and mice but might also differ between mouse strains. Overcrowding also potentially causes stress (Delaroque et al., 2021; Lin et al., 2015). In a recent study from our laboratory, we showed that social housing conditions significantly impacts ethanol-induced stimulant effects and sensitization (van Ingelgom et al., 2024). The highest stimulant effects of ethanol were observed in socially isolated mice and then gradually decreased as the size of the group increased up to eight mice per cage. Although the rate of ethanol sensitization did not evolve with the social condition, the ultimate levels of ethanol-sensitized effects were significantly reduced as the size of the housing social group increased. Conversely, higher levels of both acute and sensitized ethanol stimulant effects were observed in mice housed in social isolation.

The aim of the present study was to investigate the effects of social conditions, through the size of housing groups, on the development of ethanol tolerance in female Swiss mice. Ethanol tolerance was tested through the progressive decrease in its sedative and hypothermic effects over repeated administrations of the same high ethanol dose (Quoilin et al., 2010, 2012b, 2013; Tirelli et al., 1992; Tirelli & Jodogne, 1993). The same social housing paradigm as described in van Ingelgom et al. (2024) was used. Two cohorts of female Swiss mice were housed in groups of different sizes (isolated mice, two mice per cage, four mice per cage and eight mice per cage) during a six-week period starting on post-natal day 28. We initially planned to include both male and female subjects to address the current recommendations regarding the consideration of sex as a biological variable in addiction research. However, such experimental design faces significant challenges when applied to male mice, primarily due to increased aggressive behaviors observed within groups of housed males. Thus, we made the decision to not include the male component of our experiment (see discussion). In the first experiment, mice were chronically injected with 4 g/kg ethanol and the

development of tolerance to ethanol-induced sedative effects was assessed using the loss of righting reflex procedure. In the second experiment, the same procedure was used to test the development of ethanol-induced hypothermia by measurements of rectal temperatures. To the best of our knowledge, this is the first study aimed at testing how social housing conditions impact the development of tolerance to the behavioral effects of ethanol.

2. Materials and methods

2.1. Subjects

For the whole study, 192 female Swiss mice were bred in our colony with male and female progenitors purchased from Janvier Laboratories (Le Genet-Saint-Isle, France). Pups were first gathered with their mothers in groups of three litters in wide breeding cages from birth to weaning (post-natal days 0 to 21) and then housed in groups of 8 from postweaning to the beginning of adolescence (post-natal days 21 to 28) in smaller breeding cages. After this breeding period, the four-week old female mice were randomly allocated to one of four groups with different housing conditions: single housed mice (G1), 2 mice per cage (G2), 4 mice per cage (G4) and 8 mice per cage (G8), each group of mice including 32 mice. Mice from G1 and G2 groups were housed in standard cages (30 x 12 x 13 cm, floor area of 360 cm²), mice from the G4 group were housed in medium cages (32.5 x 17 x 14 cm, floor area of 553 cm²) and mice from the G8 group in large cages (37.5 x 21.7 x 18 cm, floor area of 820 cm²). All cages were made of transparent polycarbonate (Tecniplast, Milano, Italy), filled with pine sawdust bedding, and arranged on shelves allowing olfactory, visual, and acoustic interactions. The animal room was maintained on a 12-hour light/dark cycle (lights on at 7:00 A.M.) with low light intensity levels (50-60 lux), kept at a temperature of 19-24°C and a relative humidity at 40 to 50%. Standard diet food (Carfil Quality BVDA, Oud-Turnhout, Belgium) and tap water were available ad libitum except during the experimental procedures. All experimental procedures were conducted during the light phase of the cycle, between 7:00 A.M. and 1:00 P.M and according to the Belgian implementation of the animal welfare guidelines laid down by the European Union ("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"). This protocol was reviewed and approved by the Ethics and Animal Care Committee for the use of experimental animals from the University of Liège. Every effort was made to minimize the number of animals used and their suffering.

2.2. Experimental housing conditions

As described in van Ingelgom et al. (2024), the four experimental housing conditions were defined by the presence or absence of congeners into the home cage. Mice of the G1 group were single housed (isolated), whereas mice of the G2 (paired), G4 (standard group) and G8 (large group) groups were housed respectively in groups of 2, 4 or 8 animals. These housing conditions remained constant during the whole experiment from the pre-testing phase (6 weeks) to the experimental phase (10 days). Except for the number of mice per cage, all other housing and cleaning conditions were identical between groups.

2.3. Drugs

In the present study, ethanol injections were 20% v/v, diluted from 99.9% ethanol in an isotonic sterile 0.9% saline solution. Ethanol and control saline solutions were injected via the intraperitoneal (i.p.) route.

2.4. Experimental design and procedure

A total of 96 female Swiss mice were used for each experiment, with 24 animals assigned to each housing condition (Figure 17). The whole experiment lasted 52 days, including 42 days (6 weeks) for the pre-testing phase and 10 days for the ethanol tolerance procedure. During the 6-weeks pre-testing phase, mice were maintained in their specific housing conditions. The procedure of ethanol-induced tolerance started on the first day of the 7th week.

Experiment 1: tolerance to ethanol-induced sedation

The sedative effects of ethanol were assessed through the loss of righting reflex (LORR) procedure. This method measures the ethanol sedative effects through the duration of the LORR after the administration of high ethanol doses (see Linsenhardt et al., 2009). All the mice were daily injected with 4.0 g/kg ethanol during 10 consecutive days. To be consistent with the characteristics of experiment 2 (see below), the LORR procedure was limited to three behavioral tests. On the

1st, 5th, and 10th day, all mice were moved to the experimental room, weighed, and received an intraperitoneal (i.p.) injection of 4 g/kg ethanol and were then returned to their cages until losing their righting reflex, which typically occurred within 2 minutes. Mice that had a greater latency to lose their righting reflex remained in their homecage, and a further 2-minute interval was allowed for the loss of righting reflex to be significant. If the loss of righting reflex was not significant after two intervals, the duration of LORR was recorded as zero. Once losing their righting reflex, mice were then placed into a V-shaped support (frame measuring 22 x 11 x 6 cm) until their reflex was recovered. The criterion for reflex recovery was the ability to right three times on all four limbs within 60 seconds. Both the time taken for the mice to lose the reflex and the duration of LORR were recorded. On days without LORR procedure, mice received their injections in the experimental room, were then returned to their homecages, and subsequently moved back to the colony room 30 minutes after the injection.

Experiment 2: tolerance to ethanol-induced hypothermia

Ethanol-induced hypothermia was assessed by measuring the decrease in rectal temperature 30 minutes after the injection of a 4.0 g/kg ethanol dose. The change in rectal temperature was determined by subtracting the control pre-injection temperature from the temperature recorded 30 minutes after injection ($\Delta^{\circ}\text{C}$). All the mice were daily injected with 4.0 g/kg ethanol during 10 consecutive days. To avoid irritation issues due to probe insertions, the duration of hypothermia procedure was limited to three tests. On days 1, 5, and 10, each mouse was moved to the experimental room, weighed, and carefully restrained on a wire mesh grid. A lubricated 2-cm thermometer probe (BIO-TK9882, BiosebLab, Vitrolles, France) was then inserted into the rectum until a steady temperature reading was achieved, which usually took about 30 seconds. Approximately 15 minutes after recording control rectal temperature, mice received an intraperitoneal (i.p.) injection of 4 g/kg ethanol and were then placed back in their cages. Rectal temperature was recorded again 30 minutes after the injection. After the second temperature

recording, mice remained for 30 minutes in the testing room. On days without hypothermia procedure, mice received their injections in the experimental room, were then returned to their homecages, and subsequently moved back to the colony room 30 minutes after the injection.

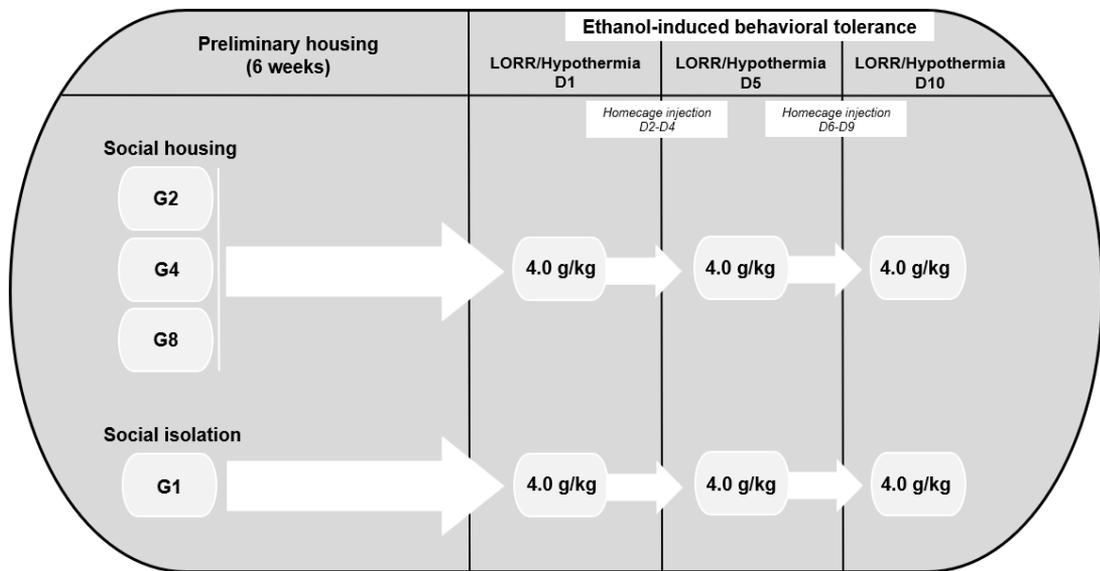


Figure 17.

Experimental design of the study. Female Swiss mice were randomly divided in four groups according to the housing conditions: single housed (G1), in pairs (G2) or in groups of 4 (G4) and 8 (G8) animals.

2.5. Attrition

In experiment 1, two mice from two distinct G2 groups died, respectively on Day 5 and Day 10. As a result, the two cages associated with these G2 groups were removed from the study, i.e. a total of 4 mice.

2.6. Data analysis

All behavioral data were analyzed using fixed-effect or mixed-effect analyses of variance (ANOVA) followed by Newman–Keuls post hoc tests or planned contrasts. In case of a significant Levene test, square-root transformations were applied to normalize the raw data prior to the ANOVA, more nearly meeting the assumption of homogeneity of variance. Effect sizes (standard or partial eta squared and Cohen's *d*) with 95% confidence intervals (CI) were calculated for the statistically significant effects. Statistical significance was set at $p < 0.05$. All analyzes and plots were performed with RStudio (ggplot2) and Statistica 13.2.

The duration of the LORR on the first ethanol challenge was analyzed using a fixed-effects one-way ANOVA (acute sedation). The development of ethanol tolerance across the 3-LORR sessions was analyzed using a mixed-effect two-way ANOVA with housing conditions as a between-subject factor and the 3-LORR sessions as a within-subject factor. Following a significant Mauchly's test, the Greenhouse-Geisser correction was applied to adjust for violations of the assumptions of compound symmetry and sphericity. In order to test for within-group ethanol tolerance, planned contrasts were performed independently for each experimental group to compare their mean LORR duration on the first and last tolerance session. Planned contrasts were also computed to compare the duration of the LORR on the last ethanol session between the four groups, i.e. to test for differences in tolerance to ethanol-induced sedative effects.

Ethanol-induced hypothermia was calculated as the difference in rectal temperatures measured 15 minutes prior to and 30 minutes after ethanol injection ($\Delta^{\circ}\text{C}$). Similar to the LORR analysis, the $\Delta^{\circ}\text{C}$ on the first day (acute hypothermia)

were analyzed using a fixed-effects one-way ANOVA. The development of ethanol tolerance across the 3-hypothermia sessions was analyzed using a mixed-effect two-way ANOVA with housing conditions as between-subject factor and the 3-hypothermia sessions as a within-subject factor. Following a significant Mauchly's test, the Greenhouse-Geisser correction was applied to adjust for violations of the assumptions of compound symmetry and sphericity. In order to test for within-group ethanol tolerance, planned contrasts were performed independently for each experimental group to compare their mean $\Delta^{\circ}\text{C}$ on the first and last tolerance session. Planned contrasts were also computed to compare the last tolerance session between the four groups, i.e. to test for differences in tolerance to ethanol-induced hypothermia responses.

3. Results

Experiment 1: tolerance to ethanol-induced sedation

3.1. Acute ethanol challenge

The one-way ANOVA performed on the LORR durations during the first ethanol session revealed no significant statistical difference in the LORR duration between groups [$F(3,88)=0.41$; $p=0.74$; $\eta^2=0.01$]. These results are shown in Figure 18A.

3.2. Tolerance to ethanol-induced sedation

The mixed-design 4 x 3 ANOVA computed on the duration of the LORR across the tolerance sessions showed a significant main effect of housing conditions [$F(3,88)=3.47$; $p<0.01$; $\eta^2_p=0.11$ with 95% CI (0.02, η^2_p , 0.21)] and tolerance sessions [$F(2,176)=23.87$; $p<0.0001$; $\eta^2_p=0.22$ with 95% CI (0.12, a η^2_p , 0.32)], remaining significant at $p<0.0001$ after G-G. adjustment, whereas the interaction between sessions and housing conditions was not statistically significant [$F(6,176)=0.47$; $p=0.83$; $\eta^2_p=0.01$]. The significant main effect of the sessions is explained by a progressive decline in the duration of the LORR after repeated exposures to ethanol, in other words this shows the development of tolerance to the sedative effects of ethanol in all groups. The planned contrasts showed significant differences between the last and the first ethanol session in mice repeatedly injected with ethanol in G1 [$F(1,88)=13.14$; $p<0.001$; $d=1.03$ with 95% CI (0.42, d , 1.63)], G2 [$F(1,88)=7.71$; $p<0.01$; $d=0.62$ with 95% CI (0.03, d , 1.20)] and G4 [$F(1,88)=7.41$; $p<0.01$; $d=0.67$ with 95% CI (0.22, d , 1.11)], whereas this difference was not statistically significant in G8 [$F(1,88)=3.94$; $p=0.0505$]. In the G8 group, there was therefore insufficient statistical evidence to claim that these mice developed tolerance to the sedative effects of ethanol. The results are shown in Figure 18B. The planned contrasts performed on the duration of the LORR during the last ethanol session revealed significant differences in ethanol-induced sedation between the groups. Single housed mice displayed a shorter duration of

the LORR (a stronger tolerance) than G8 [$F(1,88)=21.28$; $p<0.0001$; $d=1.41$ with 95% CI (0.76, d, 2.04)] and G4 [$F(1,88)=9.32$; $p<0.01$; $d=0.43$ with 95% CI (-0.15, d, 1.01)]. G2 mice also displayed a shorter duration of the LORR than G8 [$F(1,88)=9.84$; $p<0.01$; $d=0.93$ with 95% CI (0.31, d, 1.46)]. In other words, single housed mice reached higher levels of ethanol tolerance to the sedative effects of ethanol than mice from G4 and G8 groups on the last ethanol session. Figure 18C shows the duration of the LORR on the last ethanol session.

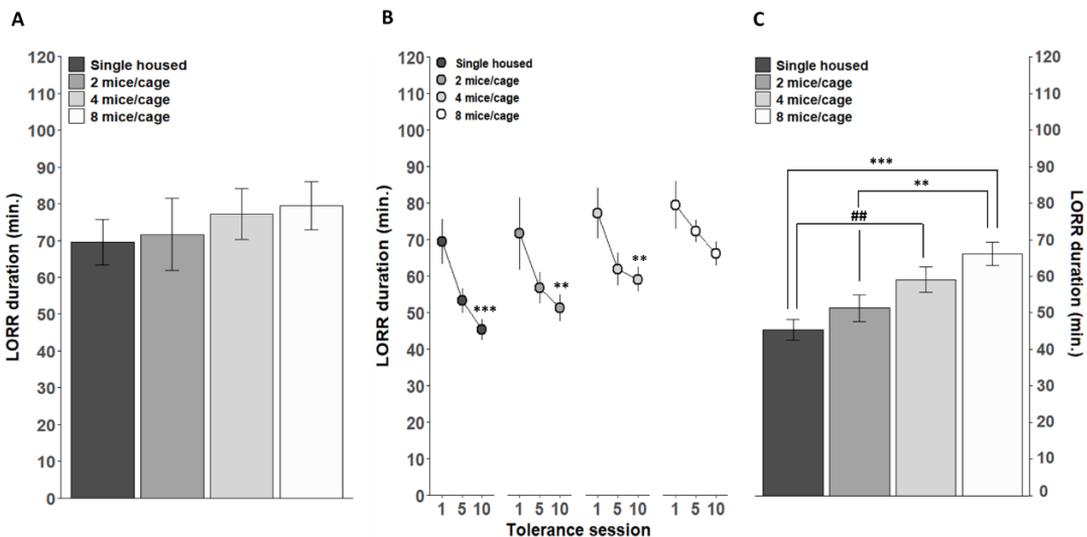


Figure 18.

Chronic tolerance to ethanol-induced sedation in the four housing conditions.

A. Duration of the LORR (Mean ± SEM) on the first ethanol session after the injection of 4.0 g/kg ethanol.

B. Development of ethanol tolerance after ten injections of 4.0 g/kg ethanol (Mean ± SEM). The LORR tests were performed on the 1st, 5th, and 10th day of ethanol chronic exposure. Mice were homecage-injected the other days. *** $p<0.001$ and ** $p<0.01$: significantly different from the first session, as indicated by the planned contrasts.

C. Duration of the LORR (Mean ± SEM) on the 10th ethanol session after the injection of 4.0 g/kg ethanol. *** $p<0.0001$ and ** $p<0.01$: significantly different from the G8 group. ## $p<0.01$: significantly different from the G4 group.

Experiment 2: tolerance to ethanol-induced hypothermia

3.3. Acute ethanol challenge

The one-way ANOVA performed on the first ethanol session revealed no significant statistical differences in the change in rectal temperature between groups [F(3,92)=0.71; p=0.55; $\eta^2=0.02$]. The results are shown in Figure 19A.

3.4. Tolerance to ethanol-induced hypothermia

The mixed-design 4 x 3 ANOVA computed on the changes in rectal temperature across the tolerance sessions showed significant main effects of housing conditions [F(3,92)=6.95; p<0.001; $\eta^2_p=0.19$ with 95% CI (0.04, η^2_p , 0.31)] and tolerance sessions [F(2,184)=154.20; p<0.0001; $\eta^2_p=0.62$ with 95% CI (0.55, a η^2_p , 0.69)], remaining significant at p<0.0001 after G-G. adjustment. However, the interaction between the sessions and housing conditions was not statistically significant [F(6,184)=1.33; p=0.251; $\eta^2_p=0.04$]. The significant main effect of the sessions indicates a development of ethanol tolerance with a gradual decrease in ethanol-induced hypothermia across sessions. The planned contrasts confirmed significant differences between the last and the first tolerance session in all the housing groups repeatedly injected with ethanol : G1 [F(1,92)=88.93; p<0.0001; d=3.27 with 95% CI (2.18, d, 4.35)], G2 [F(1,92)=70.09; p<0.0001; d=2.23 with 95% CI (1.40, d, 3.08)], G4 [F(1,92)=76.36; p<0.0001; d=2.40 with 95% CI (1.49, d, 3.30)], and G8 [F(1,92)=43.12; p<0.0001; d=1.69 with 95% CI (0.99, d, 2.36)]. Therefore, the results show a significant ethanol tolerance in all groups of mice following repeated ethanol administrations (Figure 19B). The planned contrasts performed on the changes in rectal temperature during the last session revealed differences in tolerance to ethanol-induced hypothermia responses in G8 vs. all the other groups. G8 mice displayed a stronger hypothermia score (a lower tolerance) than G1 [F(1,92)=14.49; p<0.001; d=1.12 with 95% CI (0.55, d, 1.68)], G2 [F(1,92)=5.61; p<0.05; d=0.59 with 95% CI (0.02, d, 1.15)] and G4 [F(1,92)=5.82; p<0.05; d=0.60 with 95% CI (0.05, d, 1.18)] groups. In other words,

the levels of tolerance to ethanol-induced hypothermia reached by G1, G2 and G4 mice on the last session were stronger than G8 mice. Figure 19C shows the changes in rectal temperature on the last session.

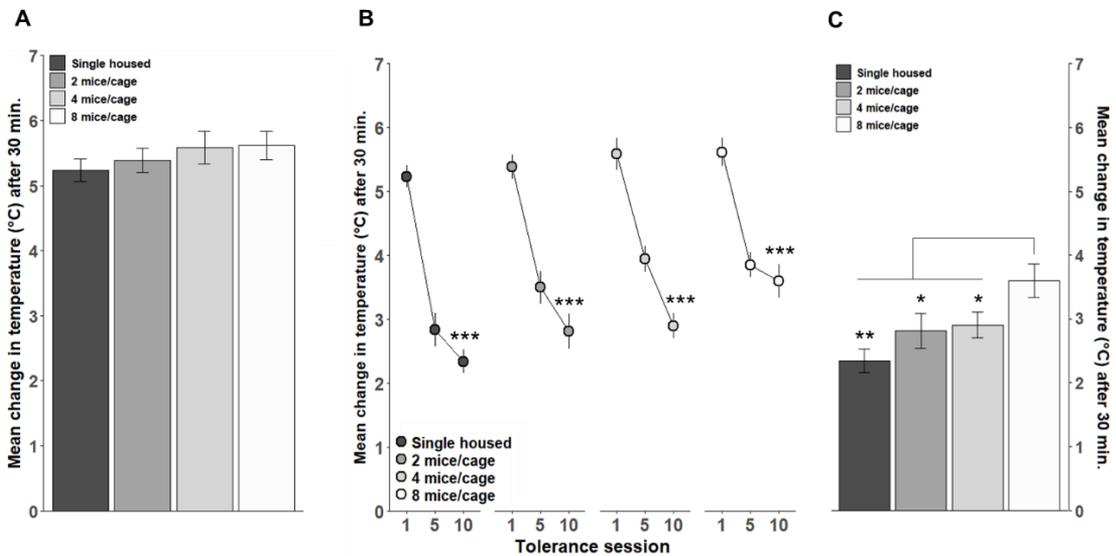


Figure 19.

Chronic tolerance to ethanol-induced hypothermia in the four housing conditions.

A. Changes in rectal temperatures (Mean ± SEM) on the first session after the injection of 4.0 g/kg ethanol.

B. Development of ethanol tolerance after ten injections of 4.0 g/kg ethanol (Mean ± SEM). The hypothermia measures were performed on the 1st, 5th, and 10th day of ethanol chronic exposure. Mice were homecage-injected the other days. *** p<0.0001: significantly different from the first session, as indicated by the planned contrasts.

C. Changes in rectal temperatures (Mean ± SEM) on the 10th ethanol session after the injection of 4.0 g/kg ethanol. ** p<0.001 and * p<0.05: significantly different from the G8 group.

4. Discussion

The results of the present study show that social housing conditions in female Swiss mice globally alter the tolerance to ethanol-induced sedation and hypothermia. While there was no statistical difference between the social conditions on the acute sedative and hypothermic effects of ethanol during the initial tolerance session, a significant effect of the social condition with a large effect size was observed on the 10th ethanol session. On that last ethanol session, both the sedative and hypothermic effects of ethanol increased with the size of the housing group. It is also noteworthy that all groups of mice developed a significant tolerance to the sedative and hypothermic effects of ethanol, as evidenced by the significant differences between the first and last ethanol sessions. There was only one exception with the G8 group of mice in which the tolerance to the sedative effects failed to reach statistical significance. These results agree with previous studies indicating that chronic exposure to substances like ethanol can lead to adaptive neurophysiological changes, resulting in reduced sensitivity to its effects (Elvig et al., 2021; Koob & Le Moal, 1997; Linsenbardt et al., 2009; Ozburn et al., 2013). In rodents, chronic ethanol tolerance is characterized by both a metabolic and pharmacodynamic tolerance (Elvig et al., 2021; Kalant, 1998). Chronic ethanol tolerance has been widely demonstrated for its ataxic (Linsenbardt et al., 2009; Phillips et al., 1996; Silveri & Spear, 2001), hypothermic (Crabbe, 1994; Rustay et al., 2001), anxiolytic (Koob et al., 1987; Sharma et al., 2007) and sedative effects (Masur et al., 1986; Quoilin et al., 2013; Silvers et al., 2003). The development of tolerance observed in the present study may be defined as a rapid tolerance, characterized by a diminished response to behavioral effects of alcohol on a second exposure occurring 8-24 hours after the initial exposure (Sharma et al., 2014). Behavioral and physiological indicators of rapid tolerance, such as hypothermia, non-rapid-eye-movement sleep promotion, circadian clock phase resetting, motor incoordination, and sedation, have been reported. Importantly, rapid tolerance is considered a key indicator for the onset of chronic tolerance and

cross-tolerance to other drugs, suggesting a potential predictive value for broader substance resistance adaptations (Lê & Kiiianmaa, 1988; Rustay & Crabbe, 2004). In the present study, the rate of ethanol tolerance development did not significantly differ between groups as shown by the statistically non-significant interaction group x session effects. In summary, mice housed in larger social groups showed a stronger sensitivity to the sedative and hypothermic effects of ethanol, which is especially apparent when the tolerance to these effects was tested after 10 ethanol injections. In contrast, single-housed mice showed the highest tolerance to the sedative and hypothermic effects of ethanol.

The differences observed between groups on the last ethanol session may be attributed to a variety of factors, including metabolic differences, social buffering effects, and neurobiological mechanisms such as the role of GABA. Ethanol metabolism, which can vary significantly among individuals, may influence the rate at which ethanol is eliminated from the body, thereby affecting tolerance development. It is well known that repeated ethanol administration leads to a tolerance to some of its effects, including the sedative and hypothermic effects (Linsenhardt et al., 2009; Masur et al., 1986; Quoilin et al., 2013; Crabbe, 1994; Rustay et al., 2001). Although not tested in the present study, it is possible that ethanol metabolism is altered by social housing conditions. Social buffering is the process by which the presence of conspecifics can mitigate the stress response. This phenomenon may play a crucial role in the development of tolerance to some ethanol effects and might therefore contribute to explain the effects observed in the present study. The presence of congeners in larger housing conditions may provide a form of social support (Hennessy et al., 2009; Hostinar et al., 2014), reducing stress levels and potentially influencing the neurobiological response to ethanol. This effect could contribute to the differences observed between socially housed mice and those housed individually, with social housing potentially moderating the effects of ethanol through stress reduction (Camarini et al., 2018; Päivärinta, 1990; van Ingelgom et al., 2024) or homeostatic regulation. Finally,

neurobiological differences may explain the differential responses to ethanol in the experimental groups. GABA (gamma-aminobutyric acid), the major inhibitory brain neurotransmitter, is known to be involved in the sedative and hypothermic effects of ethanol (Barbosa & Morato, 2001; Davies, 2003; Sharma et al., 2007). It was also shown that chronic ethanol exposure leads to adaptations in the GABAergic function, which contribute to the development of ethanol tolerance (Elvig et al., 2021). Accordingly, there is evidence that the GABAergic system is involved in the development of rapid tolerance to the effects of ethanol. For example, GABA_A agonists, such as muscimol, blocked tolerance to ethanol-induced motor incoordination in a rotarod test in Swiss mice (Barbosa & Morato, 2001). Similarly, the GABA_B receptor agonist baclofen inhibited the development of rapid tolerance to alcohol, while an inverse effect was observed with the GABA_B receptor antagonists CGP36742 and CGP56433, both of which promoted the development of rapid tolerance to alcohol in Swiss mice (Zaleski et al., 2001). Environmental conditions, and especially environmental enrichment, were shown to alter neurobiological factors, such as an enhancement of neurogenesis and BDNF, and changes in the extracellular concentrations of glutamate and GABA in some brain regions (Malone et al., 2022; Mora-Gallegos et al., 2015; Segovia et al., 2006) suggesting that neurobiological differences between the housing groups might explain the observed effects on ethanol tolerance. Further studies will be required to test such hypotheses.

In a previous study, we had shown that sensitization to ethanol stimulant effects in mice was also dependent upon the housing social conditions (van Ingelgom et al., 2024). The effects on ethanol sensitization mirrored those on ethanol tolerance observed in the present study. While tolerance to the sedative and hypothermic effects increased as the size of the housing groups decreased in the present study, sensitization to the stimulant effects decreased as the size of the housing group increased. Together, these effects might contribute to differences in the motivational effects of ethanol. Previous studies have emphasized the protective

effects of enriched environments against the development of drug addiction behaviors in mice (Bahi, 2017; Camarini et al., 2018; Solinas et al., 2008), suggesting that interventions aimed at enhancing the quality of housing environments could be beneficial in preventing or treating addiction. For example, studies have reported higher levels of locomotor stimulant effects for a variety of drugs when female rodents are submitted to chronic stress, such as social isolation, overcrowding, early maternal separation, or social conflict (Araujo et al., 2005, 2006; Camarini et al., 2018; Fosnocht et al., 2019; Gamallo et al., 1986; Kawakami et al., 2007, 2016; Lynch, 2006; Sinha, 2008). Concomitantly, other studies have shown that housing conditions intended to reduce stress, such as wheel running, physical enrichment or social housing, decreased the stimulant effects of abused drugs in both male and female mice (Araujo et al., 2005; Bahi, 2017; Cosgrove et al., 2002; Darlington et al., 2016; Lespine & Tirelli, 2015, 2018; Lopez & Laber, 2015; Rodríguez-Ortega et al., 2018; Rueda et al., 2012; Solinas et al., 2008). In humans, converging evidence shows that both alcohol sensitivity and alcohol tolerance contribute to the development of alcohol use disorders. For example, sons of alcoholics have a higher sensitivity to some effects of alcohol, particularly noticeable in finger pulse amplitude changes, while also showing a higher tolerance to other ethanol effects (Newlin & Thomson, 1990, 1991, 1999; Schuckit, 1991). Together with our previous study (van Ingelgom et al., 2024), the present results indicate that social isolation both increases the sensitivity to the stimulant effects of ethanol and the tolerance to its sedative and hypothermic effects. As human and animal studies previously reported that such effects are related to alcohol use disorders, it would be useful to study in future studies whether these effects translate to changes in the motivational effects of ethanol in rodents. This would further highlight the potential role of social interactions and environmental enrichment in mitigating the vulnerability to alcohol addiction.

Two limitations of the present study need to be mentioned. First, the effects were exclusively tested in female Swiss mice. We initially planned to include both males

and females to address the current recommendations regarding sex as a biological variable in addiction research. However, as reported in van Ingelgom et al. (2024), the use of male Swiss mice, housed in groups of various sizes, and chronically administered with ethanol, faced significant challenges and ethical issues related to the aggressive behaviors. In our previous study, these aggressive behaviors led to severe injuries, repeatedly requiring euthanasia (see van Ingelgom et al., 2024). Previous studies had already shown that male mice housed in social groups are highly intolerant to each other, tend to fight and can get seriously hurt (Bisazza, 1981; Kappel et al., 2017; Marashi et al., 2004; Olsson & Westlund, 2007; Van Oortmerssen, 1971). Moreover, some mouse strains exhibit more aggressive tendencies, with male Swiss mice being particularly known for their strong inclination towards aggressive interactions (Bisazza, 1981; Kappel et al., 2017). Additionally, it was shown that repeated alcohol exposure leads to an increase in aggressive behavior towards conspecifics (Covington et al., 2018; Fish et al., 2002; Hwa et al., 2015; Newman et al., 2012). Given these circumstances, the male cohort of the study on ethanol sensitization was prematurely terminated, although the collected results were sufficient to show similar results to females. For the same reason, male Swiss mice were not included in the present experiment.

A second limitation is the absence of blood ethanol concentration measurements. This would have been useful to investigate potential differences in alcohol metabolism between the housing groups in the tested mice. Alcohol metabolism varies from person to person due to various factors, including genetic differences, sex, age, overall health status, and previous alcohol consumption. As environmental conditions and enrichment were shown to alter various physiological and metabolic parameters, it makes sense to think that ethanol metabolism might have been affected by social housing conditions in the present study. Further studies will be required to test such contribution of ethanol metabolism. However, this explanation seems unlikely as our previous study demonstrated that the same social conditions leading to a higher tolerance to ethanol-induced sedation and

hypothermia also produced higher locomotor stimulant effects of ethanol (see van Ingelgom et al., 2024). If the effects were explained by changes in ethanol metabolism, all effects of ethanol should be affected in the same direction.

In conclusion, the present study shows that tolerance to the sedative and hypothermic effects of ethanol is affected by social housing conditions, with socially isolated mice displaying the lowest sensitivity to ethanol-induced sedation and hypothermia. These results add to the growing body of literature highlighting the significance of environmental and social factors in the development of ethanol tolerance, sensitization and motivational effects.

Chapitre 9

“Effects of social housing conditions on anxiety-like behaviors, response to novelty and habituation in female Swiss mice”

Théo van Ingelgom, Vincent Didone et Étienne Quertemont

Abstract

In laboratory rodents, housing conditions were shown to alter many behaviors such as novelty seeking, anxiety-related behaviors, cognitive process and response to drugs. Previous studies reported that social housing conditions also affect ethanol stimulant effects and its sensitization after repeated exposure. The aim of the present study was to investigate the impact of social housing conditions on anxiety-like behaviors, response to novelty, and habituation, as well as on ethanol-induced locomotor activity and anxiolytic effects in female Swiss mice. Mice were randomly assigned to different social housing conditions: social isolation, two per cage, four per cage or eight per cage. After six weeks, they were tested in an elevated plus-maze for their anxiety-like behaviors and in an open-field for their locomotor activity. The results show that social isolation decreased some anxiety-like behaviors. However, these effects are probably better interpreted as resulting from a significant locomotor hyperactivity. Social housing conditions also altered the locomotor response to novelty. Isolated mice showed higher levels of activity in a new environment, together with reduced habituation upon repeated exposure to this environment. Whereas social conditions failed to alter the anxiolytic effects of ethanol, they significantly affected its locomotor effects. Isolated mice were more sensitive to the stimulant effects compared to mice housed in groups, confirming the results of previous studies.

1. Introduction

The multidimensional concept of environmental enrichment has aroused keen interest within the behavioral discipline of neuroscience for many years. In addition to their widely demonstrated neurobiological impact, enriched housing environments were also studied for their effects on behavior, cognitive functions, and psychological aspects in laboratory rodents. Environmental enrichment (EE) is generally defined as any modification aimed at improving the physiological and psychological well-being of captive animals by providing them with stimuli bound to the specific needs of their own species (Baumans, 2005; Baumans & Van Loo, 2013; Fraser, 2009; Newberry, 1995; Sztainberg & Chen, 2010). These environmental modifications generally relate to several properties intrinsic to the animal species, such as the psychomotor properties (e.g. running wheel or speedwalk), the social properties (e.g. housing in social groups), the visuospatial properties (e.g. providing handling objects), the cognitive properties (e.g. labyrinths or tunnels) or the nutritional properties (e.g. foraging or food variation). Globally, EE consists in housing captive animals in social groups, while providing them with a range of objects, which could facilitate cognitive, sensory, motor, and social stimulation compared to the usual “standard housing conditions”. Such an enriched environment results in notable positive outcomes, enhancing both the well-being of the subjects and the quality of the research data obtained from them (Bailoo et al., 2018; Olsson & Dahlborn, 2002; Olsson & Westlund, 2007).

Studies on EE in rodents are primarily based on the observation that a standard housing cage offers few opportunities for laboratory rodents to express their natural behaviors (Balcombe, 2006, 2010; Olsson & Dahlborn, 2002). Among the behaviors that are improved or allowed by EE, previous studies mainly focused on the general level of rodent activity, sometimes subdivided into specific behaviors such as exploratory and locomotor behaviors, novelty seeking, behaviors related to sleep and nutrition, stress, anxiety, stereotypies, depression or social interactions (Bayne, 2018). These studies indicate that the mere introduction of

species-specific refinement or simple forms of enrichment in a standard housing cage significantly improves the overall well-being of laboratory rodents and behavioral regulation (Bailoo et al., 2018). Among the various forms of EE, studies have investigated the effects of social enrichment by comparing socially isolated rodents with rodents housed in social groups of various sizes. Chronic social isolation is often associated with the development of the isolation syndrome, initially described by Hatch et al. (1965) in rats and Valzelli (1973) in mice. This syndrome leads to behavioral disturbances, such as stereotypies, hyperactivity, and alterations in the mechanisms of adaptation to an unfamiliar environment (Balcombe, 2006; Hellemans et al., 2004). Especially, several studies have shown that socially isolated rodents exhibit significantly higher levels of locomotor activity in a new environment, as well as a reduced habituation over repeated exposures (Brenes et al., 2008; Fone & Porkess, 2008; Hall et al., 2000; Hellemans et al., 2004). The isolation syndrome was reported to produce various behavioral disturbances and notably hyperactivity and alterations in the mechanisms of adaptation to an unfamiliar environment (Balcombe, 2006; Hellemans et al., 2004). More specifically in mice, behavioral hyperactivity is very often observed in several behavioral tests conducted after a period of chronic isolation or overcrowding (Bailoo et al., 2018; Fei et al., 2019; Sullens et al., 2021; Van de Weerd et al., 2002; van Ingelgom et al., 2024; Vöikar et al., 2005). Other authors have reported an increase in exploratory and locomotor behaviors and a reduction in anxiety-related behaviors in these same tests (Bailoo et al., 2018; Dickson & Mittleman, 2021; Fei et al., 2019; Hilakivi et al., 1989). Furthermore, high persistent levels of locomotor activity following repeated exposures to a new environment suggest that these rodents do not become accustomed to the environment or do not efficiently process perceived information. Conversely, a progressive diminution of locomotor activity, often defined as a habituation process, suggest faster adaptation and more efficient processing of environmental stimuli (Elliott & Grunberg, 2005). However, it should be noted that conflicting results have also been published with the

elevated plus-maze, suggesting an interference with isolation-induced stress and anxiety (Sparling et al., 2020; Sullens et al., 2021). In summary, social conditions and especially social isolation seems to play a key role in exploration behaviors and in the locomotor response and adaptation to novelty.

Many studies have also reported a significant relationship between the level of novelty seeking and the vulnerability to drugs of abuse (Nyssen et al., 2016). In animal models of addiction, response to novelty is often defined as an increase in locomotor activity in a new unfamiliar environment, for example in an open field (Blanchard et al., 2009; Davis et al., 2008; Dellu et al., 1996; Gong et al., 1996; Pawlak et al., 2008). Rodents exhibiting a high locomotor response in a new environment were also shown to have a higher sensitivity to the psychostimulant properties of various drugs, such as amphetamine (Hooks et al., 1992, 1994; Nowak et al., 2000), cocaine (Brabant et al., 2005; Gong et al., 1996; Kosten & Miserendino, 1998; Shimosato & Watanabe, 2003), morphine (Kalinichev et al., 2004), caffeine (Hooks et al., 1992) and ethanol (Arias et al., 2009; Garcia et al., 2017). In a recent study, we had shown that social housing conditions significantly impact ethanol-induced stimulant effects (van Ingelgom et al., 2024). The highest stimulant effects were observed in socially isolated mice and then gradually decreased as the size of the social housing group increased. Additionally, basal locomotor activity was also negatively related to the size of the social housing group.

The aim of the present study was to test whether the same social housing conditions tested in van Ingelgom et al (2024) affect anxiety-like behaviors and exploration in an elevated plus-maze, response to novelty in an unfamiliar open-field environment and habituation over repeated exposures. Additionally, the impact of social conditions on acute anxiolytic and locomotor effects of ethanol were assessed to expand the results of our earlier study. Female Swiss mice were housed in groups of different sizes (isolated mice, two mice per cage, four mice per cage and eight mice per cage) during a six-week period starting on post-natal

day 28 before being tested for their behavioral activity in both an elevated plus-maze and an open-field. We initially planned to include both males and females to address the current recommendations regarding sex as a biological variable in addiction research. However, as reported in van Ingelgom et al. (2024), the use of male Swiss mice socially housed faced significant challenges and ethical issues related to the aggressive behaviors. These aggressive behaviors can lead to severe injuries, repeatedly requiring euthanasia (see van Ingelgom et al., 2024). Previous studies had already shown that male mice housed in social groups are highly intolerant to each other, tend to fight and can get seriously hurt (Bisazza, 1981; Kappel et al., 2017; Marashi et al., 2004; Olsson & Westlund, 2007; Van Oortmerssen, 1971). Moreover, some mouse strains exhibit more aggressive tendencies, with male Swiss mice being particularly known for their strong incline towards aggressive interactions (Bisazza, 1981; Kappel et al., 2017).

2. Materials and methods

2.1. Subjects

For the whole study, 160 female Swiss mice were bred in our colony. Pups were first gathered with their mothers in groups of three litters in wide breeding cages from birth to weaning (post-natal days 0 to 21) and then housed in groups of 8 from postweaning to the beginning of adolescence (post-natal days 21 to 28) in smaller breeding cages. After this breeding period, the four weeks old female mice were randomly allocated into four groups with different housing conditions: single housed mice (G1), 2 mice per cage (G2), 4 mice per cage (G4) and 8 mice per cage (G8), each group of mice including 32 mice. Mice from G1 and G2 groups were housed in standard cages (30 x 12 x 13 cm, floor area of 360 cm²), mice from the G4 group were housed in medium cages (32.5 x 17 x 14 cm, floor area of 553 cm²) and mice from the G8 group in large cages (37.5 x 21.7 x 18 cm, floor area of 820 cm²). All cages were made of transparent polycarbonate (Tecniplast, Milano, Italy), filled with pine sawdust bedding, and arranged on shelves allowing olfactory, visual, and acoustic interactions. The animal room was maintained on a 12-hour light/dark cycle (lights on at 7:00 A.M.) with low light intensity levels (50-60 lux), kept at a temperature of 19-24°C and a relative humidity at 40 to 50%. Standard diet food (Carfil Quality BVDA, Oud-Turnhout, Belgium) and tap water were available ad libitum except during the experimental procedures. All experimental procedures were conducted during the light phase of the cycle, between 7:00 A.M. and 1:00 P.M and according to the Belgian implementation of the animal welfare guidelines laid down by the European Union (“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”). This protocol was reviewed and approved by the Ethics and Animal Care Committee for the use of experimental animals from the University of Liège. Every effort was made to minimize the number of animals used and their suffering.

2.2. Experimental housing conditions

As described in van Ingelgom et al. (2024), the four experimental housing conditions were defined by the presence or absence of congeners in the home cage. Mice of the G1 group were single housed (isolated), whereas mice of the G2 (paired), G4 (standard group) and G8 (large group) groups were housed respectively in groups of 2, 4 or 8 animals. These housing conditions remained constant during the whole experiment from the pre-testing phase (6 weeks) to the experimental phase. Except for the number of mice per cage, all housing and cleaning conditions were identical between groups.

2.3. Drugs

In the present study, ethanol injections were 20% v/v, diluted from 99.9% ethanol in an isotonic sterile 0.9% saline solution. Ethanol and control saline solutions were injected via the intraperitoneal (i.p.) route.

2.4. Elevated plus maze (EPM)

Anxiety-related behaviors were assessed using a standard EPM paradigm (see Tambour et al., 2005). The apparatus used in this study is a maze with four arms of 30 cm in length and 5 cm in width, positioned 80 cm off the ground. The borders of the closed arms stand at a height of 15 cm, while the open arms are edged with a 2.5 cm tall border. The floor and walls of the enclosed arms are made of black hard plastic while the floor and edges of the open arms are made of gray hard plastic (Forex – Viewpoint, Lyon, France). Activity was recorded using a camera (Sony HDR-SR11E - Tilburg, The Netherlands) positioned directly above the apparatus. Recorded videos were scored on a computer by a trained observer blind to the drug treatment and the housing group. The percentage of time spent in the open arms and the number of head dips were used as conventional parameters for the assessment of anxiety-like behaviors, and the total number of entries into all arms as a measure of overall locomotor activity in the maze. The

mouse was deemed to be in an arm when its four paws were entirely positioned inside. Each session was recorded over a standard timeframe of 5 minutes. The testing environment was cleaned with a disinfectant/water solution between each subject.

2.5. Open field (OF)

Locomotor activity was recorded using a videotracking software (Viewpoint, Lyon, France). The testing environment is composed of two sets of four squared open fields (40 x 40 x 40 cm), allowing the recording of eight mice simultaneously. These sets form an 80 x 80 cm squared complex. The floor and the wall are made in black hard plastic (Forex - View Point, Lyon, France), contrasting the background of the environment with the color of the mouse. A camera (Bosch - Viewpoint, Lyon, France) is positioned directly above the open fields, such that the whole surface is covered. The videotracking software measures the horizontal travel distance (cm) of the mice. Target detection considers the mice center of gravity. The testing environment was cleaned with a disinfectant/water solution between each batch.

2.6. Experimental design and procedure

At the onset of the protocol, 160 female Swiss mice were divided into four groups of 40 animals allocated to each housing condition (Figure 20). The entire experiment spanned 54 days, including a pre-testing phase of 42 days (6 weeks), one day dedicated to the elevated plus maze (EPM) procedure (phase 1), followed by 4 consecutive days of open-field (OF) test starting one week later (phase 2). At the end of the second phase, the locomotor effect of an acute ethanol challenge was tested in the open-field test (phase 3). Throughout the 6-week pre-testing phase, mice were kept under their respective housing conditions.

The single EPM session (phase 1) was conducted on the first day of the 7th week protocol. All mice were moved to the experimental room, weighed, and injected either with sterile 0.9% saline or with 1.5 g/kg ethanol. This dose was chosen for

its consistent anxiolytic and disinhibiting effects without sedative action in Swiss mice (Tambour et al., 2005). After being injected, mice returned to their home cage for 5 min. At the beginning of the test session, mice were placed into the central platform of the EPM, at the juncture of the four arms facing an open arm, and their activity was immediately recorded for the next 5 min. Within each housing condition group, the mice injected with ethanol (ethanol groups) were then removed from the experimental protocol. The following steps of the protocol were conducted on the ethanol-naïve mice of the control groups.

The second phase of the study started one week after the EPM test. During 4 consecutive days, mice were daily moved to the experimental room, weighed, injected with sterile 0.9% saline solution and immediately placed into the open field. Their locomotor activity was recorded for 30 min to test for both the response to a novel environment on the first day and the gradual habituation to this environment on the next days.

The morning after the last OF habituation session, an ethanol test session was carried out (phase 3). All the mice were weighted and injected either with 2.5 g/kg ethanol or 0.9% saline and immediately placed into the open field. Their locomotor activity was recorded for 30 min.

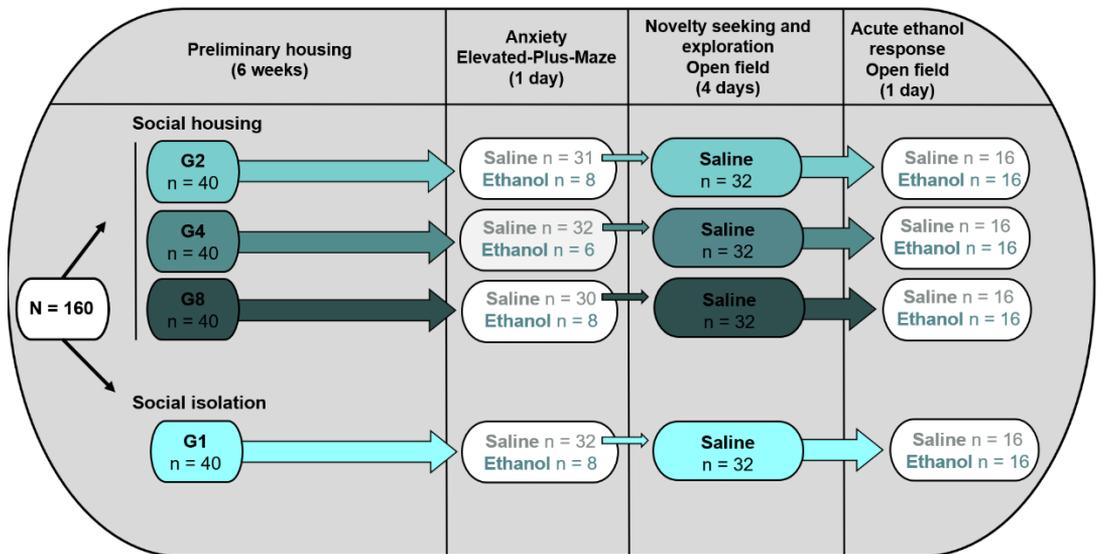


Figure 20.

Experimental design of the study. Female Swiss mice were randomly divided into four housing condition groups: single housed (G1), in pairs (G2) or in groups of 4 (G4) and 8 (G8) animals.

2.7. Attrition

During the EPM procedure, two mice from the G4 ethanol group were excluded from the study due to repeated falls from the maze. Additionally, one mouse from the G2 saline group was excluded due to an injury. Finally, EPM data from two mice of the saline G8 group were lost due to technical issues with the recording equipment. These subjects were reconducted for the following phases.

2.8. Data analysis

All behavioral data were analyzed using fixed-effect or mixed-effect analyses of variance (ANOVA) followed by Newman–Keuls post hoc tests or planned contrasts. In case of a significant Levene test, square-root transformations were applied to normalize the raw data prior to the ANOVA, more nearly meeting the assumption of homogeneity of variance. Effect sizes (standard or partial eta squared and Cohen's d) with 95% confidence intervals (CI) were calculated for the statistically significant effects. Statistical significance was set at $p < 0.05$. All analyzes and plots were performed with RStudio (ggplot2) and Statistica 13.2.

Data from the EPM procedure, i.e. percentage of time spent in the open arms and number of head dips (measures of anxiety) and total entries into each arm (measure of locomotion), were analyzed separately using two-way fixed-model ANOVAs with housing conditions and pharmacological treatments as between-subject factors. To test for between-group differences, Newman–Keuls post hoc tests were computed on each measure.

Locomotor activity on the first day of the OF procedure (response to novelty) was analyzed using a fixed-effect one way ANOVA, with housing conditions as a between-subject factor, followed by Newman–Keuls post hoc tests. Locomotor activity during the 4 repetitive sessions of the OF procedure (habituation to novelty) was analyzed using a mixed-effect two-way ANOVA with housing conditions as a between-subject factor and the 4 repetitive OF sessions as a within-subject factor. Following a significant Mauchly's test, the Greenhouse-Geisser correction was

applied to adjust for violations of the assumptions of compound symmetry and sphericity. In order to test for within-group habituation to novelty, planned contrasts were performed independently for each experimental group to compare their mean locomotor activity on the first and last OF session. Planned contrasts were also computed to compare the last OF session between the four groups, i.e. to test for differences in habituation to the environment.

Finally, the locomotor activity after ethanol injections was analyzed with a fixed-effect two-way ANOVA with housing conditions and pharmacological treatments as between-subject factors. To test for between-group differences in the response to ethanol, Newman–Keuls post hoc tests were computed.

3. Results

3.1. Anxiety-related behaviors (EPM)

The two-way ANOVAs computed on the percentages of time spent in the open arms and the number of head dipping behaviors both revealed a significant main effect of the pharmacological treatment, respectively [$F(1,145)=72.06$; $p<0.0001$; $\eta^2_p=0.33$ with 95% CI (0.21, η^2_p , 0.43)] and [$F(1,145)=56.12$; $p<0.0001$; $\eta^2_p=0.29$ with 95% CI (0.17, η^2_p , 0.39)]. The Newman–Keuls post-hoc comparisons revealed that ethanol-injected mice in all housing groups spent significantly more time in the open arms [G1: $p<0.0001$; $d=2.11$ with 95% CI (1.32, d , 2.88)], [G2: $p<0.001$; $d=0.93$ with 95% CI (0.15, d , 1.71)], [G4: $p<0.0001$; $d=3.65$ with 95% CI (2.61, d , 4.68)] and [G8: $p<0.0001$; $d=2.41$ with 95% CI (1.64, d , 3.20)], and exhibited a higher number of head dips [G1: $p<0.001$; $d=1.62$ with 95% CI (0.86, d , 2.40)], [G2: $p<0.0001$; $d=2.31$ with 95% CI (1.53, d , 3.10)], [G4: $p<0.05$; $d=1.15$ with 95% CI (0.11, d , 2.20)] and [G8: $p<0.001$; $d=1.84$ with 95% CI (1.06, d , 2.64)] than saline control mice. Interestingly, saline control mice from the G8 group spent less time in the open arms compared to saline mice from the G1 group [$p<0.05$; $d=0.80$ with 95% CI (0.32, d , 1.35)]. However, the main effect of housing conditions on the time spent in the open arms [$F(3,145)=1.95$; $p=0.13$; $\eta^2_p=0.03$] and head dipping [$F(3,145)=1.01$; $p=0.39$; $\eta^2_p=0.03$], and their interaction with the pharmacological treatment [$F(3,145)=1.45$; $p=0.25$; $\eta^2_p=0.03$], [$F(3,144)=0.81$; $p=0.49$; $\eta^2_p=0.01$] were not statistically significant. The results are shown in Figure 21A and 21B.

The two-way ANOVA computed on the total arm entries revealed a significant main effect of housing conditions [$F(3,145)=3.77$; $p<0.05$; $\eta^2_p=0.07$ with 95% CI (0.01, η^2_p , 0.15)], pharmacological treatment [$F(1,145)=85.28$; $p<0.0001$; $\eta^2_p=0.38$ with 95% CI (0.26, η^2_p , 0.47)] and a significant interaction between these two factors [$F(3,145)=4.08$; $p<0.01$; $\eta^2_p=0.08$ with 95% CI (0.01, η^2_p , 0.15)]. The Newman–Keuls post-hoc comparisons revealed that ethanol-injected mice exhibited higher levels of general activity, in G1 [$p<0.0001$; $d=2.09$ with 95% CI (1.32, d , 2.85)], G2

[$p < 0.0001$; $d = 1.77$ with 95% CI (0.99, d, 2.54)] and G8 [$p < 0.0001$; $d = 3.47$ with 95% CI (2.59, d, 4.26)]. The post-hoc tests also revealed that ethanol-injected mice from G1 displayed more locomotion than ethanol-injected mice from G4 [$p < 0.05$; $d = 0.49$ with 95% CI (-0.05, d, 1.53)]. Interestingly, saline control mice from G8 exhibited lower levels of locomotion compared to saline mice from G1 group [$p < 0.01$; $d = 1.01$ with 95% CI (0.50, d, 1.52)]. Figure 21C shows the total arm entries in all groups.

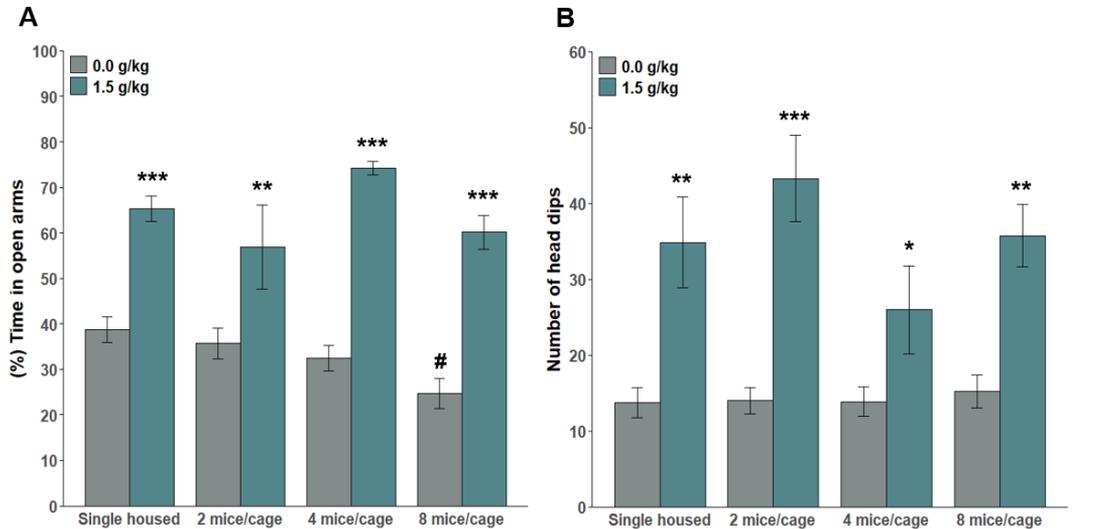


Figure 21.

Anxiety-like behaviors (A and B) and global locomotor activity (C) in the EPM test after the injection of 1.5 g/kg ethanol or 0.0 g/kg (saline) for the four groups of mice (Mean \pm SEM).

A. Mean percentage of time spent in the open arms.

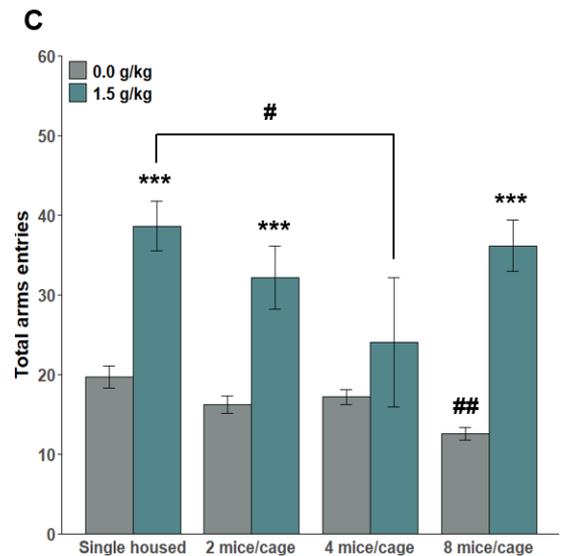
*** $p < 0.0001$ and ** $p < 0.001$: significantly different from saline-control group. # $p < 0.05$: significantly different from saline-control group G1.

B. Mean number of head dips.

*** $p < 0.0001$, ** $p < 0.001$ and * $p < 0.05$: significantly different from saline-control group.

C. Total arm entries.

*** $p < 0.0001$: significantly different from saline-control group. ## $p < 0.01$: significantly different from saline-control G1. # $p < 0.05$: G4 ethanol group is significantly different from G1 ethanol group.



3.2. Response to novelty and habituation (OF)

The one-way ANOVA performed on the locomotor activity during the 30 minutes of the first day of the OF procedure (response to novelty) displayed a significant main effect of housing conditions [$F(3,124)=3.38$; $p<0.01$; $\eta^2=0.07$ with 95% CI (0.02, η^2 , 0.16)]. As shown in Figure 22A, the Newman–Keuls post-hoc comparisons revealed higher levels of mean locomotor activity in mice housed in isolation (G1) relative to mice housed in group of eight (G8) [$p<0.01$; $d=0.70$ with 95% CI (0.21, d , 1.19)].

The mixed-design 4 x 4 ANOVA computed on the locomotor activity during the four repetitive sessions of OF (habituation) revealed a significant main effect of housing conditions [$F(3,124)=7.04$; $p<0.001$; $\eta^2=0.14$ with 95% CI (0.04, η^2 , 0.24)] and OF sessions [$F(3,372)=9.83$; $p<0.0001$; $\eta^2=0.07$ with 95% CI (0.03, η^2 , 0.12)], remaining significant at $p<0.0001$ after G-G. adjustment, whereas the interaction between these two factors was not statistically significant [$F(9,372)=0.92$; $p=0.507$; $\eta^2=0.03$]. The planned contrasts showed significant differences between the last and the first OF session only in mice from the G8 group [$F(1,124)=8.76$; $p<0.01$; $d=0.62$ with 95% CI (0.19, d , 1.04)]. This decrease in locomotor activity throughout the sessions indicates a significative habituation to the environment. The results are shown in Figure 22B. The planned contrasts performed on the locomotor activity during the last OF session also revealed that mice from G1 [$F(1,124)=19.13$; $p<0.0001$; $d=0.96$ with 95% CI (0.47, d , 1.46)], G2 [$F(1,124)=5.76$; $p=0.018$; $d=0.73$ with 95% CI (0.24, d , 1.21)] and G4 [$F(1,124)=5.51$; $p=0.020$; $d=0.71$ with 95% CI (0.22, d , 1.19)] groups had higher levels of locomotor activity than the G8 group. The results are shown in Figure 22C.

Results

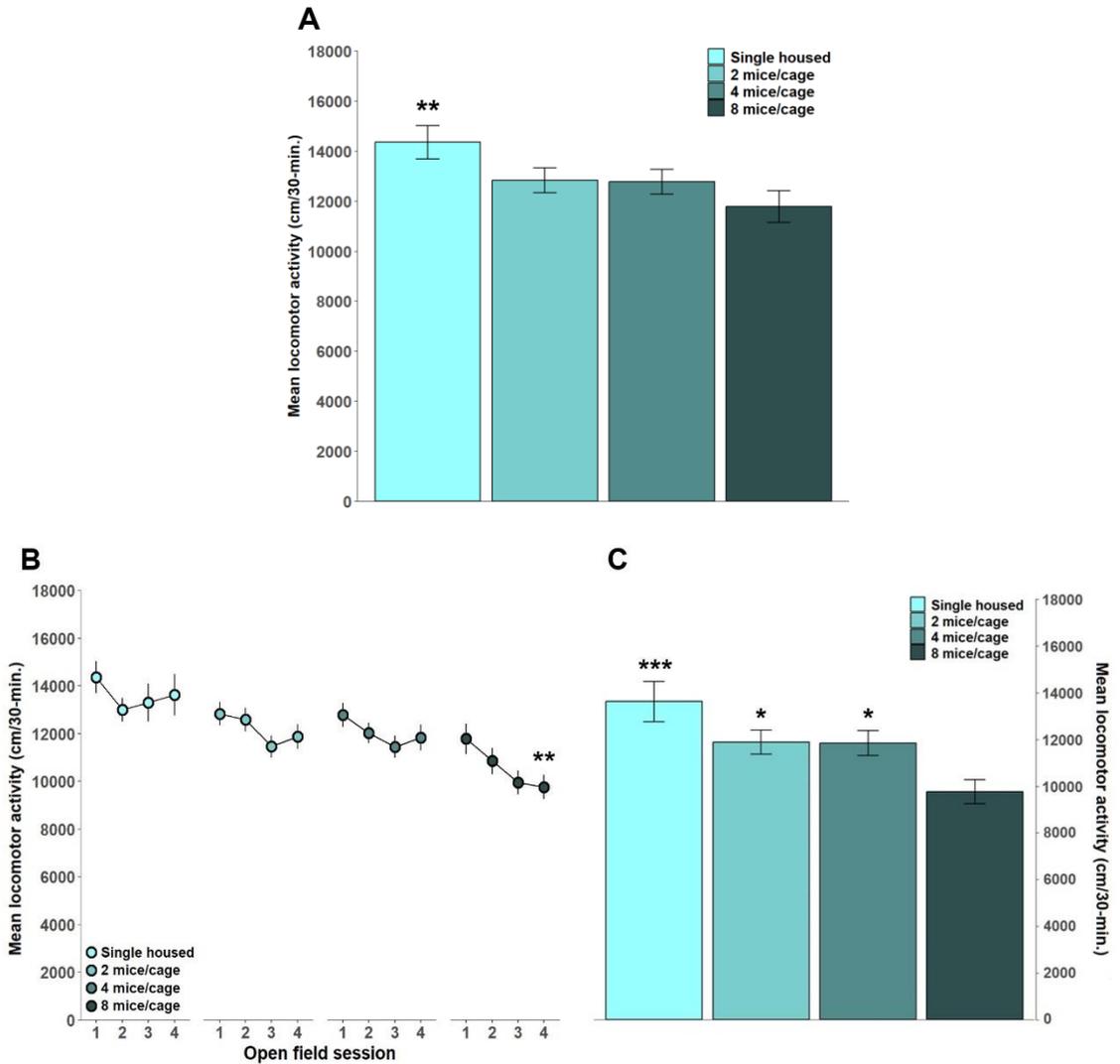


Figure 22.

Locomotor activity in the OF test after repetitive saline injections for the four groups of mice (Mean \pm SEM).

A. First session of the OF procedure (novelty response). ** $p < 0.01$: significantly different from G8 group.

B. Day 1 to 4 (habituation). ** $p < 0.01$: significantly different from the first OF session.

C. Day 4 (last habituation session). *** $p < 0.0001$ and * $p < 0.05$: significantly different from G8 group.

3.3. Acute locomotor effects of ethanol (OF)

The two-way ANOVA computed on the locomotor activity during the 30 minutes after the ethanol injection revealed a significant main effect of housing conditions [$F(3,120)=3.61$; $p<0.01$; $\eta^2=0.09$ with 95% CI (0.01, η^2 , 0.17)], pharmacological treatment [$F(1,120)=10.95$; $p<0.001$; $\eta^2=0.08$ with 95% CI (0.02, η^2 , 0.19)] and a significant interaction between these two factors [$F(3,120)=2.92$; $p<0.05$; $\eta^2=0.06$ with 95% CI (0, η^2 , 0.15)]. The Newman–Keuls post-hoc comparisons showed that ethanol-injected mice in the G4 group had reduced locomotor activity relative to their saline counterparts [$p<0.01$; $d=1.52$ with 95% CI (1.03, d , 2.01)]. These results show statistically significant ethanol-induced sedative effects in G4 mice. Post-hoc tests also revealed that ethanol-injected mice from the G1 group exhibited significantly more locomotor activity than ethanol-injected mice from the G4 [$p<0.01$; $d=1.03$ with 95% CI (0.53, d , 1.52)] and G8 groups [$p=0.046$; $d=0.80$ with 95% CI (0.32, d , 1.29)]. The results are shown in Figure 23.

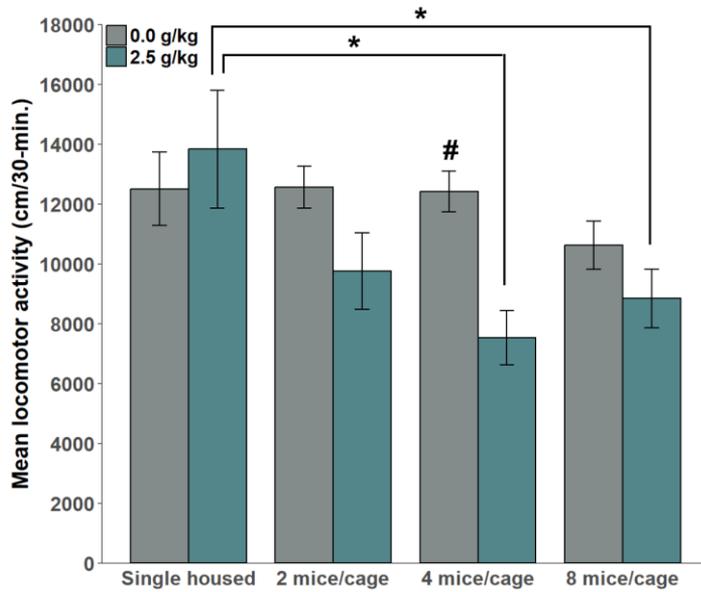


Figure 23.

Locomotor activity in the OF test after the injection of 2.5 g/kg ethanol or 0.0 g/kg (saline) for the four groups of mice (Mean ± SEM). ** $p < 0.01$ and * $p < 0.05$: G1 ethanol group is significantly different from G4 and G8 ethanol groups. # $p < 0.01$: significantly different from its respective ethanol group

4. Discussion

The aim of the present study was to test the effects of various social housing conditions on anxiety-like behaviors and on response to novelty and its habituation in female Swiss mice. Additionally, the acute locomotor and anxiolytic effects of ethanol were assessed. The results show that some anxiety-like behaviors (percentage of time spent in the open arms of the EPM) decreased with the size of the housing group, whereas other (head dipping) were not affected. The results also show that socially isolated mice have a higher locomotor response to novelty than mice housed in groups, whether tested in the EMP or the open field. After repeated exposures to the same open field environment, socially isolated mice still showed a habituation deficit relative to mice housed in large groups. Finally, the present study confirmed that the acute locomotor effects of ethanol are affected by the social housing conditions, whereas there was no evidence for changes in the anxiolytic effects of ethanol.

As social isolation is defined as a chronic stress, leading to the isolation syndrome concept (Valzelli, 1973), isolated mice are usually expected to show more anxiety-like behaviors in the EPM than mice housed in social groups. However, previous studies provided mixed results. Some previous studies showed a reduction in anxiety-related behaviors in socially isolated mice (Bailoo et al., 2018; Dickson & Mittleman, 2021; Fei et al., 2019; Hilakivi et al., 1989). For example, Vöikar et al. (2005) found that individually housed DBA/2J and C57BL/6J male mice displayed less anxiety-like behaviors in the EPM than group-housed animals. Some other studies found no changes in anxiety-like behaviors in relation with the social housing conditions. For example, Rodgers & Cole (1993) showed that social isolation for 1 to 3 weeks increased aggression in DBA/2J male mice but did not significantly alter exploration and anxiety-related behaviors in the EPM compared to subjects housed in a social environment. Finally, a few studies reported evidence of increased anxiety-like behaviors in isolated mice (Ferrari et al., 1998). These varied results are confirmed in the present study, as isolated mice showed

an increased time spent in the open arms relative to G8 mice, whereas no difference was found for head dipping behaviors. A possible explanation to these discrepancies is that the percentage time spent in the open arms of the EPM might not be a proper measure of anxiety-like behaviors in the present conditions. In rodents, the EPM test is based on the idea of a conflict between the motivation to explore a new environment and the fear of exposure to danger, such as predators or heights. The more the level of anxiety, the less the animal is prone to explore the open arms, i.e. the most exposed part of the EPM. However, warning have been issued against the interpretation of EPM results when groups of animals differ in their level of exploratory activity (Lister, 1990). It was demonstrated that the anxiolytic effects of drugs can be confounded by changes in general activity (Dawson et al., 1995). The present results and previous studies reported significant levels of hyperactivity in mice housed in chronic isolation (Balcombe, 2006; Bailoo et al., 2018; Fei et al., 2019; Hellemans et al., 2004; Sullens et al., 2021; Van de Weerd et al., 2002; van Ingelgom et al., 2024; Vöikar et al., 2005). Therefore, the increased time spent in the open arms by isolated mice might be the expression of locomotor hyperactivity rather than reduced levels of anxiety. Two related arguments support this explanation. First, in the socially isolated mice of the present study, there is a significant correlation between the time spent in the open arms and the number of entries in the EPM ($r=0.37$). Second, when the total arm entries is used as a covariate in an analysis of covariance, the difference between isolated and G8 mice in the time spent in the open arms is no longer statistically significant ($p=0.31$).

According to previous studies, environmental enrichment plays a key role in novelty seeking and in habituation to new environments. In rats, social isolation leads to abnormally high levels of locomotor activity in a new environment, as well as an inability to show habituation to an open field over repeated exposures (Brenes et al., 2008; Fone & Porkess, 2008; Hall et al., 2000; Hellemans et al., 2004). These observations were linked to the isolation syndrome (Hatch et al.,

1965; Valzelli, 1973) and its behavioral disturbances (Balcombe, 2006; Hellemans et al., 2004). Similar results were also observed in mice (Garcia et al., 2017; Rabadán et al., 2019). In a previous study, we had shown that mice housed in groups and injected with saline had a reduced levels of activity in an open field relative to socially isolated mice (see van Ingelgom et al., 2024). These results might be interpreted as a higher response to novelty in socially isolated mice. Such observations could also be related to the concept of novelty seeking (Brabant et al., 2005; Didone, Quoilin, et al., 2016; Nyssen et al., 2016), that is, the natural tendency of rodents to actively explore unknown environments. The present results confirm this explanation as isolated mice showed significant levels of hyperactivity on the first exposure to a new environment, as well as after four repeated exposures, which might reflect a habituation deficit. Previous studies using physical enrichment did not report similar changes in the exploration of a new environment in enriched mice or rats (Geuzaine & Tirelli, 2014; Lespine & Tirelli, 2015; Melón & Boehm, 2011; Rueda et al., 2012). However, a specific study on the effect of different enriched housing conditions (Garcia et al., 2017) demonstrated that isolated rats expressed a stronger response to novelty and higher sensitization to amphetamine. According to these authors, high novelty seeking could in turn increase the vulnerability to drug-induced locomotor sensitization (Spear, 2000a, 2000b). Previous studies also reported significant positive correlations between locomotor activity in a novel environment, usually interpreted as a locomotor response to novelty, and the stimulant effects of cocaine (Kosten & Miserendino, 1998; Sell et al., 2005) and ethanol (Arias et al., 2009; Didone, Quoilin, et al., 2016; Garcia et al., 2017) when tested in the same environment. Together with the present study, these results suggest that response to novelty is especially sensitive to social enrichment and isolation. Furthermore, it point to interesting relationships between isolation and social impoverishment, novelty and sensation seeking and drug abuse that should be further studied in humans.

Finally, the present study also tested the impact of social housing conditions on ethanol-induced anxiolytic and locomotor effects. The results confirm the well-known anxiolytic effects of ethanol in the EPM (Lalonde & Strazielle, 2012; Tambour et al., 2005), as demonstrated in the present experiment both through more time spent in the open arms and more frequent head dipping behaviors. No evidence was found that social housing conditions alter these anxiolytic effects of ethanol. In contrast, the locomotor effects of ethanol were significantly affected by social housing conditions, with socially isolated mice showing stimulant effects, whereas mice housed in groups expressing sedative/hypnotic effects. These effects confirm the results of previous studies from our laboratory which demonstrated higher ethanol stimulant effects in isolated mice (van Ingelgom et al., 2024) and a lower tolerance to the sedative effects of ethanol in mice housed in large groups (van Ingelgom et al., ongoing publication). The present results are consistent with the idea that higher levels of acute ethanol stimulant effects are observed with chronic stressful housing conditions. Previous studies have observed enhanced locomotor stimulatory effects from various drugs in female rodents subjected to chronic stressors, including social isolation, overcrowding, early maternal separation, or social conflict (Araujo et al. 2005, 2006; Camarini et al. 2018; Fosnocht et al. 2019; Gamallo et al. 1986; Kawakami et al. 2007, 2016; Lynch 2006; Sinha 2008). Simultaneously, housing conditions designed to alleviate stress, such as running wheels, physical enrichment, or social housing, were effective in reducing the stimulatory effects of drugs in both male and female rodents (Araujo et al. 2005; Bahi 2017; Cosgrove et al. 2002; Darlington et al. 2016; Lespine and Tirelli 2015, 2018; Lopez and Laber 2015; Rodríguez-Ortega et al. 2018; Rueda et al. 2012; Solinas et al. 2008). Regarding the effects of social conditions in mice, Araujo et al. (2005) and Päivärinta (1990) reported results consistent with those of the present study. Both studies showed that socially isolated mice are more vulnerable to the stimulant effects of ethanol. However, in the study from Araujo et al. (2005) the relationship between the size of the housing

groups and the levels of ethanol stimulant effects followed a U shape with the highest levels of stimulant effects observed in isolated female mice and in female mice housed in groups of 15. In contrast to the present study, Araujo et al. (2015) did not adapt the sizes of the cages to the number of animals, probably leading to overcrowding, another significant source of stress, in the larger groups. Therefore, the present results are not in contradiction with those of Araujo et al. (2005) and together are consistent with the idea that stressful housing conditions, whether from social isolation or from overcrowding, increase the locomotor stimulant effects of ethanol in female mice (van Ingelgom et al., 2024).

In conclusion, the present study shows that social isolation in female Swiss mice decreases some anxiety-like behaviors in the EPM. However, these effects are probably better interpreted as resulting from a significant locomotor hyperactivity. Social housing conditions significantly altered the locomotor response to novelty with a reduced activity in a novel environment in female Swiss mice housed in groups. Furthermore, a deficit in the habituation to a new environment was observed in socially isolated mice. They showed persistent levels of hyperactivity after repeated exposure to the new environment, probably reflecting detrimental effects of social isolation on behavioral flexibility and stress resilience (Brenes et al., 2008; Fone & Porkess, 2008; Hall et al., 2000; Hellemans et al., 2004). Finally, the present study confirm that social housing conditions alter the locomotor effects of ethanol, although no evidence was found for an effect on its anxiolytic effects. More specifically, isolated mice seem to be more sensitive to the stimulant effects of ethanol (van Ingelgom et al., 2024), whereas mice housed in larger social groups seem more vulnerable to the inhibitory and sedative effects of ethanol (van Ingelgom et al., ongoing publication).

**DISCUSSION
&
CONCLUSIONS**

Chapitre 10

Conclusions et limites de notre travail

Dans cette partie conclusive, nous proposons une série de réflexions finales sur les investigations menées au fil des trois articles présentés. Chacune de ces études a fourni des informations détaillées sur des phénomènes spécifiques dont les conclusions et limites ont été examinées dans leurs rapports dédiés. Il n'est donc pas dans notre intention de revisiter en détail ces discussions préalablement menées. Néanmoins, conscients de l'importance de la cohésion et de la compréhension globale, nous offrirons un aperçu succinct des objectifs et des principaux résultats obtenus, facilitant ainsi une appréciation d'ensemble des contributions scientifiques de notre travail. Ce récapitulatif servira de prélude à l'élaboration de conclusions générales et des limites qui, de notre point de vue, s'y réfèrent, mettant en lumière les fils conducteurs et les enseignements transversaux émergeant du corpus de ces trois études, en lien avec les principes théoriques et les données de la littérature exposés précédemment. Ces réflexions s'articuleront autour de trois thématiques centrales. La première concernera l'influence de nos conditions d'hébergement social sur les différentes réponses à l'éthanol. Nous discuterons notamment de la dissociation entre la sensibilité et la sensibilisation, des voies différentielles de l'acquisition et de l'expression de la sensibilisation acquise. Nous discuterons également de quelques limites du phénomène de sensibilisation dans les études précliniques de l'addiction. Dans cette même thématique, la tolérance chronique sera mise en lien avec la vulnérabilité au développement de troubles chroniques liés aux effets renforçants de l'éthanol. Ensuite, nous proposerons une discussion traitant de l'influence

conjointe de l'hébergement social et d'une dose unique d'éthanol sur le stress chronique et les comportements liés à l'anxiété. Nous finaliserons cette première thématique en proposant des éléments de réponse sur l'influence de ces mêmes conditions sociales sur les comportements exploratoires, l'hyperactivité locomotrice et la réponse à la nouveauté. La seconde thématique abordera l'enrichissement en tant que potentiel inducteur de variabilité dans les études précliniques. Ce sujet sera mis en relation avec les résultats obtenus dans nos trois études. Enfin, la troisième et dernière thématique conclura ce travail en proposant une brève discussion à propos de la comparaison des sexes dans les études précliniques et sur l'utilisation spécifique de souris femelles dans nos trois expériences.

1. Résumé succinct des résultats

Article 1: *“Effects of social housing conditions on ethanol-induced behavioral sensitization in Swiss mice”*

Objectifs

L'objectif de cette première étude était d'explorer l'effet potentiellement préventif de différentes conditions sociales d'hébergement, à travers la variation de la taille des groupes (isolement, 2, 4 ou 8 individus par cage), sur la sensibilisation locomotrice induite par l'exposition chronique d'éthanol chez la souris Swiss femelle. Plus spécifiquement :

1. Lors de la première session de sensibilisation, nous cherchions à analyser la réponse aiguë induite par une première injection de 2,5 g/kg d'éthanol. Nous visions à déterminer si la condition d'isolement social, qui entraîne généralement de nombreux effets comportementaux négatifs, potentialise la réponse locomotrice aiguë de l'éthanol par rapport aux autres conditions sociales d'hébergement, en particulier les groupes G4 et G8.
2. Nous cherchions également à déterminer si l'isolement social amplifie de manière significative l'acquisition de la sensibilisation locomotrice. De plus, nous visions à déterminer si l'hébergement social, plus particulièrement le groupe G4 et G8, prévient de manière significative son développement ou bloque l'expression de cette sensibilisation acquise.

Résultats et conclusions

Les résultats de la première étude nous permettent d'énoncer les conclusions suivantes : les différentes conditions d'hébergement social influent significativement sur les effets stimulants aigus et la réponse sensibilisée à la fin d'une procédure classique de sensibilisation à l'éthanol. Plus précisément :

1. Les effets stimulants aigus de l'éthanol les plus élevés sont observés chez les souris hébergées en isolement social et par paires. Les individus hébergés en

groupe social large (G8) manifestent une réponse locomotrice aiguë nettement moins forte par rapport à tous les autres groupes (cf. Figure 11B).

2. Malgré l'efficacité de l'enrichissement environnemental dans la régulation de certains comportements toxicomanogènes, tous les groupes d'hébergement développent et expriment tout de même une sensibilisation significative à l'éthanol (cf. Figures 12 et 13). Cependant, les effets stimulants sensibilisés obtenus à l'issue de la procédure sont proportionnels à la taille des groupes. En d'autres mots, bien que le taux de sensibilisation soit similaire entre les différents groupes d'hébergement, les niveaux ultimes des effets stimulants sensibilisés induits par l'éthanol après la 8^{ème} injection sont significativement réduits chez les souris hébergées en groupes de huit individus.
3. À l'instar de la première session de sensibilisation (cf. Figure 11B), il convient également de noter que les individus du groupe salin recevant leur première injection d'éthanol lors du test d'expression (cf. Figure 13) présentent des niveaux significativement réduits d'effets stimulants aigus induits par l'éthanol dès lors qu'ils sont hébergés en groupes de huit.
4. Les souris hébergées en groupes de huit montrent également des niveaux réduits d'activité locomotrice lors de la session d'habituation à l'environnement de test (cf. Figure 11A). Ces résultats pourraient suggérer une réponse différentielle à la nouveauté en fonction des expériences sociales vécues préalablement (cf. article 3).
5. Malgré l'interruption du protocole débuté avec une cohorte de souris mâles, des résultats très similaires à ceux obtenus dans l'échantillon des femelles sont également observés.

Article 2: *“Effects of social housing conditions on tolerance to the sedative and hypothermic effects of ethanol in female Swiss mice”*

Objectifs

L'objectif de cette deuxième étude était d'explorer l'effet des mêmes conditions sociales d'hébergement (isolement, 2, 4 ou 8 individus par cage) sur la tolérance aux effets sédatifs et hypothermiques induite par l'exposition chronique à l'éthanol chez la souris Swiss femelle. Cette étude s'inscrit dans la continuité logique du premier rapport. Nous cherchions ici à analyser si les résultats obtenus lors de l'établissement de la tolérance comportementale induite par l'exposition chronique à l'éthanol varient dans le même sens que ceux obtenus lors de la procédure de sensibilisation (article 1). Ainsi, nous avons évalué :

1. L'influence conjointe des différentes conditions d'hébergement social et de l'exposition répétée à une forte dose d'éthanol (4 g/kg) pendant 10 jours consécutifs sur le développement d'une tolérance aux effets sédatifs et hypothermiques induits par l'alcool.
2. Si les résultats obtenus dans le développement de la tolérance peuvent refléter ceux obtenus dans la sensibilisation. Autrement dit, nous avons évalué si les groupes d'hébergement qui développent et expriment la sensibilisation la plus marquée à une dose modérée d'éthanol présentent également une tolérance plus forte à une dose élevée d'éthanol, et inversement.

Résultats et conclusions

Les données issues de ce rapport nous permettent de conclure que la vitesse de développement de la tolérance à l'éthanol ne diffère pas significativement entre les groupes. Le développement de la tolérance au cours des expositions répétées, c'est-à-dire la réduction progressive de la durée de perte du réflexe de retournement et des effets hypothermiques, met en évidence la réponse neurocomportementale adaptative à une exposition répétée à l'alcool.

En outre :

1. Nous observons une sensibilité uniforme aux effets sédatifs et hypothermiques entre les quatre groupes d'hébergement lors de la première exposition à l'éthanol (cf. Figures 18A et 19A).
2. Toutefois, des différences significatives dans les niveaux de tolérance atteints lors de la dernière exposition entre les groupes d'hébergement sont observées. Ainsi, les réponses sédatives et hypothermiques les plus faibles, autrement dit la plus forte tolérance acquise, sont observées chez les souris isolées, puis augmentent progressivement à mesure que la taille du groupe augmente. En d'autres termes, bien que le développement de la tolérance soit similaire entre les différents groupes d'hébergement, les niveaux ultimes des effets hypothermiques et sédatifs induits par l'éthanol après la 10^{ème} injection sont significativement plus élevés chez les souris hébergées en groupes de huit (cf. Figures 18C et 19C).
3. Ces observations convergent avec les résultats du premier rapport, dans le sens où les conditions sociales, en particulier les tailles des groupes sociaux d'hébergement, modulent également les réponses comportementales aux effets sensibilisés de l'éthanol. De telles observations soulignent le rôle essentiel des facteurs environnementaux et sociaux dans l'étude de l'addiction et du développement de la tolérance, indiquant les propriétés protectrices de l'enrichissement comme stratégie pour prévenir certains processus liés à l'addiction.

Article 3: “*Effects of social housing conditions on anxiety-like behaviors, response to novelty and habituation in female Swiss mice*”

Objectifs

En tenant compte des résultats obtenus lors de la première exposition au contexte de test (habituation) dans la première étude, de même que dans certaines études pilotes, ce dernier rapport visait à tester différents effets comportementaux complémentaires des conditions sociales d'hébergement chez la souris Swiss femelle. Ont dès lors été testés : les comportements liés à l'anxiété, la réponse à la nouveauté, ainsi que les effets locomoteurs et anxiolytiques induits par l'éthanol. En outre, nous cherchions à donner un sens à l'hyperactivité locomotrice persistante fréquemment rencontrée chez les souris isolées socialement (déficit d'habituation). À l'instar des deux premières études, les mêmes conditions sociales d'hébergement (isolement, 2, 4 ou 8 individus par cage) étaient ici testées dans le but de comprendre, notamment, les altérations comportementales induites par l'isolement social. Plus précisément :

1. Le premier objectif de cette étude était de déterminer l'influence des différentes conditions d'hébergement sur les comportements de type anxieux mesurés dans un *EPM*.
2. En outre, nous cherchions également à déterminer comment ces différentes conditions sociales peuvent altérer la réponse à la nouveauté et les comportements exploratoires lors de la première exposition à l'*open-field*.
3. En fonction des quatre hébergements et de l'exposition répétée à l'*open-field*, nous cherchions à sonder la présence ou l'absence d'une adaptation progressive (habituation) face à cet environnement initialement nouveau.
4. Enfin, cette étude était destinée à tester l'impact des conditions sociales d'hébergement sur les effets anxiolytiques de l'éthanol mesurés dans l'*EPM* et sur ses effets stimulants locomoteurs mesurés dans un *open-field*.

Résultats et conclusions

Les résultats de la dernière étude nous permettent d'énoncer les conclusions suivantes :

1. Les souris socialement isolées passent significativement plus de temps dans les bras ouverts de l'*EPM* que les souris du groupe G8 (cf. Figure 21A). Nous pensons que cette mesure, apparemment liée à un effet anxiolytique, est leurrée par une hyperactivité marquée. La différence entre ces deux groupes d'hébergement disparaît lorsque les analyses statistiques tiennent compte du niveau global d'activité locomotrice des individus. En revanche, aucune différence significative n'est observée dans les comportements de *head dipping* entre les groupes d'hébergement. Nous concluons donc que certains effets qui semblent apparemment liés à une réduction de l'anxiété chez les souris isolées pourraient simplement être le résultat de leur hyperactivité locomotrice (cf. Figure 21C).
2. Lors de la première exposition à l'*open field*, la réponse locomotrice à la nouveauté est plus forte chez les souris isolées (cf. Figure 22A). De telles observations pourraient être liées au concept de recherche de nouveauté, c'est-à-dire à la tendance naturelle des rongeurs à explorer activement des environnements inconnus. Interprétés de cette manière, les résultats obtenus montreraient des niveaux réduits de réponse à la nouveauté, se traduisant par une diminution de l'activité locomotrice, chez les individus hébergés en plus grands groupes. De telles diminutions dans la réponse à la nouveauté pourraient être liées à des niveaux réduits de recherche de sensations chez les individus hébergés dans de « meilleures conditions sociales » et avec des niveaux optimaux de contacts sociaux.
3. Seules les souris hébergées en grand groupe social (G8) démontrent une adaptation significative à l'*open field*, tandis que les souris isolées socialement maintiennent des niveaux élevés d'activité locomotrice, même après des expositions répétées au contexte de test. Contrairement aux deux autres

groupes sociaux (G2 et G4) qui présentent une tendance à la réduction de l'activité locomotrice, les souris isolées manifestent une augmentation de l'activité globale, suggérant ainsi un déficit d'habituation à l'environnement initialement nouveau (cf. Figures 22B et 22C).

4. Une faible dose aiguë d'éthanol réduit de manière cohérente les comportements liés à l'anxiété dans les quatre conditions d'hébergement social, sans preuves statistiquement significatives que ces mêmes conditions d'hébergement altèrent les comportements mesurés. Plus spécifiquement, tous les individus exposés à une dose d'éthanol de 1,5 g/kg présentent des comportements exploratoires et de prise de risque amplifiés, tels que qu'un nombre plus important de *head dips* et un temps accru passé dans les bras ouverts du labyrinthe, tous deux indicatifs de la réduction du conflit entre l'exploration et l'anxiété/le stress induit par l'éthanol (cf. Figures 21A et 21B).
5. La réponse à l'éthanol, en particulier l'effet sédatif observé dans le groupe G4 et les réponses stimulantes différentielles selon les conditions d'hébergement social, indique que l'impact comportemental d'une dose unique stimulante d'éthanol est influencé par les expériences environnementales et sociales antérieures. À l'instar des résultats de la première étude, les effets stimulants de l'éthanol les plus élevés sont également observés chez les individus hébergés en isolement social (cf. Figure 23). Ces observations sont cohérentes avec l'idée selon laquelle des niveaux plus élevés d'effets stimulants induits par l'éthanol sont observés dans des conditions d'hébergement restrictives et inductrices de stress chronique.

2. Influences de l'environnement social sur la réponse à l'éthanol

Les effets potentiellement préventifs de l'enrichissement de l'environnement social sur la sensibilisation comportementale induite par l'alcool restent largement méconnus et sous-étudiés à ce jour. En effet, les recherches menées sur la sensibilisation locomotrice ont fourni des résultats divergents, mettant en évidence la complexité des interactions entre l'environnement, le comportement, les processus neurobiologiques et les effets addictogènes de l'alcool. Bien que nous assistions à des progrès significatifs dans la compréhension de l'impact de la manipulation de l'environnement d'hébergement sur les comportements addictogènes, certaines lacunes persistent, en particulier dans la compréhension des mécanismes moléculaires et neurobiologiques sous-jacents (voir Malone et al., 2022). Le modeste corpus d'études disponible dans la littérature suggère que l'enrichissement environnemental chez la souris pourrait jouer un rôle déterminant dans la réduction de l'hypermotivité comportementale induite par une dose unique stimulante d'alcool (Päivärinta, 1990) et dans la prévention, la réduction, voire le blocage de la sensibilisation locomotrice induite par une exposition chronique à l'alcool (Araujo et al., 2005; Rueda et al., 2012). Par ailleurs, aucune recherche à ce jour n'a exploré les mécanismes de tolérance comportementale qui pourraient être altérés par ces mêmes procédures d'enrichissement, du moins à notre connaissance. Pour rappel, les objectifs de ce travail visaient principalement à poursuivre les recherches dans ce domaine afin de mieux comprendre la contribution de l'environnement social d'ordre préventif, dans sa modalité appauvrie ou enrichie, dans le développement et la modulation des comportements addictogènes induits par des administrations chroniques d'alcool. Ainsi, dans la continuité de cette démarche, nous allons ici tenter de consolider nos différents résultats afin de tirer des conclusions générales sur ces processus.

2.1. Sensibilisation, sensibilité et limites du phénomène dans les études précliniques

Selon les théories contemporaines, la sensibilisation locomotrice à l'alcool se réfère à un phénomène d'accroissement progressif des comportements locomoteurs induit par l'exposition chronique à une même dose stimulante d'éthanol (Didone et al., 2008, 2019; Robinson & Berridge, 1993, 2001, 2008; Vanderschuren & Pierce, 2010). Dans les études murines, la sensibilisation locomotrice induite par l'alcool est considérée comme homologue à l'intensification du *craving* après des épisodes répétés de consommation. Ce paradigme est largement utilisé pour modéliser divers aspects de l'addiction chez la souris de laboratoire. Dans la majorité des études précliniques, la sensibilisation à l'éthanol est très souvent implicitement interprétée comme un processus entièrement linéaire. Toutefois, certains résultats prouvent que cette interprétation n'est pas systématiquement valide (Didone et al., 2019). En réalité, le développement de la sensibilisation à l'éthanol ne suit pas invariablement une progression linéaire en fonction d'un décours temporel, c'est-à-dire à mesure des expositions répétées d'alcool. Malheureusement, la dimension temporelle de l'acquisition de la sensibilisation à l'éthanol est rarement discutée dans l'interprétation des résultats des études investiguant ce phénomène. En outre, il n'est pas rare que seule la session finale d'expression de la sensibilisation soit présentée, masquant ainsi l'évolution de la réponse avec les administrations répétées d'alcool. La seule exception concerne la différenciation entre la « sensibilisation à dose unique » ou « sensibilisation aiguë » faisant suite à une seule exposition et la « sensibilisation chronique », la plus fréquemment répertoriée, après plusieurs injections d'éthanol (Kayir & Uzbay, 2002; Procópio-Souza et al., 2011; Tirelli et al., 2003). En raison du caractère « non linéaire » du phénomène, il est très fréquent d'observer des niveaux d'activité locomotrice relativement élevés dès la première exposition à l'alcool (Masur et al., 1986). Chez les rongeurs qualifiés de « sensibles » aux effets locomoteurs, comme la souris de souche DBA/2J, l'accroissement subséquent de la réponse locomotrice est parfois inexistant. On parlera généralement d'un effet

plafond (« *ceiling effect* »), attribuant à ces mêmes individus l'étiquette de « non sensibilisés » ou de « résistants » après quelques injections d'éthanol. Comme le montre une étude menée dans notre laboratoire (Didone et al., 2019), la sensibilisation à l'éthanol peut continuer tout de même à se développer au fil du temps chez les sujets exprimant des effets stimulants initiaux élevés, de sorte que le terme de « sensibilisation retardée » caractériserait mieux les rongeurs dits « non sensibilisés ». Ainsi, cette étude démontre clairement que les souris classées comme « résistantes à la sensibilisation » développent des niveaux très significatifs d'effets locomoteurs sensibilisés lorsqu'elles sont quotidiennement injectées d'éthanol pendant 45 jours. Avant la publication de cette étude, nous ne savions réellement pas comment la sensibilisation évoluait lorsque l'exposition à l'éthanol dépassait trois semaines chez la souris. En effet, dans la grande majorité des études disponibles dans la littérature, le nombre des expositions à l'éthanol durant la phase d'acquisition n'excède jamais les 21 jours (Camarini et al., 2010, 2011; Coune et al., 2017; Didone et al., 2008; Legastelois et al., 2013, 2014; Quadros, Hipólido, et al., 2002; Quadros, Nobrega, et al., 2002, Rueda et al., 2012). Trois dimensions comportementales sont clairement apparentes et doivent être prises en compte pour évaluer le phénomène de sensibilisation : la réponse induite par la première injection d'éthanol (sensibilité initiale), les niveaux d'effets stimulants observés lors des différentes expositions et enfin le taux de changement locomoteur entre la première et la dernière injection d'éthanol (ce qui caractérise souvent la sensibilisation). La première dimension détermine la sensibilité initiale des rongeurs aux effets stimulants induits par l'éthanol. Cette sensibilité constitue un point très important, celle-ci peut en outre renseigner sur des différences significatives initiales entre différents groupes d'individus. Cette observation mène à des conséquences importantes, car de telles différences basales pourraient expliquer, du moins en partie, les différences de réponses sensibilisées qui se produiront ultérieurement dans le processus de sensibilisation. Par exemple, un taux élevé de changement de réponse locomotrice entre la première et la dernière injection (troisième dimension) est souvent assez logiquement difficile à atteindre

lorsque le niveau initial de stimulation (première dimension) est déjà très élevé. Ainsi, les souris dites « répondantes » à la sensibilisation semblent exprimer des niveaux initiaux moins élevés de réponse à l'éthanol que les souris résistantes. Les souris résistantes maintiennent, voire amplifient cette différence pour maintenir des niveaux locomoteurs plus élevés lors des différentes mesures tout au long des expositions. Malgré des courbes de sensibilisation différentes, ces deux groupes de rongeurs ne maintiennent en réalité que de modestes écarts de réponse stimulante à l'éthanol et ceux-ci ont tendance à s'atténuer suivant les injections répétées (voir Didone et al., 2019). En somme, nous pourrions conclure qu'avec un nombre suffisant d'expositions à l'éthanol, tous les individus finiront par développer une sensibilisation robuste aux effets locomoteurs, sous réserve du contrôle de certains paramètres comme la souche utilisée, la prédisposition, les doses administrées ou les caractéristiques de l'injection (cf. section 3 du chapitre 3). Ainsi, le développement d'une sensibilisation significative dépendrait du nombre d'injections et ne serait pas lié à un trait stable. Nous pensons qu'un tel schéma de réponses tiendrait un impact significatif sur l'interprétation des résultats publiés dans la littérature. Par exemple, des souris précédemment classées comme « sensibilisées » pourraient être réévaluées comme « rapidement sensibilisées », voire « temporairement sensibilisées », tandis que des individus initialement considérés comme « résistants » pourraient être décrits comme manifestant une « sensibilisation retardée » ou « différée » (Didone et al., 2019). Dans cette perspective, il serait alors probablement plus approprié de classer les rongeurs en fonction de la vitesse à laquelle ceux-ci développent la sensibilisation. Cependant, nous ignorons encore aujourd'hui si la vitesse de développement de ce processus est associée à d'autres composantes de l'addiction.

Quant à nos recherches, le phénomène de sensibilité initiale accrue est plus rarement observé chez la souris de souche Swiss. Premièrement, il nous semble cohérent de renseigner que la dose d'éthanol utilisée dans nos études n'est pas forcément celle fréquemment documentée dans la littérature. Ainsi, une dose de 2,5 g/kg est exclusivement utilisée dans notre laboratoire chez la souche Swiss

(Didone et al., 2008, 2019; Didone, Masson, et al., 2016; Didone, Quoilin, et al., 2016; Quoilin et al., 2012b; van Ingelgom et al., 2024), alors qu'elle se trouve être de 1,8 à 2,0 g/kg, voire 2,2 g/kg dans d'autres études (Abrahamo et al., 2013; Araujo et al., 2005; Camarini et al., 2011; Coelho et al., 2013; Faria et al., 2008; Ferreira et al., 2021; Macedo et al., 2013). Par conséquent, lors des deux ou trois premières sessions d'exposition à une dose d'éthanol de 2,5 g/kg chez une souris Swiss adulte, certains individus peuvent présenter des effets stimulants ou tranquillisants/sédatifs, selon leur sensibilité initiale. Ainsi, dans nos études, la réponse stimulante initiale est très souvent masquée par une réaction sédative lors des trois dernières minutes de test d'une session expérimentale de 5 minutes (Quoilin et al., 2010, 2012b). Les effets sédatifs diminuent progressivement à mesure des expositions répétées à cette même dose, laissant ainsi se développer le plein potentiel stimulant locomoteur de l'éthanol. Cet effet biphasique a été clairement observé dans notre premier rapport, notamment dans le groupe le plus social (G8), de même que dans tous les groupes issus de l'étude de notre cohorte de souris Swiss mâles (cf. Supplementary information, Figure 15), malheureusement abandonnée à cause des hauts niveaux d'agressivité observés chez les individus hébergés en groupe social (cf. section 4). Dans cette première étude, la sensibilité initiale aux effets stimulants de l'éthanol est clairement plus faible chez les souris femelles issues du groupe d'hébergement le plus vaste (G8), et ce par rapport à tous les autres groupes d'hébergement. Dans ce groupe G8, nos résultats montrent une légère sédation, bien que non statistiquement significative. Dans le test d'expression de la sensibilisation, la sensibilité initiale aux effets locomoteurs de l'éthanol est à nouveau significativement plus faible chez les sujets du groupe G8. Ainsi, dans nos comparaisons multiples intergroupes, les individus hébergés en larges groupes sociaux (G8) et chroniquement injectés au soluté salin qui reçoivent une première injection de 2,5 g/kg d'éthanol expriment nettement moins d'effets stimulants locomoteurs par rapport à tous les autres groupes d'hébergement. Ces observations attestent d'une sensibilité réduite à l'hyperréactivité comportementale après une première

exposition à l'éthanol chez les individus hébergés dans les conditions les plus « sociales » (Päivärinta, 1990). En outre, la sensibilité initiale aux effets stimulants de l'éthanol tend à augmenter à mesure que la taille du groupe social diminue, comme en attestent les différentes tailles d'effets calculées lors des comparaisons à posteriori effectuées. Cet « effet escalier » fût déjà observé dans une série d'études préliminaires investiguant la même thématique (Didone, van Ingelgom, Quertemont et Tirelli, résultats non publiés). Par ailleurs, nous obtenons des résultats relativement similaires dans notre troisième rapport (article 3) lors du test de réponse aiguë à l'éthanol. De la sorte, en relation avec les données obtenues, il nous paraît cohérent d'énoncer le constat suivant : plus la taille du groupe social augmente, moins les individus seraient vulnérables aux effets stimulants aigus induits par l'éthanol. Dans le cas du groupe G8, il nous semble également important de noter que cet hébergement s'apparenterait davantage à une condition sociale enrichie qu'à une condition liée à l'expérience de surpopulation. Dans le cas contraire, les effets comportementaux attendus seraient alors plus proches de ceux obtenus dans la condition d'isolement chronique, c'est-à-dire une sensibilité accrue aux effets stimulants induits par une première exposition à l'éthanol (voir Araujo et al., 2005).

Dans les différents groupes d'hébergement de nos études, nous observons une nette sensibilisation « chronique », caractérisant parfaitement l'induction graduelle du processus au fur et à mesure des administrations répétées d'alcool. Indépendamment des différences initiales de réponses aux effets stimulants de l'éthanol, le processus de sensibilisation lui-même ne présente pas de différence significative entre les groupes d'hébergement. Lors de la dernière session, les différences initiales sont conservées. Ainsi, les effets stimulants induits par l'éthanol après la 8^{ème} injection restent nettement réduits chez les souris hébergées en groupes de huit individus par cage. Par conséquent, il est clair que ces sujets doivent être considérés comme « répondants » à la sensibilisation, même si les niveaux sensibilisés atteints sont plus faibles que dans les autres groupes. Bien que huit injections aient été suffisantes pour induire ce phénomène, nous pouvons

supposer que les différences entre les groupes se seraient réduites si nous avions prolongé les expositions à l'alcool (Didone et al., 2019). Bien qu'aucune courbe de sensibilisation ne soit présentée, une nette sensibilisation fut également observée dans toutes les conditions sociales d'hébergement (isolement, contrôle et surpopulation) dans l'étude d'Araujo et al. (2005). Dans cette étude, il est autant intéressant de noter que ce sont les souris de la condition la plus peuplée qui exprimaient les effets locomoteurs sensibilisés les plus marqués. Cependant, contrairement à notre première étude, la taille des différentes cages d'hébergement dans l'étude d'Araujo et al. (2015) ne fût pas adaptée à celle du groupe, générant ainsi une densité croissante menant à la surpopulation dans le plus grand groupe. En revanche, aucun développement progressif et aucune expression de la sensibilisation ne furent observés dans l'étude de Rueda et collaborateurs (2012) dans un groupe de souris Swiss issues d'un d'hébergement enrichi. Cependant, dans cette dernière étude, les auteurs n'utilisaient pas la même modalité d'enrichissement que celle entreprise dans ce présent travail. Pour rappel, Rueda et collaborateurs (2012) n'ont proposé qu'un enrichissement de type physique comprenant divers objets et jouets, comparé à un groupe d'hébergement « standard », pour autant que nous sachions. En effet, il n'est fait aucune mention du nombre d'individus composant les différentes cages, ni de la taille d'échantillon totale. Malgré ces écueils méthodologiques et cette différence de protocole, il semble que l'enrichissement environnemental puisse ralentir, prévenir, voire bloquer le processus de sensibilisation, après 9 (van Ingelgom et al., 2024), 15 (Rueda et al., 2012) et 21 (Araujo et al., 2005) administrations continues d'alcool. De manière encore plus surprenante, l'enrichissement proposé à titre thérapeutique après l'acquisition d'une sensibilisation significative pourrait inverser cette sensibilisation acquise (Rueda et al., 2012). Il nous semble également essentiel de noter que, à l'exception de l'étude d'Araujo et al. (2005), les résultats présentés dans cette section ont été obtenus après des administrations d'alcool chez des souris jeunes adultes (environ 50 à 70 jours de vie). Le choix des souris jeunes adultes repose sur le fait que les effets précoces des substances peuvent

rendre un individu plus vulnérable aux comportements addictogènes. De plus, les effets des conditions environnementales (enrichies ou appauvries) sur les effets comportementaux et neurochimiques de l'alcool sont plus prononcés lorsqu'elles sont proposées durant la période sensible de l'adolescence (Lopez et al., 2011; Lopez & Laber, 2015; Rico-Barrio et al., 2019; Rodríguez-Ortega et al., 2018). Nous avons longuement développé ce phénomène dans les chapitres 4 et 5.

Sans ambiguïté, les résultats de notre première étude coïncident avec les théories postulant des effets bénéfiques de l'enrichissement de l'environnement sur les processus liés à l'addiction, et plus précisément les processus liés à la sensibilisation locomotrice induite par l'alcool. En dépit des contraintes éthiques que cela impliquerait, nous pensons qu'il aurait été intéressant d'étendre la manipulation des conditions sociales à un groupe hébergé dans une cage à plus forte densité. À l'instar de l'étude proposée par Araujo et collaborateurs (2005), l'expérience de surpopulation, par exemple via une cage d'hébergement composée de 12 souris ou plus et sans ajustement de l'espace disponible, aurait probablement renseigné des effets comportementaux afférents à des conditions psychosociales stressantes s'apparentant à celles rencontrées dans le groupe d'isolement. En conclusion, il nous semble impératif de poursuivre et d'intensifier les recherches dans ce domaine afin de mieux comprendre les effets conjoints de ces facteurs sur les comportements toxicomanogènes liés à l'alcool.

Pour conclure cette première section, il nous semble utile de mentionner deux critiques et limites majeures de la sensibilisation comportementale dans les études précliniques de l'addiction. Une des premières critiques, déjà énoncée dans les chapitres 2 et 3, est l'absence de démonstration d'une sensibilisation comportementale aux substances chez l'être humain (Robinson & Berridge, 1993, 2000, 2008; Vanderschuren & Pierce, 2010). Pour rappel, une explication du manque de preuves de sensibilisation résulte du fait que des raisons éthiques évidentes interdisent l'induction d'une sensibilisation chez les humains telle qu'elle est habituellement conduite chez les rongeurs. De plus, des études comparant la

réponse aux substances chez des individus ayant déjà consommé certaines drogues par rapport à ceux n'en ayant jamais fait l'usage sont rares, tout comme peu d'études ont évalué le changement progressif des effets des drogues lors des premières expositions (Vanderschuren & Pierce, 2010). Ainsi, la majorité des recherches dans ce domaine se concentrent presque exclusivement sur l'utilisation des modèles animaux via la mesure indirecte de l'hyperréactivité locomotrice. Cette tendance est particulièrement marquée lorsqu'il s'agit d'évaluer les effets de l'alcool, car mesurer directement ses effets stimulants chez l'humain représente un défi assez considérable. Par conséquent, l'applicabilité des conclusions tirées dans le corpus des études animales pourrait être limitée, voire marginale, dans le contexte de la compréhension de l'addiction (Robinson et Berridge, 2008). Toutefois, il est important de souligner que l'argument de l'absence de sensibilisation comportementale chez l'homme perd progressivement de sa pertinence, en grande partie grâce aux avancées dans le domaine des techniques de neuroimagerie ou encore de réalité virtuelle dans le cadre de la mesure du *craving* (Heck et al., 2024; Kang et al., 2022; Papachristou et al., 2012). Ces progrès technologiques ont permis le développement de protocoles de recherche plus sophistiqués, permettant une meilleure compréhension des réponses neuronales aux substances chez l'être humain. Comme brièvement discuté dans les chapitres 2 et 3, nous ne comptons qu'une poignée d'études expérimentales ayant été menées sur la sensibilisation à l'alcool chez l'homme (voir Newlin & Thomson, 1991, 1999; Schuckit, 1991). Toutefois, certaines méthodes d'imagerie cérébrale ont permis le développement de protocoles permettant de mettre en évidence une sensibilisation dopaminergique significative (Boileau et al., 2003; Boileau et al., 2006; Childress et al., 2008; Cox et al., 2009; Leyton, 2007; Leyton & Vezina, 2007). Il nous semble évident que des investigations supplémentaires sont nécessaires pour valider de tels protocoles. Cependant, cette série d'études fournit des informations assez pertinentes sur la relation entre la sensibilité et la sensibilisation aux effets de l'alcool et la vulnérabilité à développer une consommation problématique menant à la

sensibilisation et au syndrome d'addiction (Camarini & Pautassi, 2016; Schuckit, 1991).

Deuxièmement, une certaine ambiguïté subsiste quant à la différence de vitesse d'acquisition de la sensibilisation entre l'être humain et le rongeur (Vanderschuren & Pierce, 2010). Chez l'homme, le syndrome d'addiction alcoolique se développe graduellement sur une longue période de temps, à mesure que la consommation de boissons se répète. Cependant, quelques expositions à l'éthanol suffisent généralement à induire une sensibilisation locomotrice chez le rongeur, voire une seule dans le cas d'une sensibilisation à dose unique (Kayir & Uzbay, 2002; Procópio-Souza et al., 2011; Tirelli et al., 2003). Chez l'humain, une sensibilisation provoquée par une exposition limitée à l'alcool devrait plutôt être considérée comme une étape importante dans le processus continu qui mène d'une consommation récréative au syndrome d'addiction, sans pour autant qu'un individu sensibilisé soit nécessairement qualifié d'alcoolique. En revanche, c'est la chronicité des expositions à l'alcool qui rendrait cette sensibilisation plus robuste et qui promouvrait l'individu dans le processus d'addiction. Ceci se vérifie par ailleurs avec les données de notre première étude : les individus exprimant les plus grands effets locomoteurs initiaux sont également ceux atteignant les effets sensibilisés les plus amples. Le maintien à plus long terme de cette sensibilisation acquise pourrait en outre apporter une preuve supplémentaire dans l'explication de la rechute (Robinson & Berridge, 1993, 2008). Ceci constitue d'ailleurs une autre limite de notre premier rapport, c'est-à-dire l'absence d'une période d'arrêt des administrations d'alcool suivie d'une injection ou d'une série d'injections permettant d'étudier la réinstallation de la réponse sensibilisée et sa conservation dans le temps. Entreprendre une telle expérience nous aurait peut-être permis d'établir l'influence de l'hébergement social à visée thérapeutique sur la précipitation d'une rechute induite par une nouvelle administration d'alcool.

2.2. Tolérance et vulnérabilité aux comportements toxicomanogènes

À l'instar de la sensibilisation, la tolérance chronique désigne également un phénomène évolutif. Toutefois, le phénomène de tolérance est dégressif, traduisant une diminution croissante des effets observés au fur et à mesure des administrations répétées d'alcool. Une diminution significative de la réponse biologique ou comportementale, survenant après une ou deux administrations d'alcool, est généralement qualifiée de tolérance rapide (Sharma et al., 2014). Similairement à la sensibilisation aiguë, la tolérance rapide chez le rongeur est considérée comme un indicateur clé du développement de la tolérance chronique et de la tolérance croisée à d'autres substances, suggérant ainsi une valeur prédictive potentielle pour des neuroadaptations plus larges (Lê & Kiianmaa, 1988; Rustay & Crabbe, 2004). Pour rappel, selon les critères du *DSM-V*, on considère aujourd'hui que l'existence d'une tolérance peut constituer une voie d'évolution vers une future dépendance physique à l'alcool. De nos jours, une majorité de chercheurs suppose que la tolérance peut contribuer au principe d'escalade de la consommation de substances et aux comportements à risque comme le *binge drinking* (King et al., 2002; Linsenbardt et al., 2009; Miller et al., 2007; Quoilin et al., 2013). Cependant, la dépendance physique ne contribuerait pas, ou peu, aux symptômes psychiques menant à la rechute comme nous l'avons précédemment vu dans la théorie de Robinson et Berridge (1993, 2000, 2008). Malgré le peu d'études investiguant ce phénomène chez l'être humain, on considère qu'une tolérance accrue aux effets de l'alcool est associée à un début plus rapide et une gravité plus importante du trouble lié à l'usage d'alcool (TUA). Plus spécifiquement, une sensibilité réduite ou une réponse réduite aux effets d'intoxication alcoolique peut être associée à des antécédents familiaux de TUA et à un risque accru d'entrer dans le syndrome d'addiction alcoolique (Schuckit, 1994). En outre, cette sensibilité réduite à l'alcool présente une héritabilité estimée de 40 à 60 % dans les populations humaines (Schuckit, 2018). Malheureusement, nous assistons depuis de nombreuses années à une diminution du nombre d'études précliniques tentant d'établir un lien entre le développement de la tolérance chronique et

l'addiction. Plusieurs raisons peuvent expliquer ce constat. Historiquement, de nombreuses études sur la tolérance se focalisaient sur des processus physiologiques et des mesures qui, du moins en surface, semblaient avoir peu de pertinence pour le développement de l'addiction ou du TUA, tels que l'activité locomotrice ou la température corporelle. De plus, la tolérance semble nécessaire, mais pas forcément suffisante, dans le développement de symptômes liés au TUA ayant reçu plus d'attention, tels que le sevrage, le *craving*, la rechute ou l'escalade de la consommation de substances (Elvig et al., 2021; Koob, 2013; Koob & Le Moal, 1997). À l'heure actuelle, l'hypothèse la plus plausible postule que c'est le phénomène de tolérance aux effets hédoniques (« *liking* ») qui pourrait être le plus approprié pour relier le processus de tolérance à la recherche compulsive d'alcool (Robinson & Berridge, 1993; Berridge & Robinson, 2016).

Chez le rongeur, l'intensité des effets sédatifs et hypothermiques expérimentés lors des premières expositions à l'alcool pourrait être un indicateur déterminant pour d'autres comportements addictogènes. Dans cette perspective, ces deux effets sont plutôt considérés comme aversifs, tout comme chez l'être humain. Ainsi, un individu sensible à ces effets aversifs, c'est-à-dire un individu « moins tolérant », pourrait manifester une moins forte propension à consommer de grandes quantités d'alcool. Inversement, une résistance individuelle accrue à ces propriétés, c'est-à-dire des utilisateurs ayant une plus grande propension au développement d'une tolérance envers ces effets, motiverait à consommer de plus grandes quantités de substances avant d'en ressentir les effets aversifs (Newlin, 1990). Analogiquement, la capacité individuelle de l'organisme à mettre en place rapidement une tolérance à ces deux effets particuliers pourrait constituer un facteur de vulnérabilité envers une future consommation problématique d'alcool. En outre, selon certaines études (Lessov & Phillips, 1998; Phillips et al., 1997), la tolérance chronique à l'alcool, en particulier la tolérance à ses effets sédatifs, pourrait contribuer, du moins partiellement, à expliquer l'hyperréactivité locomotrice observée lors d'administrations répétées d'éthanol. Autrement dit, une diminution progressive de l'intensité des effets sédatifs de l'éthanol après des

administrations répétées pourrait faciliter une plus grande expression de ses effets stimulants, entraînant ainsi une sensibilisation comportementale plus robuste. Dans cette optique, la sensibilisation aux effets locomoteurs de l'éthanol est parfois considérée comme étant induite en partie par le développement d'une tolérance chronique à ses effets sédatifs (Phillips et al., 1997). Bien que ces deux processus partagent des bases neurobiologiques communes, certaines études ont nettement dissocié ces deux phénomènes (voir Didone et al., 2008; Masur et al., 1986; Phillips et al., 1996; Quoilin et al., 2013; Tabakoff & Kiianmaa, 1982). Dans la présente section, nous allons tenter de répondre à ces différentes questions en lien avec l'hébergement social et, au sens large, avec les données obtenues dans la deuxième expérience.

À notre connaissance, notre deuxième étude est la première à évaluer l'influence de différentes conditions d'hébergement social sur le développement de la tolérance aux effets comportementaux de l'éthanol. Les résultats obtenus avec la tolérance aux effets sédatifs et hypothermiques sont cohérents avec les observations de notre première étude. Ainsi, les individus qui expriment les effets locomoteurs sensibilisés les plus élevés aux effets stimulants de l'alcool sont également ceux qui développent un taux de tolérance plus important (groupe isolement). À l'opposé, les individus exprimant des niveaux de sensibilisation plus faibles sont ceux qui se montrent le plus sensibles aux effets sédatifs et hypothermiques, c'est-à-dire les individus les moins tolérants (groupe G8). Dès lors que nous confrontons les résultats de la dernière session de sensibilisation et de tolérance, il est évident qu'une symétrie se dessine entre les effets stimulants sensibilisés et la tolérance aux effets sédatifs et hypothermiques (cf. Figure 24). L'utilisation de deux cohortes de souris distinctes nous empêchent toutefois de relier statistiquement ces deux phénomènes.

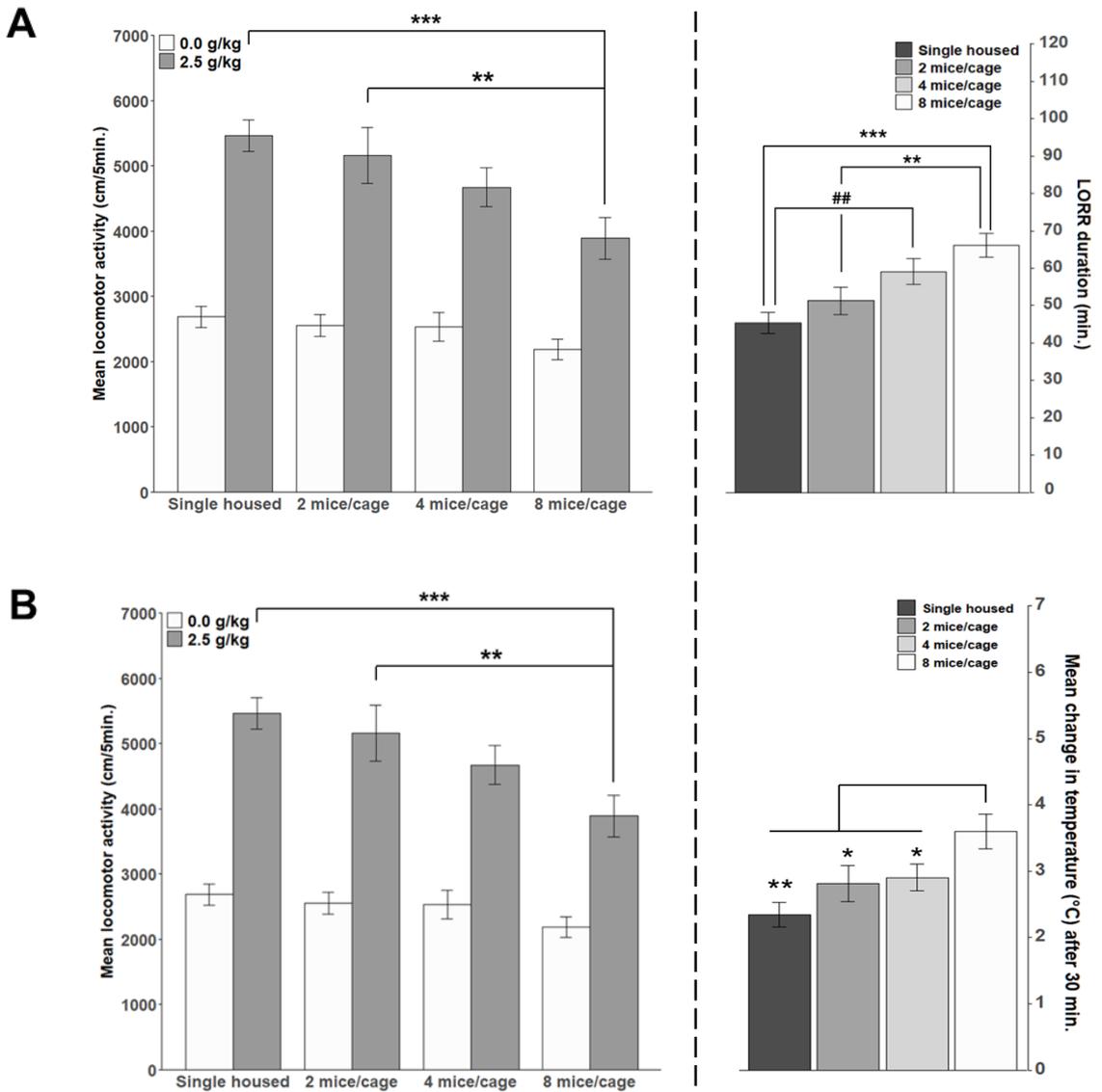


Figure 24.

Last session of sensitization (8th session) and tolerance (10th session)

A. Sensitized levels / levels of chronic tolerance (LORR)

B. Sensitized levels / levels of chronic tolerance (Hypothermia)

Dans cette perspective, il semble que les processus de sensibilisation et de tolérance, bien que deux phénomènes ayant été largement dissociés, peuvent co-exister. Par exemple, dans la théorie de l'*ISTA*, il est largement admis qu'un individu sensibilise aux effets motivationnels de l'alcool (« *wanting* »), mais développe une tolérance à ses effets hédoniques lors de sa consommation chronique (Robinsons & Berridge, 1993, 2000, 2008). En outre, bien qu'il soit théoriquement possible que la sensibilisation locomotrice à l'éthanol soit un sous-produit du développement d'une tolérance à ses effets sédatifs et/ou ataxiques (voir Phillips, 1997; Phillips et al., 1996), les résultats des études antérieures ne corroborent pas ce postulat (voir Didone et al., 2008; Masur et al., 1986; Phillips et al., 1996; Quoilin et al., 2013; Tabakoff & Kiianmaa, 1982). Ainsi, il a été démontré que les souches de souris présentant les plus hauts taux de sensibilisation à l'éthanol ne sont pas les mêmes que celles exprimant le plus de tolérance à ses effets sédatifs et/ou ataxiques (Phillips et al., 1996). Dans l'étude de Didone et collaborateurs (2008), deux observations contredisent également cette explication. Premièrement, des niveaux très élevés d'activité locomotrice sont atteints chez des souris sensibilisées avec des doses conventionnelles (200 à 300 % de leur réponse initiale à l'éthanol) qui dépassent largement ce qui pourrait être obtenu par une disparition d'effets sédatifs. Deuxièmement, une légère sensibilisation est également apparente à de faibles doses d'éthanol qui n'induisent pas d'effets sédatifs manifestes après une injection aiguë. Nous soutenons qu'il est très peu probable que la sensibilisation à l'éthanol soit entièrement due au développement de la tolérance aux effets sédatifs. Toutefois, il est également plausible que cette tolérance puisse contribuer en partie à l'expression d'effets locomoteurs sensibilisés, notamment chez des individus ayant été exposés répétitivement à des doses sédatives, par exemple 3,5 ou 4,0 g/kg (Didone et al., 2008). En ce sens, des souris n'ayant jamais expérimenté des effets stimulants locomoteurs durant les différentes expositions peuvent les exprimer avec une dose finale plus faible.

Au regard de la symétrie entre les effets stimulants et sédatifs/hypothermiques (cf. Figure 24), il nous semble également peu probable que ces résultats soient attribuables à des différences de tolérance métabolique entre les quatre conditions d'hébergement. Le postulat selon lequel la tolérance chronique ferait intervenir des processus liés au métabolisme reste largement débattu depuis les années 30 (voir Kalant, 1998). Si les changements observés lors de l'administration chronique d'éthanol étaient totalement expliqués par des changements dans sa vitesse d'élimination, alors les différents effets de l'éthanol devraient évoluer dans la même direction. Or, nous observons une augmentation des effets stimulants de l'alcool en même temps qu'une diminution des effets sédatifs et hypothermiques. Il est dès lors très peu probable que les effets des conditions d'hébergement s'expliquent par des différences de métabolisme entre les groupes. À l'heure actuelle, l'explication métabolique nous semble également peu cohérente face aux différentes théories des neuroadaptations du système nerveux central, plus robustes. Toutefois, réfuter définitivement cette explication nécessiterait de mesurer les concentrations d'alcool dans le sang (*BEC*) des individus issus des différents groupes.

Nos résultats suggèrent que l'enrichissement social pourrait exercer une action préventive sur la sensibilisation, la tolérance et, dès lors, indirectement sur la motivation à consommer de l'alcool. Globalement, ces effets pourraient s'expliquer par le phénomène de « *social buffering* », le processus par lequel la présence de congénères dans une même cage d'hébergement atténuerait la réponse au stress. La présence d'autres individus pourrait effectivement fournir une forme de tampon/support social (Hennessy et al., 2009; Hostinar et al., 2014), réduisant les niveaux de stress et influençant potentiellement les réponses neurobiologiques induites par une exposition chronique à l'éthanol. Cet effet pourrait contribuer aux différences observées entre les souris hébergées socialement et celles isolées, le co-hébergement pouvant possiblement modérer les effets de l'éthanol par la réduction collective du stress (Camarini et al., 2018; Päiväranta, 1990; van Ingelgom et al., 2024). Quant au développement significatif de la sensibilisation, le

mécanisme de conditionnement social pourrait également intervenir dans ces processus (voir Caldwell & Whiten, 2002; Choleris & Kavaliers, 1999; Robinson & Berridge, 2000). Dans ce contexte, le comportement individuel des individus peut être influencé par le comportement des congénères d'une même cage (Monfils & Agee, 2019; Nicol, 1995). Comme démontré par Araujo et al. (2006), l'hébergement des individus en groupe de traitement homogène (éthanol) facilite l'expression d'une sensibilisation locomotrice par rapport à l'hébergement en groupe hétérogène (mi-salin, mi-éthanol), fournissant une potentielle indication des influences socio-comportementales sur la réponse sensibilisée. En ce sens, dans une cage de traitement homogène, les individus moins sensibles observant et interagissant avec des congénères plus réactifs pourraient développer une hyperactivité contagieuse qui renforcerait l'effet stimulant de l'éthanol, facilitant ainsi le processus de sensibilisation. Par déduction, ce phénomène pourrait plus que probablement exister dans le cas d'une tolérance. Bien entendu, nous sommes conscients qu'assigner un traitement homogène à une même cage joue certainement en notre faveur dans l'obtention de nos résultats. Toutefois, dans un protocole classique de sensibilisation ou de tolérance, la quasi-totalité des chercheurs assigne un traitement homogène si plusieurs individus composent la cage d'hébergement (Araujo et al., 2005; Carrara-Nascimento et al., 2014; Lagastelois et al., 2014; Linsenhardt et al., 2009). Malgré que l'isolement nous contraint à assigner un traitement homogène, et par corollaire, empêche assez logiquement ce phénomène de conditionnement social, les effets sensibilisés et la tolérance atteinte sont tout de même nettement plus marqués chez les individus isolés. Ces observations ajoutent un argument supplémentaire dans l'influence du stress psychosocial sur les effets chroniques de l'alcool. Enfin, nous ne pouvons pas exclure une autre explication : la cross-sensibilisation stress-éthanol chez les souris isolées. Une influence conjointe du stress chronique, induit par l'absence de support social, de l'environnement de mesure et des injections répétées d'éthanol, pourrait effectivement faciliter une sensibilisation plus robuste. D'autres études seraient nécessaires pour tester ces hypothèses.

2.3. Stress chronique, anxiété et réponse à la nouveauté

La majorité des tests destinés à évaluer l'anxiété chez le rongeur, tels que l'*elevated plus maze (EPM)*, induisent en réalité un conflit de motivation entre l'exploration et l'évitement du danger. Dès lors, les résultats obtenus avec ces tests peuvent être expliqués soit par des différences liées à l'anxiété, soit à la motivation à explorer, voire même au niveau général d'activité. Cela explique en partie certaines discordances dans les études publiées, comme la relation entre l'anxiété et les effets renforçants de l'éthanol. Ainsi, des études ont rapporté une corrélation positive, négative, voire une absence de relations entre ces deux effets (Blatt & Takahashi, 1999; Chappell et al., 2013; Langen & Fink, 2004; Sharko et al., 2013; Spanagel et al., 1995). L'interprétation des résultats est encore plus ardue lorsqu'elle concerne l'effet de différentes conditions d'hébergement. La majorité des études publiées démontre qu'un enrichissement des conditions d'hébergement peut atténuer certains comportements reliés à l'anxiété, comme l'augmentation du temps passé dans les bras ouverts d'un *EPM* ou des comportements à risque plus fréquents (Benaroya-Milshtein et al., 2004; Friske & Gammie, 2005; Leal-Galicia et al., 2007; Roy et al., 2001). Toutefois, certains rapports indiquent également des résultats totalement opposés (Branchi et al., 2006; Branchi & Alleva, 2006; Dickson & Mittleman, 2021; Whitaker et al., 2009) avec des comportements liés à l'anxiété accrus dans des conditions enrichies. Actuellement, l'ensemble des résultats proposés se révèle incohérent, faute de pouvoir contrôler bon nombre de paramètres. Selon plusieurs études, les rongeurs peuvent être sensibles à divers facteurs contextuels, tels que la luminosité, la température, le bruit ambiant, la présence d'autres congénères, les dangers potentiels ou les paramètres spécifiques d'un test. Tous ces facteurs, sources de variabilité, sont susceptibles de compromettre la réplicabilité des études. L'interprétation des réponses observées lors des tests d'anxiété peut également être sujette à subjectivité, surtout dans le cas d'une évaluation non automatisée où ce qui est perçu comme un comportement lié à l'anxiété par un chercheur peut être interprété différemment par un autre. De plus, le fait que les conditions d'isolement

social induisent une hyperactivité et une réponse accrue à la nouveauté est aussi en mesure de compromettre l'interprétation des résultats. Enfin, tout comme chez les humains, les rongeurs présentent des différences individuelles dans leurs caractéristiques et leurs réactions au stress, ce qui peut fortement influencer la variabilité des résultats observés dans ces recherches (Hogg, 1996).

Dans notre troisième étude, nous démontrons qu'une faible dose aiguë d'éthanol réduit les comportements liés à l'anxiété. Indépendamment des conditions d'hébergement, l'éthanol augmente les comportements exploratoires et de prise de risque (Conrad & Winder, 2011; LaBuda & Hale, 2000; Verma & Jain, 2016). Ainsi, un nombre plus important de *head dips* et un temps accru passé dans les bras ouverts du labyrinthe, tous deux indicatifs de la réduction du conflit entre l'exploration et l'évitement du danger induit par l'éthanol, sont illustrés. Toutefois, nous n'avons pas observé d'impact significatif des conditions d'hébergement sur ces effets anxiolytiques. Cependant, de manière assez surprenante, les résultats observés chez les souris du groupe contrôle, traitées au soluté salin, révèlent une augmentation significative du temps passé dans les bras ouverts chez les souris isolées par rapport au groupe le plus social (G8). Dans l'interprétation la plus logique, nous pourrions ainsi conclure que l'isolement social réduit l'anxiété ou le conflit entre l'exploration et l'évitement du danger, et que l'hébergement social, à contrario, potentialise ces effets (Branchi et al., 2006; Branchi & Alleva, 2006; Dickson & Mittleman, 2021; Whitaker et al., 2009). En réalité, nous pensons que cette différence de temps passé dans les bras ouverts est leurrée et s'explique par l'hyperactivité manifestée par les souris socialement isolées. Cette hyperactivité a été observée à de multiples reprises dans nos études et dans d'autres travaux (Bailoo et al., 2018; Balcombe, 2006; Fei et al., 2019; Hellemans et al., 2004; Sullens et al., 2021; Van de Weerd et al., 2002; Võikar et al., 2005). Lorsque le niveau d'activité est pris en compte dans les analyses statistiques, nous avons montré que cette covariable fait disparaître les différences des indicateurs d'anxiété entre ces deux groupes. Notons que cette hypothèse n'est pas surprenante dans la mesure où une augmentation des comportements

locomoteurs traduit une exploration plus importante, menant par conséquent à des entrées et sorties enchaînées dans un même bras ouvert, à des passages plus réguliers d'un bras à un autre, et à une plus forte occurrence des comportements à risque. Des résultats très similaires ont été rapportés par une étude démontrant que les effets anxiolytiques de certaines substances peuvent être masqués par des changements dans l'activité locomotrice (Dawson et al., 1995). Selon Lister (1990), nous pouvons considérer que l'augmentation du temps passé dans les bras ouverts, ou le nombre d'entrées dans les bras ouverts, est due à un effet anxiolytique seulement si ces comportements ne sont pas accompagnés de changements significatifs, induits par une substance ou non, dans l'activité locomotrice globale, habituellement reflétés par une variation dans le nombre total d'entrées dans les bras du labyrinthe. Pour tenter de pallier cette problématique, certains chercheurs optent pour une évaluation dans plusieurs tests d'anxiété, comme la *light/dark box*, *l'open field* ou encore le test d'interaction sociale (Augustsson et al., 2003; Carola et al., 2002; Zheng et al., 2020). Néanmoins, exposer des rongeurs à une évaluation répétée des comportements liés à l'anxiété présente également des inconvénients significatifs, notamment en termes de fiabilité des résultats d'un test à un autre (Didone et al., article en préparation). Des études antérieures ont clairement démontré que l'utilisation répétée de *l'EPM* induisait des modifications notables dans divers comportements. Par exemple, des souris ayant déjà expérimenté le labyrinthe peuvent montrer une habitude à l'environnement et donc une activité locomotrice réduite, erronément interprétée comme un accroissement des comportements anxieux et une plus forte tolérance à certaines substances anxiolytiques (Cook et al., 2002; File, 1990; File et al., 1990; Rodgers et al., 1992). En outre, l'absence de relation significative entre les résultats obtenus dans différents tests d'anxiété a également été rapportée chez les rongeurs, les effets observés semblant être largement tributaires du moment où les tests sont menés (Ballaz et al., 2007; Carola et al., 2002; Rodgers et al., 1992; Stead et al., 2006; Võikar et al., 2004, 2005).

Indépendamment des études menées avec *l'elevated plus maze*, de nombreuses autres expériences ont montré une hyperactivité locomotrice élevée dans un *open field* chez les rongeurs hébergés en isolement social chronique (Balcombe, 2006; Brenes et al., 2008; Elliott & Grunberg, 2005; Fone & Porkess, 2008; Hall et al., 2000; Hellemans et al., 2004; Varty et al., 2000; Zimmermann et al., 2001). Nos études 1 et 3 ont également révélé que les souris hébergées dans des conditions d'isolement social manifestent une réponse locomotrice accrue dans un nouvel environnement. De plus, comparativement à des individus hébergés en groupes, les individus isolés font preuve d'un déficit d'habituation avec une hyperactivité toujours marquée lors de la quatrième exposition à l'environnement. Au contraire, les souris hébergées en groupes de huit diminuent significativement leur niveau d'activité entre la première et la quatrième exposition à l'environnement. Cette observation s'explique probablement par un traitement plus efficace des stimuli contextuels, diminuant progressivement l'exploration au fur et à mesure de l'exposition à cet environnement initialement nouveau (Bolivar et al., 2000; Brenes et al., 2009; Deacon et al., 2009; Elliott & Grunberg, 2005). Chez les souris isolées, l'hyperactivité persistante correspond à celle rencontrée chez les rongeurs évoluant dans un environnement restrictif ou appauvri (Balcombe, 2006; Brenes et al., 2008; Elliott & Grunberg, 2005; Fone & Porkess, 2008; Hall et al., 2000; Hellemans et al., 2004; Varty et al., 2000; Zimmermann et al., 2001). À l'inverse, une diminution dans la réponse locomotrice ou dans la réponse à la nouveauté pourrait être liée à des niveaux réduits de recherche de sensations et/ou d'attrait à l'exploration chez des individus hébergés dans de « meilleures conditions sociales » et avec des niveaux plus optimaux de contacts sociaux.

L'utilisation exclusive de *l'open field* pour investiguer la réponse à la nouveauté constitue une limite de notre troisième étude. *L'open field* est l'un des tests les plus couramment utilisés pour mesurer un éventail de comportements chez le rongeur, comme l'activité locomotrice générale ou certains comportements apparentés à l'anxiété. Tout comme *l'elevated plus maze*, la technique se prête également aisément à l'évaluation des effets de différentes substances pharmacologiques

pour leurs effets anxiogènes, anxiolytiques ou stimulants. Une limite majeure de *l'open field* réside dans le fait qu'il se concentre principalement sur l'évaluation des comportements locomoteurs et de l'exploration dans un contexte ouvert (Kraeuter et al., 2019; Ramos et al., 2008; Seibenhener & Wooten, 2015). Ainsi, il existe d'autres aspects comportementaux liés à la réponse à la nouveauté qui pourraient ne pas être pleinement évalués dans cet environnement spécifique. Par exemple, des tests complémentaires comme *l'object recognition test (ORT)*, qui mesure la préférence pour les objets nouveaux par rapport aux objets familiers, ou le test d'interaction sociale, qui évalue la réponse d'un rongeur à la présence d'un ou de plusieurs congénères dans un environnement neutre, auraient probablement pu fournir des données complémentaires sur la recherche de nouveauté au sein des groupes testés. En se limitant à l'utilisation exclusive de *l'open field*, il est possible que notre capacité à déduire précisément la réponse comportementale à la nouveauté dans nos différents groupes puisse être limitée. L'intégration de ces autres tests ou approches expérimentales nous aurait possiblement permis d'enrichir notre analyse et de potentiellement mieux comprendre les mécanismes sous-jacents aux réponses comportementales manifestées dans des situations non familières. Enfin, nous pensons que l'emploi de tests complémentaires à *l'open field* aurait également pu rendre compte d'une potentielle dissociation entre l'hyperactivité et la réponse à la nouveauté. De notre point de vue, ces observations et les questions qu'elles soulèvent soulignent l'importance de mener des études complémentaires pour faire évoluer la compréhension de cette dynamique complexe.

3. Effets de l'enrichissement sur la variabilité expérimentale

Dans le chapitre 4, nous mettons en relation l'enrichissement et le raffinement environnemental avec la règle des 3 R (voir Russel & Burch, 1959). Selon ce principe, l'enrichissement environnemental peut contribuer indirectement au principe de réduction. Des environnements adaptés ou raffinés ne peuvent que favoriser l'obtention de résultats scientifiques robustes et fiables, se traduisant en une minimisation des effectifs d'animaux utilisés et de la souffrance animale. Des inquiétudes subsistent néanmoins au sein de la communauté scientifique quant à la possibilité d'un conflit entre l'enrichissement environnemental et la standardisation des expériences. La standardisation, qui vise généralement à accroître la reproductibilité et la comparabilité des expériences, cherche à réduire les variations indésirables résultant de facteurs liés aux animaux (facteurs internes) et à l'environnement (facteurs externes), avec pour objectif principal de minimiser le nombre d'animaux utilisés (Festing, 1999; van Zutphen et al., 2001). Ainsi, certains chercheurs soutiennent que les animaux évoluant dans un environnement enrichi peuvent manifester une plus grande variabilité dans leurs réponses aux procédures expérimentales en raison de l'opportunité d'expression de comportements plus diversifiés (Appleby, 1997; Baumans & Van Loo, 2013). Par ailleurs, le risque d'une augmentation de la variabilité a été identifié dans environ la moitié des articles examinés dans une revue très récente (voir Ratuski & Weary, 2022). Selon plusieurs chercheurs, des animaux hébergés dans des environnements complexes ne répondent pas uniquement à un stimulus isolé, mais à de nombreux stimuli variables, entraînant ainsi une augmentation dans la diversité des réponses exprimées (Eskola et al., 1999; Tsai et al., 2003). Dans une récente étude (Akhund-Zade et al., 2019), des biologistes se sont penchés sur la problématique de cette variabilité comportementale potentiellement induite par l'enrichissement. En réalité, les résultats des études comportementales et physiologiques présentent des contradictions notoires sur cette question. Ainsi, certaines études indiquent que l'enrichissement peut accroître, diminuer ou ne pas

avoir d'effet sur la variabilité selon le trait examiné (Toth et al., 2011; Van de Weerd et al., 1994, 2002). Chez le rongeur notamment, l'enrichissement pourrait influencer la variabilité de manière contradictoire, en entraînant soit une diminution de la variance en éliminant les comportements négatifs engendrés par une condition appauvrie, soit une augmentation en raison de l'accroissement de la complexité du microenvironnement. Dans le scénario le plus répandu, certains chercheurs avancent que si les rongeurs peuvent exprimer davantage de comportements intrinsèques à leur espèce lorsqu'ils sont hébergés dans un environnement approprié et raffiné, ils seraient par conséquent mieux armés pour affronter des événements imprévus, se traduisant par une réponse plus uniforme. Les animaux provenant de conditions d'hébergement raffinées sont en ce sens qualifiés de physiologiquement et psychologiquement plus stables, les positionnant dès lors comme des modèles animaux « supérieurs » susceptibles d'assurer des résultats plus généralisables (Bayne, 2018; Olsson & Dahlborn, 2002; Olsson & Westlund, 2007; Poole, 1997). De plus, ces animaux pourraient constituer un modèle bien plus adapté à celui généralement rencontré chez l'être humain (Markowitz & Gavazzi, 1995, cités par Van de Weerd et al., 2002). Toutefois, plusieurs études ont démontré que la mise en place d'un processus d'enrichissement peut conduire à des résultats plus variables, augmentant alors le nombre d'animaux nécessaires pour atteindre une puissance statistique suffisante (Augustsson et al., 2003; Eskola et al., 1999; Mering et al., 2001; Toth et al., 2011; Tsai et al., 2003; Van de Weerd et al., 2002). Par exemple, une étude utilisant des souris mâles et femelles de quatre souches consanguines différentes a mis en évidence que l'enrichissement environnemental peut influencer significativement les résultats expérimentaux d'une variété de mesures comportementales et physiologiques, sans nécessairement améliorer le bien-être général, menant ainsi à un conflit entre le « Raffinement » et la « Réduction » (Tsai et al., 2006). Dans une autre étude plus récente (Körholz et al., 2018), des chercheurs ont directement évalué si la variabilité comportementale et la variabilité de la plasticité cérébrale étaient influencées par la diversité des stimuli résultant d'un environnement enrichi.

Les résultats indiquent que l'enrichissement accroît la variabilité dans des domaines spécifiques. Ainsi, des souris C57BL/6J provenant d'environnements enrichis exprimaient une plus grande variabilité dans les comportements exploratoires, comme le temps d'interaction avec des objets et l'habituation progressive dans un *open-field*, ou encore la neurogenèse à l'âge adulte et l'épaisseur du cortex moteur, par rapport à des souris hébergées dans des conditions standards. À l'inverse, une autre étude (Wolfer et al., 2004) démontrait des résultats totalement opposés dans les mêmes tests comportementaux. Ces chercheurs ont ainsi élevé deux souches consanguines différentes (C57BL/6J et DBA/2J) de même que leurs hybrides (B6D2F1) dans trois laboratoires distincts, en utilisant soit une condition d'hébergement standard soit une condition d'enrichissement physique. Les résultats obtenus dans divers tests comportementaux démontrent que l'enrichissement ne conduit ni à une augmentation de la variabilité individuelle, ni à une probabilité accrue d'obtenir des données contradictoires dans la réplication des études. Ainsi, des environnements d'hébergement peuvent être enrichis sans forcément affecter les résultats comportementaux obtenus chez la souris. Par ailleurs, selon certains auteurs, tout dépendrait de facteurs tels que la souche, le sexe, les enrichissements proposés ou les paramètres expérimentaux (Bayne & Würbel, 2014; Van de Weerd et al., 2002, 2004; Wolfer et al., 2004, 2004). Dans la même perspective, des chercheurs (Würbel, 2007) ont évalué l'effet de l'enrichissement de l'hébergement sur la détection de différences comportementales liées aux souches génétiques dans les mêmes tests que ceux analysés dans l'étude de Wolfer et collaborateurs (2004). La variabilité intra-groupe expliquait environ 60% de la variabilité totale, tandis que les interactions entre la souche et le laboratoire apportaient une contribution beaucoup plus faible, environ 8%. Malgré l'enrichissement apporté, la variabilité intra-groupe n'a ainsi pas été modifiée, indiquant que l'enrichissement ne réduit pas la sensibilité des tests dans la détection de différences génétiques.

De plus, l'enrichissement n'a pas significativement affecté la proportion de variance expliquée par les interactions entre la souche et le laboratoire, écartant

donc le risque de résultats conflictuels et non répliquables. En outre, contrôler la variabilité entre les laboratoires et obtenir des résultats cohérents peut se révéler extrêmement fastidieux, même lorsque la standardisation fait partie intégrante de la conception d'une étude (Crabbe et al., 1992; Kafkafi et al., 2005; Wahlsten et al., 2003). Par exemple, dans une étude visant à évaluer la cohérence de l'effet comportemental de différentes conditions d'hébergement entre laboratoires et expérimentateurs, les auteurs ont démontré que, malgré un protocole approfondi visant à standardiser l'environnement expérimental, la maintenance des animaux et les procédures de test, des différences significatives dans les résultats obtenus sont observées, notamment dans le test de *l'elevated plus maze* (voir Hogg, 1996), tandis que les valeurs obtenues dans le test de *l'open-field* ne varient quasiment pas (Lewejohann et al., 2006). Sans nous attarder davantage sur cette question complexe, selon certains chercheurs, des conditions soigneusement contrôlées et bien définies à priori sont cruciales dans la détection et la mesure des variables biologiques et comportementales complexes. Ainsi, selon les dernières études publiées, comprenant méta-analyses et revues systématiques (voir Cait et al., 2022; Kentner et al., 2021; Ratuski & Weary, 2022), l'enrichissement environnemental n'augmenterait pas significativement la variabilité des résultats par rapport aux hébergements conventionnels. Nous considérons aujourd'hui que, malgré une standardisation entre laboratoires presque aussi efficace que la standardisation intra-laboratoire, dans certaines situations ou pour certains objectifs expérimentaux, une variabilité minimale quantitative plutôt que qualitative peut tout de même survenir (voir Bayne & Würbel, 2014; Lewejohann et al., 2006; Richter et al., 2009, 2010), soulignant des différences dans l'ampleur des effets plutôt que dans leur direction (voir Crabbe et al., 1999; Wolfer et al., 2004). Comme nous l'avons explicité à la page 102, la variabilité introduite au sein d'une étude pourrait contribuer à rendre les résultats plus reproductibles et généralisables (voir Richter et al., 2010; Usui et al., 2021).

Dans le cadre de nos trois études, la condition sociale comprenant huit individus par cage pourrait ainsi induire une plus grande variabilité dans les réponses

comportementales par rapport à une condition anciennement « standard », c'est-à-dire la condition d'isolement social. Afin de déconstruire cette croyance, quelques analyses statistiques supplémentaires ont été réalisées. En examinant attentivement les résultats principaux de nos trois études, lorsque nous comparons les coefficients de variations (CV) des groupes d'hébergement les plus différents, c'est-à-dire le groupe d'isolement (G1) par rapport au groupe le plus vaste (G8), nous n'obtenons pas suffisamment de preuves statistiques pour rendre compte d'une variabilité hétérogène entre ces deux groupes. Ainsi, il nous semble cohérent d'affirmer que la procédure d'hébergement la plus sociale n'entraîne pas plus de variabilité qu'une condition plus « standard » dans les comportements évalués. Afin d'éviter d'alourdir cette discussion avec des détails statistiques et des graphiques, les résultats de ces analyses additionnelles se trouvent dans les annexes (Annexes A, B et C).

4. Recherches limitées à un sexe

Notre planification expérimentale initiale prévoyait l'utilisation des deux sexes dans l'ensemble de nos études. Néanmoins, à la suite des écueils rencontrés avec les souris mâles dans la première étude (cf. chapitre 7), nous avons opté pour un emploi exclusif de souris femelles quant à la suite des expériences. Il est cependant évident que l'utilisation spécifique de sujets femelles constitue une limitation majeure de notre travail. Selon les recommandations en vigueur (Arnold, 2004; Arnold et al., 2004; Becker et al., 2005; Beery & Zucker, 2011; Mamlouk et al., 2020; Prendergast et al., 2014; Will et al., 2017), il aurait été nécessaire de maintenir un nombre égal de mâles et de femelles dans tous les groupes d'hébergement. Initialement, il était prévu d'inclure la variable sexe dans les analyses statistiques. Si aucun effet significatif de cette variable n'était observé, les données des deux sous-groupes auraient alors été regroupées pour augmenter la puissance statistique des analyses (Didone, 2014).

Sans entrer dans un débat philosophique à propos de la question du sexisme dans les neurosciences (pour une discussion détaillée, voir Beery & Zucker, 2011; Bolon et al., 2010; Didone, 2014; Eliot et al., 2023; Hughes, 2007; Wald & Wu, 2010), les conclusions de nos études doivent se limiter au sous-groupe des femelles. Bien que notre première étude tende à démontrer une convergence de résultats dans les cohortes mâles et femelles, du moins dans le cas d'une sensibilisation à l'alcool, nous ne souhaitons pas établir d'extrapolation à l'ensemble des deux sexes. Toutefois, comme le fait parfaitement remarquer Didone (2014), il est judicieux de contester l'idée que l'utilisation de souris mâles (ou d'hommes), en tant que « modèle standard de recherche », soit systématiquement préférable aux femelles (ou aux femmes) dans les études unisexes. Cette préférence pour les mâles, fréquente dans les études animales, suscite par ailleurs souvent une méfiance des reviewers scientifiques envers les expériences précliniques menées exclusivement sur des sujets femelles. Des recommandations en ce sens ont été faites à de nombreux éditeurs de journaux scientifiques, mais leur application est

souvent limitée, les demandes de justification de la part des évaluateurs se concentrant généralement sur les études réalisées avec des rongeurs femelles. En effet, l'adoption de femelles comme sujets uniques d'expérience doit toujours être justifiée par des arguments théoriques spécifiques soulignant leur pertinence dans le contexte étudié. L'argument principal contre l'utilisation de rongeurs femelles réside notamment dans leur variabilité comportementale et physiologique plus élevée, en particulier en raison du cycle de l'œstrus qui compliquerait l'interprétation des résultats (Bhutada et al., 2010; Simpson & Kelly, 2011; Wall et al., 2023). Pour contrôler cette variabilité, des frottis vaginaux quotidiens seraient nécessaires pour suivre les fluctuations hormonales. Des conditions d'hébergement spéciales seraient également requises pour exploiter les effets spécifiques du cycle de l'œstrus. Cependant, ces procédures entraînent des coûts supplémentaires pour les laboratoires, ce qui rend l'utilisation routinière de femelles moins séduisante pour de nombreuses équipes de recherche. Il nous semble nécessaire de déconstruire cette croyance. Plusieurs études récentes ont démontré que l'œstrus n'entraîne pas de variabilité supplémentaire dans différents tests effectués (voir Becker et al., 2016; Kaluve et al., 2022; Simpson & Kelly, 2012; Zajitschek et al., 2020). Certains auteurs soutiennent que le phénotypage comportemental des femelles peut être effectué sans être perturbé par les hormones, à condition que le choix du test et de la souche soit approprié (Meziane et al., 2007). De plus, selon certains chercheurs, la variabilité intragroupe chez les femelles non cyclées ne dominerait pas celle mesurée chez les sujets mâles. Ainsi, des études ont pu établir qu'il n'y avait pas de différence significative dans la variance intragroupe entre les deux sexes, ce qui suggère que cette variabilité ne devrait pas constituer un obstacle au choix des femelles comme sujets pour les études unisexes (Becker et al., 2016; Kaluve et al., 2022; Mifflin & Kerr, 2013; Mogil & Chanda, 2005; Prendergast et al., 2014).

En ce qui concerne les substances testées, il est évident que l'alcool est consommé tout autant par les hommes que par les femmes. Toutefois, l'addiction alcoolique touche plus généralement les hommes, mais son impact se révèle plus

néfaste chez les femmes (Brady & Randall, 1999; Erol & Karpyak, 2015; Greenfield et al., 2010; Schuckit, 2009). Dans le phénomène de sensibilisation comportementale chez le rongeur, la majorité des études spécifiques aux femelles inclut une explication de leur utilisation dans la partie méthodologique (voir Didone et al., 2008, 2019; Phillips et al., 1996; Quoilin et al., 2010, 2012a, 2013). Cependant, ces justifications sont souvent hors de propos ou liées à une généralisation de résultats obtenus avec des substances psychostimulantes, plus largement répandues. En revanche, la grande majorité des articles ne fournissent que très rarement de justification pour le choix des mâles. En réalité, l'utilisation exclusive de femelles dans nos études se justifie également par des raisons pratiques. Un nombre conséquent de publications soutient l'utilisation de femelles dans les études en raison de leur plus grande vulnérabilité à la sensibilisation induite par l'alcool (voir Camarini & Pautassi, 2016; Didone et al., 2008; Itzhak & Martin, 1999; Lessov & Phillips, 2003; Masur & Boerngen, 1980; Phillips et al., 1996). Dans notre laboratoire, des effets de sensibilisation locomotrice et de tolérance comportementale furent largement démontrés chez la souris Swiss femelle (Didone et al., 2008, 2019; Didone, Masson, et al., 2016; Didone, Quoilin, et al., 2016; Quoilin et al., 2012a, 2013; Tirelli et al., 1992), ce qui est également le cas dans nos présents résultats (cf. chapitres 7 et 8). Enfin, dans le cadre de notre protocole d'hébergement social, l'utilisation spécifique de femelles permet de devancer les risques d'agressions répétées entre congénères mâles. Nous proposons de finaliser cette partie conclusive en discutant plus en détail de ce sujet.

Comme déjà évoqué dans le chapitre 4, les souris mâles sont connues pour réagir à l'enrichissement environnemental par l'expression accrue de comportements de territorialité et d'agressivité, surtout si la modalité sociale est concernée (Hutchinson et al., 2005; Kappel et al., 2017; Olsson & Dahlborn, 2002; Van de Weerd et al., 2004; Weber et al., 2022; Würbel & Garner, 2007). Dans des conditions de laboratoire, l'hébergement est généralement organisé en fonction du sexe, contrastant donc avec l'organisation sociale des souris sauvages telle qu'elle

est connue grâce aux études éthologiques. Ainsi, dans le milieu naturel, les souris s'organisent selon des unités sociales distinctes composées généralement d'un mâle dominant, de plusieurs femelles, de juvéniles et probablement de quelques mâles subordonnés (Arndt et al., 2009; Bartolomucci et al., 2004, 2005). En captivité, les souris mâles sont habituellement forcées au co-hébergement, bien qu'elles soient caractérisées par un haut niveau de territorialité et d'intolérance envers leurs congénères du même sexe, entraînant de nombreux comportements agressifs qui compromettent alors le bien-être et la qualité des recherches, notamment chez certaines souches comme la Swiss et la CD-1 (Bisazza, 1981; Kappel et al., 2017; Lidster et al., 2019; Van Oortmerssen, 1971; Weber et al., 2022). Bien que l'utilisation de souches de souris dociles puisse être une solution, cette méthode peut entrer en conflit avec les exigences expérimentales du modèle. Néanmoins, chez certaines souches agressives, opter pour l'utilisation spécifique d'un sexe signifie souvent que seules les femelles sont utilisées et jusqu'à 80% des mâles excédentaires doivent être euthanasiés au moment du sevrage (Van de Weerd et al., 2004) ou utilisés uniquement comme géniteurs dans la reproduction. Selon un éditorial de la revue « *Neurotoxicology and Teratology* » publié récemment (Levin et al., 2021), le facteur sexe correspond au polymorphisme génétique le plus répandu et le plus prépondérant chez les mammifères. Pour rappel, les *National Institutes of Health (NIH)* recommandent fortement l'étude conjointe des animaux des deux sexes dans toute recherche appropriée, compte tenu des nombreuses affections et pathologies présentant des différences entre les sexes, notamment en termes d'incidence et de réponse aux thérapies (Torres-Reveron & Dow-Edwards, 2022). Contrairement à ce que l'on pourrait croire, l'utilisation exclusive de rongeurs mâles dans les études sur l'enrichissement environnemental continue à prédominer dans les neurosciences comportementales. D'après une revue de la littérature compilée au sujet du rat au début de la dernière décennie, les mâles étaient exclusivement utilisés dans 61% des études, tandis que les femelles seules n'étaient l'objet que de 22% de ces investigations. De surcroît, l'inclusion simultanée des deux sexes n'excédait pas

17% de toutes les études portant sur l'enrichissement (Simpson & Kelly, 2011). Enfin, nous estimons qu'environ 85% des articles unisexes n'utiliseraient que des mâles dans les études précliniques (Eliot et al., 2023; Oertelt-Prigione et al., 2010). Chez la souris, ce biais sélectif se manifeste également. Comme expliqué précédemment, l'œstrus chez les femelles est souvent pointé du doigt en tant que raison principale pour laquelle la majorité des chercheurs privilégie l'utilisation exclusive de sujets mâles, malgré les contraintes liées au co-hébergement pouvant potentiellement mener à une plus forte variabilité des données obtenues (Simpson & Kelly, 2011, 2012). Toutefois, une revue systématique fondée sur 198 résultats tirés de l'analyse de 90 articles relatifs à la souris (Weber et al., 2022) a révélé que dans près de la moitié des observations, l'enrichissement ne produisait ni d'effets positifs, ni d'effets négatifs sur l'agressivité entre les mâles co-hébergés. De manière intéressante, l'enrichissement ne potentialisait l'agressivité que dans environ 20% des observations. Les résultats présentés indiquent notamment que le type d'enrichissement est un facteur déterminant. Ainsi, les dispositifs d'abris et de cachettes, l'enrichissement alimentaire et le matériel de nidification, utilisés seuls ou conjointement, étaient associés à une diminution globale de l'agressivité. En revanche, les roues d'activité constituaient le type d'enrichissement le plus inducteur d'agressivité dans plus de 50% des observations, très certainement parce que les individus défendent et monopolisent le dispositif en raison de sa quantité limitée disponible dans une même cage ; ironiquement, ce genre de comportement est également observable dans les salles de sport modernes... Les auteurs indiquent également que les résultats présentés pourraient suggérer que l'enrichissement environnemental exerce un effet bénéfique plus prononcé lorsqu'il est utilisé dans des groupes de mâles non-apparentés. En effet, aucune diminution des comportements agressifs n'a été observée dans les groupes d'individus issus d'une même portée. Comme exposé dans le chapitre 4, ce phénomène pourrait certainement s'expliquer par des niveaux d'agressivité de base globalement plus bas dans ces groupes familiaux lorsqu'ils sont issus d'une portée commune (Bartolomucci et al., 2002).

Des recherches antérieures avaient déjà mis en évidence que les souris mâles hébergées en groupes sociaux sont extrêmement intolérantes les unes envers les autres. Ces données démontrent une forte propension à s'agresser, à subir et infliger de graves blessures, voire à s'entretuer (Bisazza, 1981; Kappel et al., 2017; Marashi et al., 2004; Olsson & Westlund, 2007; Van Oortmerssen, 1971). De plus, certaines souches de souris présentent des taux plus marqués d'agressivité, les souris mâles de souche Swiss étant notamment réputées pour leur forte inclination aux interactions agressives (Bisazza, 1981; Kappel et al., 2017). En outre, il a été démontré que l'exposition répétée à l'alcool entraîne une augmentation des comportements agressifs entre congénères (Covington et al., 2018; Fish et al., 2002; Hwa et al., 2015; Newman et al., 2012). Cette tendance à l'agression rencontrée chez les souris Swiss mâles constitue un facteur déterminant dans notre préférence pour l'utilisation spécifique de femelles dans nos recherches psychopharmacologiques (Didone et al., 2008, 2019; Didone, Quoilin, et al., 2016; Quoilin et al., 2010, 2012a, 2012b, 2013, 2014). Une explication possible de l'agression accrue chez des souris mâles lors de la procédure d'exposition répétée à l'éthanol est entre autres liée à la hiérarchie sociale. Les souris mâles vivant en groupes sociaux, par exemple dans une cage comprenant huit individus, ont tendance à établir des hiérarchies sociales stables comprenant un ou deux dominants et des individus subordonnés (Arndt et al., 2009; Bartolomucci et al., 2004, 2005; Haemisch et al., 1994). Les effets de désinhibition ou de sevrage induits par l'éthanol pourraient perturber la hiérarchie établie (Hilakivi et al., 1989; Hilakivi & Lister, 1989; Hwa et al., 2015; Miczek et al., 1998, 2001) et entraîner une augmentation des agressions. Il est donc difficile de statuer si héberger des souris Swiss mâles en groupes est bénéfique en termes de stress et de bien-être et la question est encore largement débattue (Kappel et al., 2017). Cependant, il a été démontré à plusieurs reprises que les souris mâles préfèrent la compagnie de congénères dominants à l'isolement chronique (Van Loo et al., 2003; Van Loo, de Groot, et al., 2001), suggérant que l'isolement social est clairement lié à un stress

chronique puissant. En tout état de cause, des études supplémentaires avec des méthodologies différentes seront nécessaires pour trancher cette question.

Pour rappel, notre intention initiale était d'inclure à la fois des sujets mâles et femelles afin de répondre aux recommandations concernant la considération du facteur sexe en tant que variable biologique dans la recherche préclinique (Arnold, 2004; Arnold et al., 2004; Becker et al., 2005). L'utilisation exclusive de femelles fût la critique prédominante des évaluateurs lors de la publication de notre premier article. Cependant, les agressions entre mâles dans les groupes sociaux ont effectivement entraîné des blessures graves nécessitant une intervention médicale ou l'euthanasie, conduisant inévitablement à des problèmes d'attrition (cf. article 1). Dans une même cage, les mâles exposés chroniquement à l'éthanol pouvaient s'agresser sévèrement, voire littéralement se massacrer, ces comportements s'intensifiant par ailleurs au fil des jours. Face à ces circonstances et aux préoccupations éthiques qu'elles ont soulevées, nous avons pris la décision de ne pas inclure les mâles dans la suite de nos expériences. Nous avons bien conscience de l'existence de méthodes alternatives pour explorer cette question. Par exemple, une approche pourrait consister à retirer sélectivement les souris mâles agressives dès le début de l'étude, bien que l'identification précise de ces individus agressifs parmi les autres poserait un défi considérable et nécessiterait une observation des cages d'hébergement de manière continue ou durant des phases stratégiques, notamment durant la phase d'activité la plus élevée. Néanmoins, nous pensons que le problème pourrait être davantage lié à la stabilité de la hiérarchie sociale qu'aux individus agressifs spécifiques. Une autre option, couramment utilisée, pourrait être la castration des souris mâles pour réduire considérablement les hormones stéroïdiennes souvent inductrices d'agressivité. De plus, l'introduction d'une souris mâle seule dans un groupe de femelles pourrait être envisagée. Il faut toutefois remarquer que chacune de ces méthodes, bien que théoriquement faisable, soit obstrue une comparaison adéquate des sexes (par exemple, comparer les souris femelles avec les souris mâles présentant des niveaux d'agression plus faibles ou des souris mâles castrées), soit introduit des

variables confondantes susceptibles d'interférer avec l'objectif principal de l'expérience (comme la présence ou l'absence de partenaires sexuels). Par conséquent, bien que ces approches nous semblent arborer un réel potentiel, elles nécessiteraient des moyens logistiques et une réflexion approfondie de leur impact sur les objectifs et les interprétations de l'étude.

BIBLIOGRAPHIE

Bibliographie personnelle

Articles publiés dans des revues de peer-reviewing

En tant que premier auteur :

van Ingelgom, T., Didone, V., Godefroid, L., & Quertemont, É. (2024). Effects of social housing conditions on ethanol-induced behavioral sensitization in Swiss mice. *Psychopharmacology*, 241(5), 987–1000. <https://doi.org/10.1007/s00213-024-06527-7>

En tant que co-auteur :

Didone, V., van Ingelgom, T., Tirelli, E., & Quertemont, E. (2019). Long-term exposure to daily ethanol injections in DBA/2J and Swiss mice : Lessons for the interpretation of ethanol sensitization. *PLOS ONE*, 14(11), Article 11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214696>

En tant que contributeur :

Van Hees, L., Didone, V., Charlet-Briart, M., van Ingelgom, T., Alexandre, A., Quertemont, E., Nguyen, L., & Laguesse, S. (2022). Voluntary alcohol binge-drinking in adolescent C57Bl6 mice induces delayed appearance of behavioural defects in both males and females. *Addiction Biology*, 27(1). <https://doi.org/10.1111/adb.13102>

Colloques et congrès scientifiques

À portée internationale :

Van Ingelgom, T., Didone, V., Tirelli, E., & Quertemont, E. (23 September 2019). *Characterization of the behavioral sensitization and the conditioned response induced by long-term exposure to alcohol in DBA/2J and Swiss mice* [Poster presentation]. 17th Congress of the European Society for

Biomedical Research on Alcoholism, Lille, France.
<https://hdl.handle.net/2268/240097>

Van Ingelgom, T., Didone, V., & Quertemont, E. (01 December 2021). *Inbred/outbred : quelle variabilité dans un modèle murin de la sensibilisation comportementale ?* [Poster presentation]. 46ème colloque AFSTAL 2021, Marseille, France. <https://hdl.handle.net/2268/266012>

Van Ingelgom, T., Didone, V., Godefroid, L., & Quertemont, E. (September 2022). *Effects of social housing conditions on ethanol-induced behavioral sensitization in mice* [Poster presentation]. Meeting of ISBRA and ESBRA: 2nd World Congress on Alcohol and Alcoholism, Kraków, Poland. <https://hdl.handle.net/2268/295392>

À portée nationale :

Van Ingelgom, T., Didone, V., & Quertemont, E. (14 May 2019). *Does social enrichment impair drug addiction?* [Poster presentation]. Annual Meeting of the Belgian Association for Psychological Sciences, Liège, Belgium. <https://hdl.handle.net/2268/240093>

Bibliographie générale

- Abdullah, M., Huang, L.-C., Lin, S.-H., & Yang, Y. K. (2022). Dopaminergic and glutamatergic biomarkers disruption in addiction and regulation by exercise: A mini review. *Biomarkers: Biochemical Indicators of Exposure, Response, and Susceptibility to Chemicals*, 27(4), 306–318. <https://doi.org/10.1080/1354750X.2022.2049367>
- Abrahao, K. P., Ariwodola, O. J., Butler, T. R., Rau, A. R., Skelly, M. J., Carter, E., Alexander, N. P., McCool, B. A., Souza-Formigoni, M. L. O., & Weiner, J. L. (2013). Locomotor sensitization to ethanol impairs NMDA receptor-dependent synaptic plasticity in the nucleus accumbens and increases ethanol self-administration. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 33(11), 4834–4842. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5839-11.2013>
- Abrahao, K. P., Goeldner, F. O., & Souza-Formigoni, M. L. O. (2014). Individual differences in ethanol locomotor sensitization are associated with dopamine D1 receptor intracellular signaling of DARPP-32 in the nucleus accumbens. *PloS One*, 9(2), e98296. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0098296>
- Abrahao, K. P., Quadros, I. M. H., Andrade, A. L. M., & Souza-Formigoni, M. L. O. (2012). Accumbal dopamine D2 receptor function is associated with individual variability in ethanol behavioral sensitization. *Neuropharmacology*, 62(2), 882–889. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2011.09.017>
- Abrahao, K. P., Quadros, I. M. H., & Souza-Formigoni, M. L. O. (2009). Individual differences to repeated ethanol administration may predict locomotor response to other drugs, and vice versa. *Behavioural Brain Research*, 197(2), 404–410. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.10.009>
- Abrahao, K. P., Quadros, I. M. H., & Souza-Formigoni, M. L. O. (2011). Nucleus accumbens dopamine D₁ receptors regulate the expression of ethanol-induced behavioural sensitization. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 14(2), 175–185. <https://doi.org/10.1017/S1461145710000441>

- Abrahao, K. P., Quadros, I. M., & Souza-Formigoni, M. L. O. (2008). Morphine attenuates the expression of sensitization to ethanol, but opioid antagonists do not. *Neuroscience*, *156*(4), 857–864. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2008.08.012>
- Abrahao, K. P., Salinas, A. G., & Lovinger, D. M. (2017). Alcohol and the Brain: Neuronal Molecular Targets, Synapses, and Circuits. *Neuron*, *96*(6), 1223–1238. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2017.10.032>
- Addicott, M., Marsh-Richard, D., Mathias, C., & Dougherty, D. (2007). The Biphasic Effects of Alcohol: Comparisons of Subjective and Objective Measures of Stimulation, Sedation, and Physical Activity. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, *31*, 1883–1890. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2007.00518.x>
- Addolorato, G., Ancona, C., Capristo, E., & Gasbarrini, G. (2003). Metadoxine in the treatment of acute and chronic alcoholism: A review. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, *16*(3), 207–214. <https://doi.org/10.1177/039463200301600304>
- Adinoff, B. (1994). The Alcohol Withdrawal Syndrome. Neurobiology of Treatment and Toxicity. *American Journal on Addictions*, *3*(4), 277–288. <https://doi.org/10.1111/j.1521-0391.1994.tb00244.x>
- Adriani, W., Chiarotti, F., & Laviola, G. (1998). Elevated novelty seeking and peculiar d-amphetamine sensitization in periadolescent mice compared with adult mice. *Behavioral Neuroscience*, *112*(5), 1152–1166. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.112.5.1152>
- Aguayo, L. G., Peoples, R. W., Yeh, H. H., & Yevenes, G. E. (2002). GABA(A) receptors as molecular sites of ethanol action. Direct or indirect actions? *Current Topics in Medicinal Chemistry*, *2*(8), 869–885. <https://doi.org/10.2174/1568026023393426>
- Ahlenius, S., Carlsson, A., Engel, J., Svensson, T., & Södersten, P. (1973). Antagonism by alpha methyltyrosine of the ethanol-induced stimulation and euphoria in man. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, *14*(4), 586–591. <https://doi.org/10.1002/cpt1973144part1586>

- Akhund-Zade, J., Ho, S., O'Leary, C., & de Bivort, B. (2019). The effect of environmental enrichment on behavioral variability depends on genotype, behavior, and type of enrichment. *The Journal of Experimental Biology*, 222(Pt 19), jeb202234. <https://doi.org/10.1242/jeb.202234>
- Akre, A. K., Bakken, M., Hovland, A. L., Palme, R., & Mason, G. (2011). Clustered environmental enrichments induce more aggression and stereotypic behaviour than do dispersed enrichments in female mice. *Applied Animal Behaviour Science*, 131(3–4), 145–152. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2011.01.010>
- Alaux-Cantin, S., Warnault, V., Legastelois, R., Botia, B., Pierrefiche, O., Vilpoux, C., & Naassila, M. (2013). Alcohol intoxications during adolescence increase motivation for alcohol in adult rats and induce neuroadaptations in the nucleus accumbens. *Neuropharmacology*, 67, 521–531. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2012.12.007>
- Alcaro, A., Huber, R., & Panksepp, J. (2007). Behavioral functions of the mesolimbic dopaminergic system: An affective neuroethological perspective. *Brain Research Reviews*, 56(2), 283–321. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2007.07.014>
- Alexander, J. A., Nahra, T. A., & Wheeler, J. R. C. (2003). Managed care and access to substance abuse treatment services. *The Journal of Behavioral Health Services & Research*, 30(2), 161–175. <https://doi.org/10.1007/BF02289805>
- Alfonso-Loeches, S., Pascual, M., & Guerri, C. (2013). Gender differences in alcohol-induced neurotoxicity and brain damage. *Toxicology*, 311(1–2), 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2013.03.001>
- Ali, M. (2015). Effet de l'enrichissement physique et social sur l'établissement d'un souvenir spatial à long terme après lésion des noyaux reuniens et rhomboïde du thalamus chez le rat. Université de Strasbourg.
- Alim, T. N., Lawson, W. B., Feder, A., Iacoviello, B. M., Saxena, S., Bailey, C. R., Greene, A. M., & Neumeister, A. (2012). Resilience to meet the challenge of addiction: Psychobiology and clinical considerations. *Alcohol Research: Current Reviews*, 34(4), 506–515.
- Alkana, R. L., Parker, E. S., Cohen, H. B., Birch, H., & Noble, E. P. (1977). Reversal of ethanol intoxication in humans: An assessment of the efficacy of L-dopa,

aminophylline, and ephedrine. *Psychopharmacology*, 55(3), 203–212.
<https://doi.org/10.1007/BF00497849>

Alkana, R. L., Parker, E. S., Malcolm, R. D., Cohen, H. B., Birch, H., & Noble, E. P. (1982). Interaction of apomorphine and amantadine with ethanol in men. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 6(3), 403–411. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1982.tb04999.x>

Alvernia University. (2019). Habit vs. Addiction: What's the Difference? *Alvernia Online*.
<https://online.alvernia.edu/articles/habit-vs-addiction/>

Amit, Z., & Smith, B. R. (1985). A multi-dimensional examination of the positive reinforcing properties of acetaldehyde. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, 2(2), 367–370.
[https://doi.org/10.1016/0741-8329\(85\)90077-1](https://doi.org/10.1016/0741-8329(85)90077-1)

An, D., Chen, W., Yu, D.-Q., Wang, S.-W., Yu, W.-Z., Xu, H., Wang, D.-M., Zhao, D., Sun, Y.-P., Wu, J.-C., Tang, Y.-Y., & Yin, S.-M. (2017). Effects of social isolation, re-socialization and age on cognitive and aggressive behaviors of Kunming mice and BALB/c mice. *Animal Science Journal = Nihon Chikusan Gakkaiho*, 88(5), 798–806.
<https://doi.org/10.1111/asj.12688>

Anagnostaras, S. G., & Robinson, T. E. (1996). Sensitization to the psychomotor stimulant effects of amphetamine: Modulation by associative learning. *Behavioral Neuroscience*, 110(6), 1397–1414. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.110.6.1397>

Animal Welfare Institute (Ed.). (2015). *Comfortable Quarters for Laboratory Animals* (10th ed.). Cambridge University Press. <https://www.cambridge.org/core/journals/animal-welfare/article/abs/comfortable-quarters-for-laboratory-animals-tenth-edition-edited-by-c-liss-k-litwak-d-tilford-and-v-reinhardt-2015-published-by-animal-welfare-institute-900-pennsylvania-avenue-se-washington-dc-20003-usa-239-pages-isbn-9780938414797-paperback-ebook-free-to-download/5CE3B09C3875AA3412C1B1CDEFC62A86>

Antelman, S. M., Eichler, A. J., Black, C. A., & Kocan, D. (1980). Interchangeability of stress and amphetamine in sensitization. *Science (New York, N.Y.)*, 207(4428), 329–331.
<https://doi.org/10.1126/science.7188649>

- Appleby, M. C. (1997). Life in a variable world: Behaviour, welfare and environmental design. *Applied Animal Behaviour Science*, 54(1), 1–19. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(96\)01197-5](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(96)01197-5)
- Aragon, C., & Amit, Z. (2006). Genetic Variation in Ethanol Sensitivity in C57BL/6 and DBA/2 Mice: A Further Investigation of the Differences in Brain Catalase Activity. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 492, 398–400. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1987.tb48699.x>
- Arakawa, H. (2005). Age dependent effects of space limitation and social tension on open-field behavior in male rats. *Physiology & Behavior*, 84(3), 429–436. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.01.008>
- Arakawa, H. (2018). Ethological approach to social isolation effects in behavioral studies of laboratory rodents. *Behavioural Brain Research*, 341, 98–108. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.12.022>
- Araki, R., Ago, Y., Hasebe, S., Nishiyama, S., Tanaka, T., Oka, S., Takuma, K., & Matsuda, T. (2014). Involvement of prefrontal AMPA receptors in encounter stimulation-induced hyperactivity in isolation-reared mice. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 17(6), 883–893. <https://doi.org/10.1017/S1461145713001582>
- Araujo, N. P., Camarini, R., Souza-Formigoni, M. L. O., Carvalho, R. C., Abílio, V. C., Silva, R. H., Ricardo, V. P., Ribeiro, R. de A., & Frussa-Filho, R. (2005). The importance of housing conditions on behavioral sensitization and tolerance to ethanol. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 82(1), Article 1. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2005.07.009>
- Araujo, N. P., Fukushiro, D. F., Cunha, J. L. S., Levin, R., Chinen, C. C., Carvalho, R. C., Ribeiro, I. C. P., Gomes, D. C., Abílio, V. C., Silva, R. H., Ribeiro, R. de A., & Frussa-Filho, R. (2006). Drug-induced home cage conspecifics' behavior can potentiate behavioral sensitization in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 84(1), Article 1. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2006.04.019>
- Arias, C., Mlewski, E. C., Miller, S., Molina, J. C., & Spear, N. E. (2009). Novelty modulates the stimulating motor effects of ethanol in preweanling rats. *Pharmacology*,

Biochemistry, and Behavior, 92(3), 448–456.
<https://doi.org/10.1016/j.pbb.2009.01.012>

Arndt, S. S., Laarakker, M. C., van Lith, H. A., van der Staay, F. J., Gieling, E., Salomons, A. R., van't Klooster, J., & Ohl, F. (2009). Individual housing of mice—Impact on behaviour and stress responses. *Physiology & Behavior*, 97(3–4), 385–393.
<https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2009.03.008>

Arnold, A. P. (2004). Sex chromosomes and brain gender. *Nature Reviews. Neuroscience*, 5(9), 701–708. <https://doi.org/10.1038/nrn1494>

Arnold, A. P., Xu, J., Grisham, W., Chen, X., Kim, Y.-H., & Itoh, Y. (2004). Minireview: Sex chromosomes and brain sexual differentiation. *Endocrinology*, 145(3), 1057–1062.
<https://doi.org/10.1210/en.2003-1491>

Attilia, F., Perciballi, R., Rotondo, C., Capriglione, I., Iannuzzi, S., Attilia, M. L., Coriale, G., Vitali, M., Cereatti, F., Fiore, M., Ceccanti, M., & Interdisciplinary Study Group CRARL - SITAC - SIPaD - SITD - SIPDip. (2018). Alcohol withdrawal syndrome: Diagnostic and therapeutic methods. *Rivista Di Psichiatria*, 53(3), 118–122.
<https://doi.org/10.1708/2925.29413>

Augustsson, H., van de Weerd, H. A., Kruitwagen, C. L. J. J., & Baumans, V. (2003). Effect of enrichment on variation and results in the light/dark test. *Laboratory Animals*, 37(4), 328–340. <https://doi.org/10.1258/002367703322389898>

Aujnarain, A. B., Luo, O. D., Taylor, N., Lai, J. K. Y., & Foster, J. A. (2018). Effects of exercise and enrichment on behaviour in CD-1 mice. *Behavioural Brain Research*, 342, 43–50.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.01.007>

Ayroles, J. F., Buchanan, S. M., O'Leary, C., Skutt-Kakaria, K., Grenier, J. K., Clark, A. G., Hartl, D. L., & de Bivort, B. L. (2015). Behavioral idiosyncrasy reveals genetic control of phenotypic variability. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(21), 6706–6711.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1503830112>

Babbini, M., & Davis, W. M. (1972). Time-dose relationships for locomotor activity effects of morphine after acute or repeated treatment. *British Journal of Pharmacology*, 46(2), 213–224. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1972.tb06866.x>

- Babbini, M., Gaiardi, M., & Bartoletti, M. (1975). Persistence of chronic morphine effects upon activity in rats 8 months after ceasing the treatment. *Neuropharmacology*, *14*(8), 611–614. [https://doi.org/10.1016/0028-3908\(75\)90129-x](https://doi.org/10.1016/0028-3908(75)90129-x)
- Badiani, A., Anagnostaras, S. G., & Robinson, T. E. (1995). The development of sensitization to the psychomotor stimulant effects of amphetamine is enhanced in a novel environment. *Psychopharmacology*, *117*(4), 443–452. <https://doi.org/10.1007/BF02246217>
- Badiani, A., Browman, K. E., & Robinson, T. E. (1995). Influence of novel versus home environments on sensitization to the psychomotor stimulant effects of cocaine and amphetamine. *Brain Research*, *674*(2), 291–298. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(95\)00028-o](https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)00028-o)
- Badiani, A., Oates, M. M., & Robinson, T. E. (2000). Modulation of morphine sensitization in the rat by contextual stimuli. *Psychopharmacology*, *151*(2–3), 273–282. <https://doi.org/10.1007/s002130000447>
- Bahi, A. (2017). Environmental enrichment reduces chronic psychosocial stress-induced anxiety and ethanol-related behaviors in mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *77*, 65–74. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2017.04.001>
- Bahi, A., & Dreyer, J.-L. (2012). Involvement of nucleus accumbens dopamine D1 receptors in ethanol drinking, ethanol-induced conditioned place preference, and ethanol-induced psychomotor sensitization in mice. *Psychopharmacology*, *222*(1), 141–153. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2630-8>
- Bahi, A., & Dreyer, J.-L. (2020). Environmental enrichment decreases chronic psychosocial stress-impaired extinction and reinstatement of ethanol conditioned place preference in C57BL/6 male mice. *Psychopharmacology*, *237*(3), 707–721. <https://doi.org/10.1007/s00213-019-05408-8>
- Bailoo, J. D., Murphy, E., Boada-Saña, M., Varholick, J. A., Hintze, S., Baussière, C., Hahn, K. C., Göpfert, C., Palme, R., Voelkl, B., & Würbel, H. (2018). Effects of Cage Enrichment on Behavior, Welfare and Outcome Variability in Female Mice. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *12*, 232. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2018.00232>

- Bakos, J., Hlavacova, N., Rajman, M., Ondicova, K., Koros, C., Kitraki, E., Steinbusch, H. W. M., & Jezova, D. (2009). Enriched environment influences hormonal status and hippocampal brain derived neurotrophic factor in a sex dependent manner. *Neuroscience*, *164*(2), 788–797. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.08.054>
- Balcombe, J. (2010). Laboratory rodent welfare: Thinking outside the cage. *Journal of Applied Animal Welfare Science: JAAWS*, *13*(1), 77–88. <https://doi.org/10.1080/10888700903372168>
- Balcombe, J. P. (2006). Laboratory environments and rodents' behavioural needs: A review. *Laboratory Animals*, *40*(3), 217–235. <https://doi.org/10.1258/002367706777611488>
- Bale, T. L., & Vale, W. W. (2004). CRF and CRF receptors: Role in stress responsivity and other behaviors. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, *44*, 525–557. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.44.101802.121410>
- Ballaz, S. J., Akil, H., & Watson, S. J. (2007). Previous experience affects subsequent anxiety-like responses in rats bred for novelty seeking. *Behavioral Neuroscience*, *121*(5), 1113–1118. <https://doi.org/10.1037/0735-7044.121.5.1113>
- Banks, K. E., & Gratton, A. (1995). Possible involvement of medial prefrontal cortex in amphetamine-induced sensitization of mesolimbic dopamine function. *European Journal of Pharmacology*, *282*(1–3), 157–167. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(95\)00306-6](https://doi.org/10.1016/0014-2999(95)00306-6)
- Bansal, P., Bingemann, T. A., Greenhawt, M., Mosnaim, G., Nanda, A., Oppenheimer, J., Sharma, H., Stukus, D., & Shaker, M. (2020). Clinician Wellness During the COVID-19 Pandemic: Extraordinary Times and Unusual Challenges for the Allergist/Immunologist. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology. In Practice*, *8*(6), 1781-1790.e3. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2020.04.001>
- Barbosa, A. D., & Morato, G. S. (2001). Influence of neurosteroids on the development of rapid tolerance to ethanol in mice. *European Journal of Pharmacology*, *431*(2), 179–188. [https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(01\)01337-1](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(01)01337-1)
- Bardo, M. T., Donohew, R. L., & Harrington, N. G. (1996). Psychobiology of novelty seeking and drug seeking behavior. *Behavioural Brain Research*, *77*(1–2), 23–43. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(95\)00203-0](https://doi.org/10.1016/0166-4328(95)00203-0)

- Bardo, M. T., Neisewander, J. L., & Kelly, T. H. (2013). Individual differences and social influences on the neurobehavioral pharmacology of abused drugs. *Pharmacological Reviews*, 65(1), 255–290. <https://doi.org/10.1124/pr.111.005124>
- Bardo, M. T., Rowlett, J. K., & Harris, M. J. (1995). Conditioned place preference using opiate and stimulant drugs: A meta-analysis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 19, 39–51. [https://doi.org/10.1016/0149-7634\(94\)00021-R](https://doi.org/10.1016/0149-7634(94)00021-R)
- Barrera, E. D., Loughlin, L., Greenberger, S., Ewing, S., Hachimine, P., & Ranaldi, R. (2021). Environmental enrichment reduces heroin seeking following incubation of craving in both male and female rats. *Drug and Alcohol Dependence*, 226, 108852. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2021.108852>
- Bartoletti, M., Gaiardi, M., Gubellini, G., Bacchi, A., & Babbini, M. (1983). Long-term sensitization to the excitatory effects of morphine. A motility study in post-dependent rats. *Neuropharmacology*, 22(10), 1193–1196. [https://doi.org/10.1016/0028-3908\(83\)90080-1](https://doi.org/10.1016/0028-3908(83)90080-1)
- Bartolomucci, A., Chirieleison, A., Gioiosa, L., Ceresini, G., Parmigiani, S., & Palanza, P. (2004). Age at group formation alters behavior and physiology in male but not female CD-1 mice. *Physiology & Behavior*, 82(2–3), 425–434. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.04.011>
- Bartolomucci, A., Palanza, P., & Parmigiani, S. (2002). Group housed mice: Are they really stressed? *Ethology Ecology & Evolution*, 14(4), 341–350. <https://doi.org/10.1080/08927014.2002.9522735>
- Bartolomucci, A., Palanza, P., Sacerdote, P., Panerai, A. E., Sgoifo, A., Dantzer, R., & Parmigiani, S. (2005). Social factors and individual vulnerability to chronic stress exposure. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 29(1), 67–81. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2004.06.009>
- Baum, A., Garofalo, J. P., & Yali, A. M. (1999). Socioeconomic status and chronic stress. Does stress account for SES effects on health? *Annals of the New York Academy of Sciences*, 896, 131–144. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1999.tb08111.x>
- Baumans, V. (2005). Environmental enrichment for laboratory rodents and rabbits: Requirements of rodents, rabbits, and research. *ILAR Journal*, 46(2), 162–170. <https://doi.org/10.1093/ilar.46.2.162>

- Baumans, V., & Van Loo, P. L. (2013). How to improve housing conditions of laboratory animals: The possibilities of environmental refinement. *The Veterinary Journal*, *195*(1), Article 1. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2012.09.023>
- Bayne, K. (2005). Potential for unintended consequences of environmental enrichment for laboratory animals and research results. *ILAR Journal*, *46*(2), 129–139. <https://doi.org/10.1093/ilar.46.2.129>
- Bayne, K. (2018). Environmental enrichment and mouse models: Current perspectives. *Animal Models and Experimental Medicine*, *1*(2), 82–90. <https://doi.org/10.1002/ame2.12015>
- Bayne, K., & Würbel, H. (2014). The impact of environmental enrichment on the outcome variability and scientific validity of laboratory animal studies. *Revue Scientifique Et Technique (International Office of Epizootics)*, *33*(1), 273–280. <https://doi.org/10.20506/rst.33.1.2282>
- Bechtholt, A. J., Gremel, C. M., & Cunningham, C. L. (2004). Handling blocks expression of conditioned place aversion but not conditioned place preference produced by ethanol in mice. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *79*(4), 739–744. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2004.10.003>
- Becker, H. C., & Hale, R. L. (1993). Repeated episodes of ethanol withdrawal potentiate the severity of subsequent withdrawal seizures: An animal model of alcohol withdrawal “kindling.” *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, *17*(1), 94–98. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1993.tb00731.x>
- Becker, J. B., Arnold, A. P., Berkley, K. J., Blaustein, J. D., Eckel, L. A., Hampson, E., Herman, J. P., Marts, S., Sadee, W., Steiner, M., Taylor, J., & Young, E. (2005). Strategies and methods for research on sex differences in brain and behavior. *Endocrinology*, *146*(4), 1650–1673. <https://doi.org/10.1210/en.2004-1142>
- Becker, J. B., & Cha, J. H. (1989). Estrous cycle-dependent variation in amphetamine-induced behaviors and striatal dopamine release assessed with microdialysis. *Behavioural Brain Research*, *35*(2), 117–125. [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(89\)80112-3](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(89)80112-3)
- Becker, J. B., & Hu, M. (2008). Sex differences in drug abuse. *Frontiers in Neuroendocrinology*, *29*(1), 36–47. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2007.07.003>

- Becker, J. B., Prendergast, B. J., & Liang, J. W. (2016). Female rats are not more variable than male rats: A meta-analysis of neuroscience studies. *Biology of Sex Differences*, 7, 34. <https://doi.org/10.1186/s13293-016-0087-5>
- Beeler, J. A., Frazier, C. R. M., & Zhuang, X. (2012). Dopaminergic enhancement of local food-seeking is under global homeostatic control. *The European Journal of Neuroscience*, 35(1), Article 1. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2011.07916.x>
- Beery, A. K., & Zucker, I. (2011). Sex bias in neuroscience and biomedical research. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 35(3), 565–572. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2010.07.002>
- Belknap, J. K., Crabbe, J. C., & Young, E. R. (1993). Voluntary consumption of ethanol in 15 inbred mouse strains. *Psychopharmacology*, 112(4), Article 4. <https://doi.org/10.1007/BF02244901>
- Belz, E. E., Kennell, J. S., Czambel, R. K., Rubin, R. T., & Rhodes, M. E. (2003). Environmental enrichment lowers stress-responsive hormones in singly housed male and female rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 76(3–4), 481–486. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2003.09.005>
- Benaroya-Milshtein, N., Hollander, N., Apter, A., Kukulansky, T., Raz, N., Wilf, A., Yaniv, I., & Pick, C. G. (2004). Environmental enrichment in mice decreases anxiety, attenuates stress responses and enhances natural killer cell activity. *The European Journal of Neuroscience*, 20(5), 1341–1347. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2004.03587.x>
- Benefiel, A. C., Dong, W. K., & Greenough, W. T. (2005). Mandatory “enriched” housing of laboratory animals: The need for evidence-based evaluation. *ILAR Journal*, 46(2), 95–105. <https://doi.org/10.1093/ilar.46.2.95>
- Benjamin, D., Grant, E. R., & Pohorecky, L. A. (1993). Naltrexone reverses ethanol-induced dopamine release in the nucleus accumbens in awake, freely moving rats. *Brain Research*, 621(1), 137–140. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(93\)90309-b](https://doi.org/10.1016/0006-8993(93)90309-b)
- Bennett, E. L., Rosenzweig, M. R., & Diamond, M. C. (1969). Rat brain: Effects of environmental enrichment on wet and dry weights. *Science (New York, N.Y.)*, 163(3869), 825–826. <https://doi.org/10.1126/science.163.3869.825>

- Bennett, J. C., McRae, P. A., Levy, L. J., & Frick, K. M. (2006). Long-term continuous, but not daily, environmental enrichment reduces spatial memory decline in aged male mice. *Neurobiology of Learning and Memory*, *85*(2), 139–152. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2005.09.003>
- Benwell, M. E., & Balfour, D. J. (1992). The effects of acute and repeated nicotine treatment on nucleus accumbens dopamine and locomotor activity. *British Journal of Pharmacology*, *105*(4), 849–856. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1992.tb09067.x>
- Berardo, L. R., Fabio, M. C., & Pautassi, R. M. (2016). Post-weaning Environmental Enrichment, But Not Chronic Maternal Isolation, Enhanced Ethanol Intake during Periadolescence and Early Adulthood. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *10*. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2016.00195>
- Berdoy, M. (2003). *The Laboratory Rat: A Natural History*. THE LABORATORY RAT : A NATURAL HISTORY. <http://www.ratlife.org/>
- Berg, K. A., Harvey, J. A., Spampinato, U., & Clarke, W. P. (2008). Physiological and therapeutic relevance of constitutive activity of 5-HT 2A and 5-HT 2C receptors for the treatment of depression. *Progress in Brain Research*, *172*, 287–305. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(08\)00914-X](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(08)00914-X)
- Berke, J. D., & Hyman, S. E. (2000). Addiction, dopamine, and the molecular mechanisms of memory. *Neuron*, *25*(3), 515–532. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)81056-9](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)81056-9)
- Berridge, K. C. (1991). Modulation of taste affect by hunger, caloric satiety, and sensory-specific satiety in the rat. *Appetite*, *16*(2), 103–120. [https://doi.org/10.1016/0195-6663\(91\)90036-r](https://doi.org/10.1016/0195-6663(91)90036-r)
- Berridge, K. C., & Robinson, T. E. (2016). Liking, wanting, and the incentive-sensitization theory of addiction. *The American Psychologist*, *71*(8), 670–679. <https://doi.org/10.1037/amp0000059>
- Berridge, K. C., Robinson, T. E., & Aldridge, J. W. (2009). Dissecting components of reward: “liking”, “wanting”, and learning. *Current Opinion in Pharmacology*, *9*(1), 65–73. <https://doi.org/10.1016/j.coph.2008.12.014>

- Berridge, K. C., & Valenstein, E. S. (1991). What psychological process mediates feeding evoked by electrical stimulation of the lateral hypothalamus? *Behavioral Neuroscience*, *105*(1), 3–14. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.105.1.3>
- Berridge, K. C., Venier, I. L., & Robinson, T. E. (1989). Taste reactivity analysis of 6-hydroxydopamine-induced aphagia: Implications for arousal and anhedonia hypotheses of dopamine function. *Behavioral Neuroscience*, *103*(1), 36–45. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.103.1.36>
- Berry, A., Bellisario, V., Capoccia, S., Tirassa, P., Calza, A., Alleva, E., & Cirulli, F. (2012). Social deprivation stress is a triggering factor for the emergence of anxiety- and depression-like behaviours and leads to reduced brain BDNF levels in C57BL/6J mice. *Psychoneuroendocrinology*, *37*(6), Article 6. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2011.09.007>
- Berry, R. J., & Bronson, F. H. (1992). Life History AND BIOECONOMY OF THE House Mouse. *Biological Reviews*, *67*(4), 519–550. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1992.tb01192.x>
- Beseler, C. L., Aharonovich, E., & Hasin, D. S. (2011). The enduring influence of drinking motives on alcohol consumption after fateful trauma. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, *35*(5), 1004–1010. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2010.01431.x>
- Betts, J. M., Dowd, A. N., Forney, M., Hetelekides, E., & Tiffany, S. T. (2021). A Meta-Analysis of Cue Reactivity in Tobacco Cigarette Smokers. *Nicotine & Tobacco Research: Official Journal of the Society for Research on Nicotine and Tobacco*, *23*(2), 249–258. <https://doi.org/10.1093/ntr/ntaa147>
- Bevins, R. A., & Peterson, J. L. (2004). Individual differences in rats' reactivity to novelty and the unconditioned and conditioned locomotor effects of methamphetamine. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *79*(1), 65–74. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2004.06.002>
- Bhutada, P. S., Mundhada, Y. R., Bansod, K. U., Dixit, P. V., Umathe, S. N., & Mundhada, D. R. (2010). Inhibitory influence of mecamylamine on the development and the expression of ethanol-induced locomotor sensitization in mice. *Pharmacology*,

Biochemistry, and Behavior, 96(3), 266–273.
<https://doi.org/10.1016/j.pbb.2010.05.015>

Bindra, D. (1978). How adaptive behavior is produced: A perceptual-motivational alternative to response reinforcements. *Behavioral and Brain Sciences*, 1(1), 41–52.
<https://doi.org/10.1017/S0140525X00059380>

Birch, A. M., & Kelly, Á. M. (2019). Lifelong environmental enrichment in the absence of exercise protects the brain from age-related cognitive decline. *Neuropharmacology*, 145(Pt A), 59–74. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.03.042>

Birch, A. M., McGarry, N. B., & Kelly, A. M. (2013). Short-term environmental enrichment, in the absence of exercise, improves memory, and increases NGF concentration, early neuronal survival, and synaptogenesis in the dentate gyrus in a time-dependent manner. *Hippocampus*, 23(6), 437–450. <https://doi.org/10.1002/hipo.22103>

Bisazza, A. (1981). Social organization and territorial behaviour in three strains of mice. *Bolletino Di Zoologia*, 48(2), 157–167. <https://doi.org/10.1080/11250008109439329>

Blanchard, M. M., Mendelsohn, D., & Stamp, J. A. (2009). The HR/LR model: Further evidence as an animal model of sensation seeking. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 33(7), 1145–1154. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2009.05.009>

Blatt, S. L., & Takahashi, R. N. (1999). Experimental anxiety and the reinforcing effects of ethanol in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista Brasileira De Pesquisas Medicas E Biologicas*, 32(4), 457–461.
<https://doi.org/10.1590/s0100-879x1999000400013>

Blondell, R. D. (2005). Ambulatory detoxification of patients with alcohol dependence. *American Family Physician*, 71(3), 495–502.

Blume, A. W. (2001). Negative reinforcement and substance abuse: Using a behavioral conceptualization to enhance treatment. *The Behavior Analyst Today*, 2(2), 86.
<https://doi.org/10.1037/h0099916>

Boehm, S. L., Goldfarb, K. J., Serio, K. M., Moore, E. M., & Linsenbardt, D. N. (2008). Does context influence the duration of locomotor sensitization to ethanol in female DBA/2J mice? *Psychopharmacology*, 197(2), Article 2. <https://doi.org/10.1007/s00213-007-1022-6>

- Boileau, I., Assaad, J.-M., Pihl, R. O., Benkelfat, C., Leyton, M., Diksic, M., Tremblay, R. E., & Dagher, A. (2003). Alcohol promotes dopamine release in the human nucleus accumbens. *Synapse (New York, N.Y.)*, 49(4), 226–231. <https://doi.org/10.1002/syn.10226>
- Boileau, I., Dagher, A., Leyton, M., Gunn, R. N., Baker, G. B., Diksic, M., & Benkelfat, C. (2006). Modeling sensitization to stimulants in humans: An [¹¹C]raclopride/positron emission tomography study in healthy men. *Archives of General Psychiatry*, 63(12), 1386–1395. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.63.12.1386>
- Bolivar, V. J., Caldarone, B. J., Reilly, A. A., & Flaherty, L. (2000). Habituation of activity in an open field: A survey of inbred strains and F1 hybrids. *Behavior Genetics*, 30(4), 285–293. <https://doi.org/10.1023/a:1026545316455>
- Bolon, B., Barthold, S. W., Boyd, K. L., Brayton, C., Cardiff, R. D., Cork, L. C., Eaton, K. A., Schoeb, T. R., Sundberg, J. P., & Ward, J. M. (2010). Male mice not alone in research. *Science (New York, N.Y.)*, 328(5982), 1103. <https://doi.org/10.1126/science.328.5982.1103-a>
- Bordet, R. (2002). *La sensibilisation comportementale aux psychostimulants: Un modèle d'étude des mécanismes moléculaires de l'addiction*. 16, 6.
- Brabant, C., Quertemont, E., & Tirelli, E. (2005). Evidence that the relations between novelty-induced activity, locomotor stimulation and place preference induced by cocaine qualitatively depend upon the dose: A multiple regression analysis in inbred C57BL/6J mice. *Behavioural Brain Research*, 158(2), Article 2. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2004.08.020>
- Brady, K. T., & Randall, C. L. (1999). Gender differences in substance use disorders. *The Psychiatric Clinics of North America*, 22(2), 241–252. [https://doi.org/10.1016/s0193-953x\(05\)70074-5](https://doi.org/10.1016/s0193-953x(05)70074-5)
- Bragard, E., Giorgi, S., Juneau, P., & Curtis, B. L. (2022). Loneliness and Daily Alcohol Consumption During the COVID-19 Pandemic. *Alcohol and Alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 57(2), 198–202. <https://doi.org/10.1093/alcalc/agab056>
- Brain, P. (1975). Studies on Crowding: A Critical Analysis of the Implications of Studies on Rodents for the Human Situation. *International Journal of Mental Health*, 4(3), 15–30.

- Brain, P., Andrade, M., & Kamal, K. (1989). *Andrade, M.L., Kamal, K.B.H. and Brain, P.F. (1989) Effects of positive and negative fighting experiences on behaviour in adult male mice pp 223-232 In: House Mouse Aggression: A Model for Understanding the Evolution of Social Behaviour, P.F. Brain, D. Mainardi and S. Parmigiani (eds) Harwood Academic Publishers, Chur. (pp. 223–232).*
- Brain, P. F., & Parmigiani, S. (1990). Variation in aggressiveness in house mouse populations. *Biological Journal of the Linnean Society*, 41(1–3), 257–269. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1990.tb00834.x>
- Branchi, I., & Alleva, E. (2006). Communal nesting, an early social enrichment, increases the adult anxiety-like response and shapes the role of social context in modulating the emotional behavior. *Behavioural Brain Research*, 172(2), 299–306. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2006.05.019>
- Branchi, I., D'Andrea, I., Sietzema, J., Fiore, M., Di Fausto, V., Aloe, L., & Alleva, E. (2006). Early social enrichment augments adult hippocampal BDNF levels and survival of BrdU-positive cells while increasing anxiety- and “depression”-like behavior. *Journal of Neuroscience Research*, 83(6), 965–973. <https://doi.org/10.1002/jnr.20789>
- Brandão, N. R. N., Libarino-Santos, M., Marinho, E. a. V., Oliveira, T. S., Borges, A. L. N., Oliveira, A. P., Oliveira-Campos, D., Azevedo-Souza, N., Santos, V. F. L., Berro, L. F., & Oliveira-Lima, A. J. (2020). Treatment with zolpidem after ethanol administration potentiates the expression of ethanol-induced behavioral sensitization in mice. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista Brasileira De Pesquisas Medicas E Biologicas*, 53(8), e10034. <https://doi.org/10.1590/1414-431X202010034>
- Brandon-Warner, E., Schrum, L. W., Schmidt, C. M., & McKillop, I. H. (2012). Rodent Models of Alcoholic Liver Disease: Of Mice and Men. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, 46(8), 715–725. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2012.08.004>
- Brenes, J. C., & Fornaguera, J. (2008). Effects of environmental enrichment and social isolation on sucrose consumption and preference: Associations with depressive-like behavior and ventral striatum dopamine. *Neuroscience Letters*, 436(2), 278–282. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.03.045>

- Brenes, J. C., Padilla, M., & Fornaguera, J. (2009). A detailed analysis of open-field habituation and behavioral and neurochemical antidepressant-like effects in postweaning enriched rats. *Behavioural Brain Research*, *197*(1), Article 1. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.08.014>
- Brenes, J. C., Rodríguez, O., & Fornaguera, J. (2008). Differential effect of environment enrichment and social isolation on depressive-like behavior, spontaneous activity and serotonin and norepinephrine concentration in prefrontal cortex and ventral striatum. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *89*(1), 85–93. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2007.11.004>
- Briones, T. L., Klintsova, A. Y., & Greenough, W. T. (2004). Stability of synaptic plasticity in the adult rat visual cortex induced by complex environment exposure. *Brain Research*, *1018*(1), 130–135. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2004.06.001>
- Broadbent, J., Grahame, N. J., & Cunningham, C. L. (1995). Haloperidol prevents ethanol-stimulated locomotor activity but fails to block sensitization. *Psychopharmacology*, *120*(4), 475–482. <https://doi.org/10.1007/BF02245821>
- Broadbent, J., & Harless, W. E. (1999). Differential effects of GABAA and GABA B agonists on sensitization to the locomotor stimulant effects of ethanol in DBA/2 J mice. *Psychopharmacology*, *141*(2), 197–205. <https://doi.org/10.1007/s002130050825>
- Broadbent, J., Kampmueller, K. M., & Koonse, S. A. (2003). Expression of behavioral sensitization to ethanol by DBA/2J mice: The role of NMDA and non-NMDA glutamate receptors. *Psychopharmacology*, *167*(3), 225–234. <https://doi.org/10.1007/s00213-003-1404-3>
- Broadbent, J., Kampmueller, K. M., & Koonse, S. A. (2005). Role of dopamine in behavioral sensitization to ethanol in DBA/2J mice. *Alcohol*, *35*(2), 137–148. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2005.03.006>
- Brodie, M. S. (2002). Increased ethanol excitation of dopaminergic neurons of the ventral tegmental area after chronic ethanol treatment. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, *26*(7), 1024–1030. <https://doi.org/10.1097/01.ALC.0000021336.33310.6B>
- Brodie, M. S., Pesold, C., & Appel, S. B. (1999). Ethanol directly excites dopaminergic ventral tegmental area reward neurons. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, *23*(11), 1848–1852.

- Brodie, M. S., Shefner, S. A., & Dunwiddie, T. V. (1990). Ethanol increases the firing rate of dopamine neurons of the rat ventral tegmental area in vitro. *Brain Research*, *508*(1), 65–69. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(90\)91118-z](https://doi.org/10.1016/0006-8993(90)91118-z)
- Browman, K. E., Badiani, A., & Robinson, T. E. (1998). Modulatory effect of environmental stimuli on the susceptibility to amphetamine sensitization: A dose-effect study in rats. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *287*(3), 1007–1014.
- Browman, K. E., Rustay, N. R., Nikolaidis, N., Crawshaw, L., & Crabbe, J. C. (2000). Sensitivity and tolerance to ethanol in mouse lines selected for ethanol-induced hypothermia. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *67*(4), 821–829. [https://doi.org/10.1016/s0091-3057\(00\)00427-5](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(00)00427-5)
- Brown, D. J. (1985). The pharmacokinetics of alcohol excretion in human perspiration. *Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology*, *7*(10), 539–544.
- Brown, K. J., & Grunberg, N. E. (1995). Effects of housing on male and female rats: Crowding stresses male but calm females. *Physiology & Behavior*, *58*(6), 1085–1089. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(95\)02043-8](https://doi.org/10.1016/0031-9384(95)02043-8)
- Brown, S. A., Brumback, T., Tomlinson, K., Cummins, K., Thompson, W. K., Nagel, B. J., De Bellis, M. D., Hooper, S. R., Clark, D. B., Chung, T., Hasler, B. P., Colrain, I. M., Baker, F. C., Prouty, D., Pfefferbaum, A., Sullivan, E. V., Pohl, K. M., Rohlfing, T., Nichols, B. N., ... Tapert, S. F. (2015). The National Consortium on Alcohol and NeuroDevelopment in Adolescence (NCANDA): A Multisite Study of Adolescent Development and Substance Use. *Journal of Studies on Alcohol and Drugs*, *76*(6), 895–908. <https://doi.org/10.15288/jsad.2015.76.895>
- Brown, Z. W., Amit, Z., & Rockman, G. E. (1979). Intraventricular self-administration of acetaldehyde, but not ethanol, in naive laboratory rats. *Psychopharmacology*, *64*(3), 271–276. <https://doi.org/10.1007/BF00427509>
- Bruel-Jungerman, E., Laroche, S., & Rampon, C. (2005). New neurons in the dentate gyrus are involved in the expression of enhanced long-term memory following environmental enrichment. *The European Journal of Neuroscience*, *21*(2), 513–521. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2005.03875.x>

- Brunborg, G. S., Raninen, J., & Burdzovic Andreas, J. (2022). Energy drinks and alcohol use among adolescents: A longitudinal study. *Drug and Alcohol Dependence*, 241, 109666. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2022.109666>
- Brust, J. C. M. (2007a). Chapitre 2—La neurobiologie de l'addiction. In *Aspects neurologiques de l'addiction* (pp. 23–51). Elsevier Masson.
- Brust, J. C. M. (2007b). Chapitre 12—Éthanol. In *Aspects neurologiques de l'addiction* (pp. 385–516). Elsevier Masson.
- Burke, A. R., & Miczek, K. A. (2014). Stress in adolescence and drugs of abuse in rodent models: Role of dopamine, CRF, and HPA axis. *Psychopharmacology*, 231(8), 1557–1580. <https://doi.org/10.1007/s00213-013-3369-1>
- Burkett, J. P., & Young, L. J. (2012). The behavioral, anatomical and pharmacological parallels between social attachment, love and addiction. *Psychopharmacology*, 224(1), Article 1. <https://doi.org/10.1007/s00213-012-2794-x>
- Burnett-Zeigler, I., Walton, M. A., Ilgen, M., Barry, K. L., Chermack, S. T., Zucker, R. A., Zimmerman, M. A., Booth, B. M., & Blow, F. C. (2012). Prevalence and correlates of mental health problems and treatment among adolescents seen in primary care. *The Journal of Adolescent Health: Official Publication of the Society for Adolescent Medicine*, 50(6), 559–564. <https://doi.org/10.1016/j.jadohealth.2011.10.005>
- Butler, T. R., Karkhanis, A. N., Jones, S. R., & Weiner, J. L. (2016). Adolescent Social Isolation as a Model of Heightened Vulnerability to Comorbid Alcoholism and Anxiety Disorders. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 40(6), 1202–1214. <https://doi.org/10.1111/acer.13075>
- Byrne, R. W., & Russon, A. E. (1998). Learning by imitation: A hierarchical approach. *The Behavioral and Brain Sciences*, 21(5), 667–684; discussion 684-721. <https://doi.org/10.1017/s0140525x98001745>
- Cacioppo, J. T., & Hawkey, L. C. (2009). Perceived social isolation and cognition. *Trends in Cognitive Sciences*, 13(10), 447–454. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2009.06.005>
- Cadoni, C., Pisanu, A., Solinas, M., Acquas, E., & Di Chiara, G. (2001). Behavioural sensitization after repeated exposure to Delta 9-tetrahydrocannabinol and cross-

- sensitization with morphine. *Psychopharmacology*, 158(3), 259–266. <https://doi.org/10.1007/s002130100875>
- Cait, J., Cait, A., Scott, R. W., Winder, C. B., & Mason, G. J. (2022). Conventional laboratory housing increases morbidity and mortality in research rodents: Results of a meta-analysis. *BMC Biology*, 20(1), 15. <https://doi.org/10.1186/s12915-021-01184-0>
- Caldwell, C. A., & Whiten, A. (2002). Evolutionary perspectives on imitation: Is a comparative psychology of social learning possible? *Animal Cognition*, 5(4), 193–208. <https://doi.org/10.1007/s10071-002-0151-x>
- Calhoun, J. B. (1962). Population density and social pathology. *Scientific American*, 206, 139–148. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0262-139>
- Camarini, R., & Hodge, C. W. (2004). Ethanol preexposure increases ethanol self-administration in C57BL/6J and DBA/2J mice. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 79(4), 623–632. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2004.09.012>
- Camarini, R., Marcourakis, T., Teodorov, E., Yonamine, M., & Calil, H. M. (2011). Ethanol-induced sensitization depends preferentially on D1 rather than D2 dopamine receptors. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 98(2), 173–180. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2010.12.017>
- Camarini, R., Marianno, P., & Rae, M. (2018). Social Factors in Ethanol Sensitization. *International Review of Neurobiology*, 140, 53–80. <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2018.07.003>
- Camarini, R., Nogueira Pires, M. L., & Calil, H. M. (2000). Involvement of the opioid system in the development and expression of sensitization to the locomotor-activating effect of ethanol. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 3(4), 303–309. <https://doi.org/10.1017/S146114570000211X>
- Camarini, R., & Pautassi, R. M. (2016). Behavioral sensitization to ethanol: Neural basis and factors that influence its acquisition and expression. *Brain Research Bulletin*, 125, 53–78. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2016.04.006>
- Camarini, R., Pautassi, R. M., Méndez, M., Quadros, I. M., Souza-Formigoni, M. L., & Boengen-Lacerda, R. (2010). Behavioral and neurochemical studies in distinct animal

- models of ethanol's motivational effects. *Current Drug Abuse Reviews*, 3(4), 205–221. <https://doi.org/10.2174/1874473711003040205>
- Carola, V., D'Olimpio, F., Brunamonti, E., Mangia, F., & Renzi, P. (2002). Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behaviour in inbred mice. *Behavioural Brain Research*, 134(1–2), 49–57. [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(01\)00452-1](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(01)00452-1)
- Carrara-Nascimento, P. F., Griffin, W. C., Pastrello, D. M., Olive, M. F., & Camarini, R. (2011). Changes in extracellular levels of glutamate in the nucleus accumbens after ethanol-induced behavioral sensitization in adolescent and adult mice. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, 45(5), 451–460. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2011.01.002>
- Carrara-Nascimento, P. F., Olive, M. F., & Camarini, R. (2014). Ethanol pre-exposure during adolescence or adulthood increases ethanol intake but ethanol-induced conditioned place preference is enhanced only when pre-exposure occurs in adolescence. *Developmental Psychobiology*, 56(1), 36–48. <https://doi.org/10.1002/dev.21089>
- Casey, B. J., Jones, R. M., & Hare, T. A. (2008). The adolescent brain. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1124, 111–126. <https://doi.org/10.1196/annals.1440.010>
- Castello, S., Revillo, D. A., Molina, J. C., & Arias, C. (2015). Ethanol-induced tolerance and sex-dependent sensitization in preweanling rats. *Physiology & Behavior*, 139, 50–58. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.11.008>
- Cederbaum, A. I. (2012). Alcohol Metabolism. *Clinics in Liver Disease*, 16(4), 667–685. <https://doi.org/10.1016/j.cld.2012.08.002>
- Chandler, K., Dosso, H., Simard, S., Siddiqi, S., Rudyk, C., & Salmaso, N. (2020). Differential Effects of Short-term Environmental Enrichment in Juvenile and Adult Mice. *Neuroscience*, 429, 23–32. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2019.12.028>
- Chappell, A. M., Carter, E., McCool, B. A., & Weiner, J. L. (2013). Adolescent rearing conditions influence the relationship between initial anxiety-like behavior and ethanol drinking in male Long Evans rats. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 37 Suppl 1(Suppl 1), E394-403. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2012.01926.x>
- Chauvet, C., Lardeux, V., Goldberg, S. R., Jaber, M., & Solinas, M. (2009). Environmental enrichment reduces cocaine seeking and reinstatement induced by cues and stress

but not by cocaine. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 34(13), 2767–2778. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.127>

Chester, J. A., & Cunningham, C. L. (1999). GABA(A) receptors modulate ethanol-induced conditioned place preference and taste aversion in mice. *Psychopharmacology*, 144(4), 363–372. <https://doi.org/10.1007/s002130051019>

Childress, A. R., Ehrman, R., McLellan, A. T., MacRae, J., Natale, M., & O'Brien, C. P. (1994). Can induced moods trigger drug-related responses in opiate abuse patients? *Journal of Substance Abuse Treatment*, 11(1), 17–23. [https://doi.org/10.1016/0740-5472\(94\)90060-4](https://doi.org/10.1016/0740-5472(94)90060-4)

Childress, A. R., Ehrman, R. N., Wang, Z., Li, Y., Sciortino, N., Hakun, J., Jens, W., Suh, J., Listerud, J., Marquez, K., Franklin, T., Langleben, D., Detre, J., & O'Brien, C. P. (2008). Prelude to passion: Limbic activation by “unseen” drug and sexual cues. *PLoS One*, 3(1), e1506. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001506>

Choleris, E., & Kavaliers, M. (1999). Social learning in animals: Sex differences and neurobiological analysis. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 64(4), 767–776. [https://doi.org/10.1016/s0091-3057\(99\)00141-0](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(99)00141-0)

Chou, K.-L., Liang, K., & Sareen, J. (2011). The association between social isolation and DSM-IV mood, anxiety, and substance use disorders: Wave 2 of the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions. *The Journal of Clinical Psychiatry*, 72(11), 1468–1476. <https://doi.org/10.4088/JCP.10m06019gy>

Chuck, T. L., McLaughlin, P. J., Arizzi-LaFrance, M. N., Salamone, J. D., & Correa, M. (2006). Comparison between multiple behavioral effects of peripheral ethanol administration in rats: Sedation, ataxia, and bradykinesia. *Life Sciences*, 79(2), 154–161. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.12.045>

Chugani, H. T., Behen, M. E., Muzik, O., Juhász, C., Nagy, F., & Chugani, D. C. (2001). Local brain functional activity following early deprivation: A study of postinstitutionalized Romanian orphans. *NeuroImage*, 14(6), 1290–1301. <https://doi.org/10.1006/nimg.2001.0917>

Chwedorowicz, R., Skarżyński, H., Pucek, W., & Studziński, T. (2017). Neurophysiological maturation in adolescence—Vulnerability and counteracting addiction to alcohol.

- Annals of Agricultural and Environmental Medicine: AAEM*, 24(1), 19–25.
<https://doi.org/10.5604/12321966.1234002>
- Closon, C., Didone, V., Tirelli, E., & Quertemont, E. (2009). Acetaldehyde and the Hypothermic Effects of Ethanol in Mice. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 33(11), 2005–2014. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2009.01039.x>
- Coelhoso, C. C., Engelke, D. S., Filev, R., Silveira, D. X., Mello, L. E., & Santos-Junior, J. G. (2013). Temporal and Behavioral Variability in Cannabinoid Receptor Expression in Outbred Mice Submitted to Ethanol-Induced Locomotor Sensitization Paradigm. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 37(9), 1516–1526. <https://doi.org/10.1111/acer.12130>
- Cole, S. L., Hofford, R. S., Evert, D. J., Wellman, P. J., & Eitan, S. (2013). Social influences on morphine conditioned place preference in adolescent mice. *Addiction Biology*, 18(2), 274–285. <https://doi.org/10.1111/j.1369-1600.2011.00426.x>
- Coleman, L. G., He, J., Lee, J., Styner, M., & Crews, F. T. (2011). Adolescent binge drinking alters adult brain neurotransmitter gene expression, behavior, brain regional volumes, and neurochemistry in mice. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 35(4), 671–688. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2010.01385.x>
- Coleman, L. G., Liu, W., Oguz, I., Styner, M., & Crews, F. T. (2014). Adolescent binge ethanol treatment alters adult brain regional volumes, cortical extracellular matrix protein and behavioral flexibility. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 116, 142–151. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2013.11.021>
- Colombo, G., Vacca, G., Serra, S., Brunetti, G., Carai, M. A. M., & Gessa, G. L. (2003). Baclofen suppresses motivation to consume alcohol in rats. *Psychopharmacology*, 167(3), 221–224. <https://doi.org/10.1007/s00213-003-1397-y>
- Conger, J. J. (1956). Alcoholism: Theory, problem and challenge. II. Reinforcement theory and the dynamics of alcoholism. *Quarterly Journal of Studies on Alcohol*, 17(2), 296–305.
- Conner, R. L., Levine, S., Wertheim, G. A., & Cummer, J. F. (1969). Hormonal determinants of aggressive behavior. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 159(3), 760–776. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1969.tb12977.x>

- Conrad, K. L., & Winder, D. G. (2011). Altered anxiety-like behavior and long-term potentiation in the bed nucleus of the stria terminalis in adult mice exposed to chronic social isolation, unpredictable stress, and ethanol beginning in adolescence. *Alcohol*, 45(6), Article 6. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2010.11.002>
- Cook, M. N., Crouse, M., & Flaherty, L. (2002). Anxiety in the elevated zero-maze is augmented in mice after repeated daily exposure. *Behavior Genetics*, 32(2), 113–118. <https://doi.org/10.1023/a:1015249706579>
- Corbin, W. R., Gearhardt, A., & Fromme, K. (2008). Stimulant alcohol effects prime within session drinking behavior. *Psychopharmacology*, 197(2), 327–337. <https://doi.org/10.1007/s00213-007-1039-x>
- Cornish, J. L., & Kalivas, P. W. (2001). Cocaine sensitization and craving: Differing roles for dopamine and glutamate in the nucleus accumbens. *Journal of Addictive Diseases*, 20(3), 43–54. https://doi.org/10.1300/J069v20n03_05
- Correa, M., Arizzi, M. N., Betz, A., Mingote, S., & Salamone, J. D. (2003). Open field locomotor effects in rats after intraventricular injections of ethanol and the ethanol metabolites acetaldehyde and acetate. *Brain Research Bulletin*, 62(3), 197–202. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2003.09.013>
- Correa, M., Sanchis-Segura, C., Pastor, R., & Aragon, C. M. G. (2004). Ethanol intake and motor sensitization: The role of brain catalase activity in mice with different genotypes. *Physiology & Behavior*, 82(2–3), 231–240. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.03.033>
- Cortés-Patiño, D. M., Serrano, C., & Garcia-Mijares, M. (2016). Early social isolation increases persistence of alcohol-seeking behavior in alcohol-related contexts. *Behavioural Pharmacology*, 27(2-3 Spec Issue), 185–191. <https://doi.org/10.1097/FBP.0000000000000213>
- Cosgrove, K. (2002). Wheel-running attenuates intravenous cocaine self-administration in rats Sex differences. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 73(3), Article 3. [https://doi.org/10.1016/S0091-3057\(02\)00853-5](https://doi.org/10.1016/S0091-3057(02)00853-5)
- Cosgrove, K. P., Hunter, R. G., & Carroll, M. E. (2002). Wheel-running attenuates intravenous cocaine self-administration in rats: Sex differences. *Pharmacology*,

- Biochemistry, and Behavior*, 73(3), Article 3. [https://doi.org/10.1016/s0091-3057\(02\)00853-5](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(02)00853-5)
- Cott, J., Carlsson, A., Engel, J., & Lindqvist, M. (1976). Suppression of ethanol-induced locomotor stimulation by GABA-like drugs. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, 295(3), 203–209. <https://doi.org/10.1007/BF00505087>
- Coune, F. (2015). *Vulnérabilité à la sensibilisation comportementale: Quel lien avec la propension à consommer de l'alcool ?* Université de Picardie Jules Verne.
- Coune, F., Silvestre de Ferron, B., González-Marín, M. C., Antol, J., Naassila, M., & Pierrefiche, O. (2017). Resistance to ethanol sensitization is associated with a loss of synaptic plasticity in the hippocampus. *Synapse (New York, N.Y.)*, 71(2). <https://doi.org/10.1002/syn.21899>
- Covington, H. E., Newman, E. L., Tran, S., Walton, L., Hayek, W., Leonard, M. Z., DeBold, J. F., & Miczek, K. A. (2018). The Urge to Fight: Persistent Escalation by Alcohol and Role of NMDA Receptors in Mice. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 12, 206. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2018.00206>
- Cox, S. M. L., Benkelfat, C., Dagher, A., Delaney, J. S., Durand, F., McKenzie, S. A., Kolivakis, T., Casey, K. F., & Leyton, M. (2009). Striatal dopamine responses to intranasal cocaine self-administration in humans. *Biological Psychiatry*, 65(10), 846–850. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.01.021>
- Crabbe, J. C. (1994). Tolerance to ethanol hypothermia in HOT and COLD mice. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 18(1), 42–46. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1994.tb00878.x>
- Crabbe, J. C., Johnson, N. A., Gray, D. K., Kosobud, A., & Young, E. R. (1982). Biphasic effects of ethanol on open-field activity: Sensitivity and tolerance in C57BL/6N and DBA/2N mice. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 96(3), 440–451. <https://doi.org/10.1037/h0077898>
- Crabbe, J. C., Phillips, T. J., Cunningham, C. L., & Belknap, J. K. (1992). Genetic determinants of ethanol reinforcement. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 654, 302–310. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1992.tb25976.x>

- Crabbe, J. C., Phillips, T. J., Harris, R. A., Arends, M. A., & Koob, G. F. (2006). Alcohol-related genes: Contributions from studies with genetically engineered mice. *Addiction Biology*, *11*(3–4), 195–269. <https://doi.org/10.1111/j.1369-1600.2006.00038.x>
- Crabbe, J. C., Spence, S. E., Brown, L. L., & Metten, P. (2011). Alcohol preference drinking in a mouse line selectively bred for high drinking in the dark. *Alcohol (Fayetteville, N. Y.)*, *45*(5), 427–440. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2010.12.001>
- Crabbe, J. C., Wahlsten, D., & Dudek, B. C. (1999). Genetics of mouse behavior: Interactions with laboratory environment. *Science (New York, N. Y.)*, *284*(5420), 1670–1672. <https://doi.org/10.1126/science.284.5420.1670>
- Creer, D. J., Romberg, C., Saksida, L. M., van Praag, H., & Bussey, T. J. (2010). Running enhances spatial pattern separation in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *107*(5), 2367–2372. <https://doi.org/10.1073/pnas.0911725107>
- Crews, F., He, J., & Hodge, C. (2007). Adolescent cortical development: A critical period of vulnerability for addiction. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *86*(2), 189–199. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2006.12.001>
- Crombag, H. S., Badiani, A., Chan, J., Dell’Orco, J., Dineen, S. P., & Robinson, T. E. (2001). The ability of environmental context to facilitate psychomotor sensitization to amphetamine can be dissociated from its effect on acute drug responsiveness and on conditioned responding. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *24*(6), 680–690. [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(00\)00238-4](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(00)00238-4)
- Cservenka, A., Jones, S. A., & Nagel, B. J. (2015). Reduced cerebellar brain activity during reward processing in adolescent binge drinkers. *Developmental Cognitive Neuroscience*, *16*, 110–120. <https://doi.org/10.1016/j.dcn.2015.06.004>
- Cunningham, C. L., Ferree, N. K., & Howard, M. A. (2003). Apparatus bias and place conditioning with ethanol in mice. *Psychopharmacology*, *170*(4), 409–422. <https://doi.org/10.1007/s00213-003-1559-y>
- Cunningham, C. L., Gremel, C. M., & Groblewski, P. A. (2006). Drug-induced conditioned place preference and aversion in mice. *Nature Protocols*, *1*(4), 1662–1670. <https://doi.org/10.1038/nprot.2006.279>

- Cunningham, C. L., & Henderson, C. M. (2000). Ethanol-induced conditioned place aversion in mice. *Behavioural Pharmacology*, *11*(7–8), 591–602. <https://doi.org/10.1097/00008877-200011000-00006>
- Cunningham, C. L., & Noble, D. (1992). Conditioned activation induced by ethanol: Role in sensitization and conditioned place preference. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *43*(1), 307–313. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(92\)90673-4](https://doi.org/10.1016/0091-3057(92)90673-4)
- Curry, A. (2021). How ancient people fell in love with bread, beer and other carbs. *Nature*, *594*(7864), 488–491. <https://doi.org/10.1038/d41586-021-01681-w>
- Cuzon Carlson, V. C. (2018). GABA and Glutamate Synaptic Coadaptations to Chronic Ethanol in the Striatum. *Handbook of Experimental Pharmacology*, *248*, 79–112. https://doi.org/10.1007/164_2018_98
- Dahlqvist, P., Rönnbäck, A., Bergström, S.-A., Söderström, I., & Olsson, T. (2004). Environmental enrichment reverses learning impairment in the Morris water maze after focal cerebral ischemia in rats. *The European Journal of Neuroscience*, *19*(8), 2288–2298. <https://doi.org/10.1111/j.0953-816X.2004.03248.x>
- Dakwar, E., & Levin, F. R. (2009). The emerging role of meditation in addressing psychiatric illness, with a focus on substance use disorders. *Harvard Review of Psychiatry*, *17*(4), 254–267. <https://doi.org/10.1080/10673220903149135>
- Darlington, T. M., McCarthy, R. D., Cox, R. J., Miyamoto-Ditmon, J., Gallego, X., & Ehringer, M. A. (2016). Voluntary wheel running reduces voluntary consumption of ethanol in mice: Identification of candidate genes through striatal gene expression profiling. *Genes, Brain, and Behavior*, *15*(5), Article 5. <https://doi.org/10.1111/gbb.12294>
- Davies, M. (2003). The role of GABAA receptors in mediating the effects of alcohol in the central nervous system. *Journal of Psychiatry & Neuroscience: JPN*, *28*(4), 263–274.
- Davis, B. A., Clinton, S. M., Akil, H., & Becker, J. B. (2008). The effects of novelty-seeking phenotypes and sex differences on acquisition of cocaine self-administration in selectively bred High-Responder and Low-Responder rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *90*(3), 331–338. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2008.03.008>

- Davis, T. A., Jovanovic, T., Norrholm, S. D., Glover, E. M., Swanson, M., Spann, S., & Bradley, B. (2013). Substance Use Attenuates Physiological Responses Associated With PTSD among Individuals with Co-Morbid PTSD and SUDs. *Journal of Psychology & Psychotherapy, Suppl 7*, 006-. <https://doi.org/10.4172/2161-0487.S7-006>
- Dawson, G. R., Crawford, S. P., Collinson, N., Iversen, S. D., & Tricklebank, M. D. (1995). Evidence that the anxiolytic-like effects of chlordiazepoxide on the elevated plus maze are confounded by increases in locomotor activity. *Psychopharmacology, 118*(3), 316–323. <https://doi.org/10.1007/BF02245961>
- De Bellis, M. D., Clark, D. B., Beers, S. R., Soloff, P. H., Boring, A. M., Hall, J., Kersh, A., & Keshavan, M. S. (2000). Hippocampal volume in adolescent-onset alcohol use disorders. *The American Journal of Psychiatry, 157*(5), 737–744. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.157.5.737>
- De Bellis, M. D., Narasimhan, A., Thatcher, D. L., Keshavan, M. S., Soloff, P., & Clark, D. B. (2005). Prefrontal cortex, thalamus, and cerebellar volumes in adolescents and young adults with adolescent-onset alcohol use disorders and comorbid mental disorders. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research, 29*(9), 1590–1600. <https://doi.org/10.1097/01.alc.0000179368.87886.76>
- De Bellis, M. D., Van Voorhees, E., Hooper, S. R., Gibler, N., Nelson, L., Hege, S. G., Payne, M. E., & MacFall, J. (2008). Diffusion tensor measures of the corpus callosum in adolescents with adolescent onset alcohol use disorders. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research, 32*(3), 395–404. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2007.00603.x>
- De Bono, J. P., Adlam, D., Paterson, D. J., & Channon, K. M. (2006). Novel quantitative phenotypes of exercise training in mouse models. *American Journal of Physiology. Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 290*(4), R926-934. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00694.2005>
- de Carvalho, C. R., Pandolfo, P., Pamplona, F. A., & Takahashi, R. N. (2010). Environmental enrichment reduces the impact of novelty and motivational properties of ethanol in spontaneously hypertensive rats. *Behavioural Brain Research, 208*(1), 231–236. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.11.043>

- de Visser, L., van den Bos, R., & Spruijt, B. M. (2005). Automated home cage observations as a tool to measure the effects of wheel running on cage floor locomotion. *Behavioural Brain Research*, *160*(2), 382–388. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2004.12.004>
- De Waele, J. P., Papachristou, D. N., & Gianoulakis, C. (1992). The alcohol-preferring C57BL/6 mice present an enhanced sensitivity of the hypothalamic beta-endorphin system to ethanol than the alcohol-avoiding DBA/2 mice. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *261*(2), 788–794.
- Deacon, R. M. J., Koros, E., Bornemann, K. D., & Rawlins, J. N. P. (2009). Aged Tg2576 mice are impaired on social memory and open field habituation tests. *Behavioural Brain Research*, *197*(2), 466–468. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.09.042>
- Deehan, G. A., Cain, M. E., & Kiefer, S. W. (2007). Differential rearing conditions alter operant responding for ethanol in outbred rats. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, *31*(10), 1692–1698. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2007.00466.x>
- Deehan, G. A., Palmatier, M. I., Cain, M. E., & Kiefer, S. W. (2011). Differential rearing conditions and alcohol-preferring rats: Consumption of and operant responding for ethanol. *Behavioral Neuroscience*, *125*(2), 184–193. <https://doi.org/10.1037/a0022627>
- Del Arco, A., Segovia, G., Canales, J. J., Garrido, P., de Blas, M., García-Verdugo, J. M., & Mora, F. (2007). Environmental enrichment reduces the function of D1 dopamine receptors in the prefrontal cortex of the rat. *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria: 1996)*, *114*(1), 43–48. <https://doi.org/10.1007/s00702-006-0565-8>
- Del Arco, A., Segovia, G., Garrido, P., de Blas, M., & Mora, F. (2007). Stress, prefrontal cortex and environmental enrichment: Studies on dopamine and acetylcholine release and working memory performance in rats. *Behavioural Brain Research*, *176*(2), 267–273. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2006.10.006>
- Delaroque, C., Chervy, M., Gewirtz, A. T., & Chassaing, B. (2021). Social overcrowding impacts gut microbiota, promoting stress, inflammation, and dysglycemia. *Gut Microbes*, *13*(1), 2000275. <https://doi.org/10.1080/19490976.2021.2000275>
- Dellu, F., Piazza, P. V., Mayo, W., Le Moal, M., & Simon, H. (1996). Novelty-seeking in rats—Biobehavioral characteristics and possible relationship with the sensation-

- seeking trait in man. *Neuropsychobiology*, 34(3), 136–145. <https://doi.org/10.1159/000119305>
- Deroche, V., Piazza, P. V., Casolini, P., Maccari, S., Le Moal, M., & Simon, H. (1992). Stress-induced sensitization to amphetamine and morphine psychomotor effects depend on stress-induced corticosterone secretion. *Brain Research*, 598(1–2), 343–348. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(92\)90205-n](https://doi.org/10.1016/0006-8993(92)90205-n)
- Dervaux, A., & Laqueille, X. (2017). [Thiamine (vitamin B1) treatment in patients with alcohol dependence]. *Presse Medicale (Paris, France: 1983)*, 46(2 Pt 1), 165–171. <https://doi.org/10.1016/j.lpm.2016.07.025>
- Desikan, A., Wills, D. N., & Ehlers, C. L. (2014). Ontogeny and adolescent alcohol exposure in Wistar rats: Open field conflict, light/dark box and forced swim test. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 122, 279–285. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2014.04.011>
- Dewsbury, D. A. (1983). A comparative study of rodent social behavior in a seminatural enclosure. *Aggressive Behavior*, 9(3), 207–215. [https://doi.org/10.1002/1098-2337\(1983\)9:3<207::AID-AB2480090302>3.0.CO;2-8](https://doi.org/10.1002/1098-2337(1983)9:3<207::AID-AB2480090302>3.0.CO;2-8)
- Di Chiara, G., & Imperato, A. (1988). Drugs abused by humans preferentially increase synaptic dopamine concentrations in the mesolimbic system of freely moving rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85(14), 5274–5278. <https://doi.org/10.1073/pnas.85.14.5274>
- Diamond, I., & Messing, R. O. (1994). Neurologic effects of alcoholism. *The Western Journal of Medicine*, 161(3), 279–287.
- Diamond, M. C. (2001). Response of the brain to enrichment. *Anais Da Academia Brasileira De Ciencias*, 73(2), 211–220. <https://doi.org/10.1590/s0001-37652001000200006>
- Diamond, M. C., Greer, E. R., York, A., Lewis, D., Barton, T., & Lin, J. (1987). Rat cortical morphology following crowded-enriched living conditions. *Experimental Neurology*, 96(2), 241–247. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(87\)90042-2](https://doi.org/10.1016/0014-4886(87)90042-2)
- Diamond, M. C., Krech, D., & Rosenzweig, M. R. (1964). The effects of an enriched environment on the histology of the rat cerebral cortex. *The Journal of Comparative Neurology*, 123, 111–120. <https://doi.org/10.1002/cne.901230110>

- Diana, M., Pistis, M., Carboni, S., Gessa, G. L., & Rossetti, Z. L. (1993). Profound decrement of mesolimbic dopaminergic neuronal activity during ethanol withdrawal syndrome in rats: Electrophysiological and biochemical evidence. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *90*(17), 7966–7969. <https://doi.org/10.1073/pnas.90.17.7966>
- Diaz-Granados, J. L., & Graham, D. L. (2007). The effects of continuous and intermittent ethanol exposure in adolescence on the aversive properties of ethanol during adulthood. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, *31*(12), 2020–2027. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2007.00534.x>
- Dickinson, S. D., Kashawny, S. K., Thiebes, K. P., & Charles, D. Y. (2009). Decreased sensitivity to ethanol reward in adolescent mice as measured by conditioned place preference. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, *33*(7), 1246–1251. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2009.00950.x>
- Dickson, P. E., & Mittleman, G. (2021). Environmental enrichment influences novelty reactivity, novelty preference, and anxiety via distinct genetic mechanisms in C57BL/6J and DBA/2J mice. *Scientific Reports*, *11*(1), 3928. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-83574-6>
- Didone, V. (2014). *Sensibilisation à l'alcool: Facteurs comportementaux, contextuels et neurobiologiques*. Université de Liège.
- Didone, V., Masson, S., Quoilin, C., Seutin, V., & Quertemont, E. (2016). Correlation between ethanol behavioral sensitization and midbrain dopamine neuron reactivity to ethanol: Ethanol sensitization. *Addiction Biology*, *21*(2), Article 2. <https://doi.org/10.1111/adb.12216>
- Didone, V., Quoilin, C., Dieupart, J., Tirelli, E., & Quertemont, E. (2016). Differential effects of context on psychomotor sensitization to ethanol and cocaine. *Behavioural Pharmacology*, *27*(2-3 Spec Issue), 173–181. <https://doi.org/10.1097/FBP.000000000000161>
- Didone, V., Quoilin, C., Tirelli, E., & Quertemont, E. (2008). 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*, *201*(2), Article 2. <https://doi.org/10.1007/s00213-008-1266-9>

- Didone, V., van Ingelgom, T., Tirelli, E., & Quertemont, E. (2019). Long-term exposure to daily ethanol injections in DBA/2J and Swiss mice: Lessons for the interpretation of ethanol sensitization. *PLOS ONE*, *14*(11), Article 11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0214696>
- Dietrich, L., Meister, J., Dietrich, O., Notroff, J., Kiep, J., Heeb, J., Beuger, A., & Schütt, B. (2019). Cereal processing at Early Neolithic Göbekli Tepe, southeastern Turkey. *PLOS ONE*, *14*(5), e0215214. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215214>
- Dietrich, O., Heun, M., Notroff, J., Schmidt, K., & Zarnkow, M. (2012). The role of cult and feasting in the emergence of Neolithic communities. New evidence from Göbekli Tepe, south-eastern Turkey. *Antiquity*, *86*, 674–695. <https://doi.org/10.1017/S0003598X00047840>
- Ding, Z.-M., Oster, S. M., Hall, S. R., Engleman, E. A., Hauser, S. R., McBride, W. J., & Rodd, Z. A. (2011). The stimulating effects of ethanol on ventral tegmental area dopamine neurons projecting to the ventral pallidum and medial prefrontal cortex in female Wistar rats: Regional difference and involvement of serotonin-3 receptors. *Psychopharmacology*, *216*(2), 245–255. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2208-5>
- Ding, Z.-M., Rodd, Z. A., Engleman, E. A., & McBride, W. J. (2009). Sensitization of ventral tegmental area dopamine neurons to the stimulating effects of ethanol. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, *33*(9), 1571–1581. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2009.00985.x>
- Donovan, M., Mackey, C. S., Platt, G. N., Rounds, J., Brown, A. N., Trickey, D. J., Liu, Y., Jones, K. M., & Wang, Z. (2020). Social isolation alters behavior, the gut-immune-brain axis, and neurochemical circuits in male and female prairie voles. *Neurobiology of Stress*, *13*, 100278. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2020.100278>
- Doreste-Mendez, R., Ríos-Ruiz, E. J., Rivera-López, L. L., Gutierrez, A., & Torres-Reveron, A. (2019). Effects of Environmental Enrichment in Maternally Separated Rats: Age and Sex-Specific Outcomes. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *13*, 198. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2019.00198>
- Douglas, W. (2010). *Mouse Behavioral Testing: How to Use Mice in Behavioral Neuroscience* (First Edition). Elsevier.

- Dowling, G. J., Weiss, S. R. B., & Condon, T. P. (2008). Drugs of abuse and the aging brain. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 33(2), 209–218. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301412>
- Downs, A. W., & Eddy, N. B. (1932). The effects of repeated doses of cocaine on the rat. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 46(2), 199–200.
- Drissi, I., Deschamps, C., Fouquet, G., Alary, R., Peineau, S., Gosset, P., Sueur, H., Marcq, I., Debuyscher, V., Naassila, M., Vilpoux, C., & Pierrefiche, O. (2020). Memory and plasticity impairment after binge drinking in adolescent rat hippocampus: GluN2A/GluN2B NMDA receptor subunits imbalance through HDAC2. *Addiction Biology*, 25(3), e12760. <https://doi.org/10.1111/adb.12760>
- Du Preez, A., Onorato, D., Eiben, I., Musaelyan, K., Egeland, M., Zunszain, P. A., Fernandes, C., Thuret, S., & Pariante, C. M. (2021). Chronic stress followed by social isolation promotes depressive-like behaviour, alters microglial and astrocyte biology and reduces hippocampal neurogenesis in male mice. *Brain, Behavior, and Immunity*, 91, 24–47. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2020.07.015>
- Dubowski, K. M. (1980). Alcohol Determination in the Clinical Laboratory. *American Journal of Clinical Pathology*, 74(5), 747–750. <https://doi.org/10.1093/ajcp/74.5.747>
- Dudek, B. C., Phillips, T. J., & Hahn, M. E. (1991). Genetic analyses of the biphasic nature of the alcohol dose-response curve. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 15(2), 262–269. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1991.tb01867.x>
- Dudek, K. A., Dion-Albert, L., Kaufmann, F. N., Tuck, E., Lebel, M., & Menard, C. (2021). Neurobiology of resilience in depression: Immune and vascular insights from human and animal studies. *The European Journal of Neuroscience*, 53(1), 183–221. <https://doi.org/10.1111/ejn.14547>
- Edwards, G., Arif, A., & Hadgson, R. (1981). Nomenclature and classification of drug- and alcohol-related problems: A WHO Memorandum. *Bulletin of the World Health Organization*, 59(2), 225–242.
- Einon, D. F., & Morgan, M. J. (1977). A critical period for social isolation in the rat. *Developmental Psychobiology*, 10(2), 123–132. <https://doi.org/10.1002/dev.420100205>

- Eisener-Dorman, A. F., Grabowski-Boase, L., & Tarantino, L. M. (2011). Cocaine locomotor activation, sensitization and place preference in six inbred strains of mice. *Behavioral and Brain Functions*, 7(1), 29. <https://doi.org/10.1186/1744-9081-7-29>
- Ekhtiari, H., Nasser, P., Yavari, F., Mokri, A., & Monterosso, J. (2016). Neuroscience of drug craving for addiction medicine: From circuits to therapies. *Progress in Brain Research*, 223, 115–141. <https://doi.org/10.1016/bs.pbr.2015.10.002>
- El Rawas, R., Thiriet, N., Lardeux, V., Jaber, M., & Solinas, M. (2009). Environmental enrichment decreases the rewarding but not the activating effects of heroin. *Psychopharmacology*, 203(3), 561–570. <https://doi.org/10.1007/s00213-008-1402-6>
- Elliott, B. M., & Grunberg, N. E. (2005). Effects of social and physical enrichment on open field activity differ in male and female Sprague-Dawley rats. *Behavioural Brain Research*, 165(2), 187–196. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2005.06.025>
- Eliot, L., Beery, A. K., Jacobs, E. G., LeBlanc, H. F., Maney, D. L., & McCarthy, M. M. (2023). Why and How to Account for Sex and Gender in Brain and Behavioral Research. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 43(37), 6344–6356. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0020-23.2023>
- Elvig, S. K., McGinn, M. A., Smith, C., Arends, M. A., Koob, G. F., & Vendruscolo, L. F. (2021). Tolerance to alcohol: A critical yet understudied factor in alcohol addiction. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 204, 173155. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2021.173155>
- Emond, M., Faubert, S., & Perkins, M. (2003). Social conflict reduction program for male mice. *Contemporary Topics in Laboratory Animal Science*.
- Engineer, N. D., Percaccio, C. R., Pandya, P. K., Moucha, R., Rathbun, D. L., & Kilgard, M. P. (2004). Environmental enrichment improves response strength, threshold, selectivity, and latency of auditory cortex neurons. *Journal of Neurophysiology*, 92(1), 73–82. <https://doi.org/10.1152/jn.00059.2004>
- Erol, A., & Karpyak, V. M. (2015). Sex and gender-related differences in alcohol use and its consequences: Contemporary knowledge and future research considerations. *Drug and Alcohol Dependence*, 156, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2015.08.023>

- Escarabajal, M. D., De Witte, P., & Quertemont, E. (2003). Role of acetaldehyde in ethanol-induced conditioned taste aversion in rats. *Psychopharmacology*, *167*(2), 130–136. <https://doi.org/10.1007/s00213-003-1427-9>
- Eskola, S., Lauhikari, M., Voipio, H.-M., Laitinen, M., & Nevalainen, T. (1999). Environmental enrichment may alter the number of rats needed to achieve statistical significance. *Scandinavian Journal of Laboratory Animal Science*, *26*(3), Article 3. <https://doi.org/10.23675/sjlas.v26i3.845>
- Estevez, A., Jauregui, P., & Lopez-Gonzalez, H. (2019). Attachment and behavioral addictions in adolescents: The mediating and moderating role of coping strategies. *Scandinavian Journal of Psychology*, *60*(4), 348–360. <https://doi.org/10.1111/sjop.12547>
- Estevez, A., Jáuregui, P., Sánchez-Marcos, I., López-González, H., & Griffiths, M. D. (2017). Attachment and emotion regulation in substance addictions and behavioral addictions. *Journal of Behavioral Addictions*, *6*(4), 534–544. <https://doi.org/10.1556/2006.6.2017.086>
- Ettenberg, A. (1989). Dopamine, neuroleptics and reinforced behavior. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *13*(2–3), 105–111. [https://doi.org/10.1016/s0149-7634\(89\)80018-1](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(89)80018-1)
- Everitt, B. J., & Robbins, T. W. (1992). Amygdala-ventral striatal interactions and reward-related processes. In *The amygdala: Neurobiological aspects of emotion, memory, and mental dysfunction* (pp. 401–429). Wiley-Liss.
- Farbstein, D., Hollander, N., Peled, O., Apter, A., Fennig, S., Haberman, Y., Gitman, H., Yaniv, I., Shkalim, V., Pick, C. G., & Benaroya-Milshtein, N. (2021). Social isolation in mice: Behavior, immunity, and tumor growth. *Stress (Amsterdam, Netherlands)*, *24*(2), 229–238. <https://doi.org/10.1080/10253890.2020.1777976>
- Faria, R. R., Lima Rueda, A. V., Sayuri, C., Soares, S. L., Malta, M. B., Carrara-Nascimento, P. F., da Silva Alves, A., Marcourakis, T., Yonamine, M., Scavone, C., Giorgetti Britto, L. R., & Camarini, R. (2008). Environmental modulation of ethanol-induced locomotor activity: Correlation with neuronal activity in distinct brain regions of adolescent and adult Swiss mice. *Brain Research*, *1239*, 127–140. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2008.08.056>

- Farmer, J., Zhao, X., van Praag, H., Wodtke, K., Gage, F. H., & Christie, B. R. (2004). Effects of voluntary exercise on synaptic plasticity and gene expression in the dentate gyrus of adult male Sprague-Dawley rats in vivo. *Neuroscience*, *124*(1), 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2003.09.029>
- Fee, J. R., Sparta, D. R., Picker, M. J., & Thiele, T. E. (2007). Corticotropin releasing factor-1 receptor antagonist, CP-154,526, blocks the expression of ethanol-induced behavioral sensitization in DBA/2J mice. *Neuroscience*, *150*(1), 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2007.08.027>
- Fei, X.-Y., Liu, S., Sun, Y.-H., & Cheng, L. (2019). Social isolation improves the performance of rodents in a novel cognitive flexibility task. *Frontiers in Zoology*, *16*, 43. <https://doi.org/10.1186/s12983-019-0339-4>
- Fein, G., Greenstein, D., Cardenas, V. A., Cuzen, N. L., Fouche, J.-P., Ferrett, H., Thomas, K., & Stein, D. J. (2013). Cortical and subcortical volumes in adolescents with alcohol dependence but without substance or psychiatric comorbidities. *Psychiatry Research*, *214*(1), 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.psychresns.2013.06.001>
- Fernández, V., Fernández, B., & Adaro, L. (2003). Early polysensorial enrichment: Specific experience-induced structural changes in the parieto-occipital cortex of the rat. *Growth, Development, and Aging: GDA*, *67*(1), 3–10.
- Fernández-Teruel, A., Giménez-Llort, L., Escorihuela, R. M., Gil, L., Aguilar, R., Steimer, T., & Tobeña, A. (2002). Early-life handling stimulation and environmental enrichment: Are some of their effects mediated by similar neural mechanisms? *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *73*(1), 233–245. [https://doi.org/10.1016/s0091-3057\(02\)00787-6](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(02)00787-6)
- Ferrari, P. F., Palanza, P., Parmigiani, S., & Rodgers, R. J. (1998). Interindividual variability in Swiss male mice: Relationship between social factors, aggression, and anxiety. *Physiology & Behavior*, *63*(5), 821–827. [https://doi.org/10.1016/s0031-9384\(97\)00544-1](https://doi.org/10.1016/s0031-9384(97)00544-1)
- Ferraz, I. C., & Boerngen-Lacerda, R. (2008). Serotonin 5-HT₂ receptor antagonist does not reverse established ethanol-induced sensitization but blocks its development and expression. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *88*(4), 456–464. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2007.10.002>

- Ferreira, S. E. M. M., Soares, L. M., Lira, C. R., Yokoyama, T. S., Engi, S. A., Cruz, F. C., & Leão, R. M. (2021). Ethanol-induced locomotor sensitization: Neuronal activation in the nucleus accumbens and medial prefrontal cortex. *Neuroscience Letters*, *749*, 135745. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2021.135745>
- Festing, M. F. (1999). Reduction in animal use in the production and testing of biologicals. *Developments in Biological Standardization*, *101*, 195–200.
- Festing, M. F. W. (2010). Inbred strains should replace outbred stocks in toxicology, safety testing, and drug development. *Toxicologic Pathology*, *38*(5), 681–690. <https://doi.org/10.1177/0192623310373776>
- File, S. E. (1990). One-trial tolerance to the anxiolytic effects of chlordiazepoxide in the plus-maze. *Psychopharmacology*, *100*(2), 281–282. <https://doi.org/10.1007/BF02244419>
- File, S. E. (2001). Factors controlling measures of anxiety and responses to novelty in the mouse. *Behavioural Brain Research*, *125*(1–2), 151–157. [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(01\)00292-3](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(01)00292-3)
- File, S. E., Mabbutt, P. S., & Hitchcott, P. K. (1990). Characterisation of the phenomenon of “one-trial tolerance” to the anxiolytic effect of chlordiazepoxide in the elevated plus-maze. *Psychopharmacology*, *102*(1), 98–101. <https://doi.org/10.1007/BF02245751>
- Fischer, M. L., Rodrigues, G. S., Agüero, W. P., Zotz, R., & Simão-Silva, D. P. (2021). Refinement as ethics principle in animal research: Is it necessary to standardize the Environmental enrichment in laboratory animals? *Anais Da Academia Brasileira De Ciencias*, *93*(1), e20191526. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202120191526>
- Fish, E. W., DeBold, J. F., & Miczek, K. A. (2002). Repeated alcohol: Behavioral sensitization and alcohol-heightened aggression in mice. *Psychopharmacology*, *160*(1), 39–48. <https://doi.org/10.1007/s00213-001-0934-9>
- Fleisch Marcus, A., Illescas, A. H., Hohl, B. C., & Llanos, A. A. M. (2017). Relationships between social isolation, neighborhood poverty, and cancer mortality in a population-based study of US adults. *PloS One*, *12*(3), e0173370. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173370>

- Foddai, M., Dosia, G., Spiga, S., & Diana, M. (2004). Acetaldehyde increases dopaminergic neuronal activity in the VTA. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 29(3), 530–536. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300326>
- Foltz, C., Carbone, L., DeLong, D., Rollin, B. E., Van Loo, P., Whitaker, J., & Wolff, A. (2007). Considerations for determining optimal mouse caging density. *Lab Animal*, 36(10), 40–49. <https://doi.org/10.1038/lablan1107-40>
- Fone, K. C. F., & Porkess, M. V. (2008). Behavioural and neurochemical effects of post-weaning social isolation in rodents-relevance to developmental neuropsychiatric disorders. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 32(6), 1087–1102. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.03.003>
- Font, L., Aragon, C. M. G., & Miquel, M. (2006). Ethanol-induced conditioned place preference, but not aversion, is blocked by treatment with D -penicillamine, an inactivation agent for acetaldehyde. *Psychopharmacology*, 184(1), 56–64. <https://doi.org/10.1007/s00213-005-0224-z>
- Font, L., Luján, M. Á., & Pastor, R. (2013). Involvement of the endogenous opioid system in the psychopharmacological actions of ethanol: The role of acetaldehyde. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 7, 93. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2013.00093>
- Fontana, D., Post, R. M., Weiss, S. R. B., & Pert, A. (1993). The role of D1 and D2 dopamine receptors in the acquisition and expression of cocaine-induced conditioned increases in locomotor behavior. *Behavioural Pharmacology*, 4(4), 375–387.
- Fontesse, S., Demoulin, S., Stinglhamber, F., & Maurage, P. (2019). Dehumanization of psychiatric patients: Experimental and clinical implications in severe alcohol-use disorders. *Addictive Behaviors*, 89, 216–223. <https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2018.08.041>
- Forsander, O. A. (1988). The interaction between voluntary alcohol consumption and dietary choice. *Alcohol and Alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 23(2), 143–149.
- Forsander, O. A. (1994). Hypothesis: Factors involved in the mechanisms regulating food intake affect alcohol consumption. *Alcohol and Alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 29(5), 503–512.

- Fosnocht, A. Q., Lucerne, K. E., Ellis, A. S., Olimpo, N. A., & Briand, L. A. (2019). Adolescent social isolation increases cocaine seeking in male and female mice. *Behavioural Brain Research*, *359*, 589–596. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.10.007>
- Franco, N. H., Kerton, A., & Lewis, D. I. (2023). Education in laboratory animal science and the 3Rs. *Laboratory Animals*, *57*(2), 109–111. <https://doi.org/10.1177/00236772231162166>
- Franklin, K. M., Engleman, E. A., Ingraham, C. M., McClaren, J. A., Keith, C. M., McBride, W. J., & Murphy, J. M. (2009). A single, moderate ethanol exposure alters extracellular dopamine levels and dopamine d receptor function in the nucleus accumbens of wistar rats. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, *33*(10), 1721–1730. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2009.01009.x>
- Fraser, D. (2009). Assessing animal welfare: Different philosophies, different scientific approaches. *Zoo Biology*, *28*(6), 507–518. <https://doi.org/10.1002/zoo.20253>
- Freese, L., Almeida, F. B., Heidrich, N., Hansen, A. W., Steffens, L., Steinmetz, A., Moura, D. J., Gomez, R., & Barros, H. M. T. (2018). Environmental enrichment reduces cocaine neurotoxicity during cocaine-conditioned place preference in male rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *169*, 10–15. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2018.04.001>
- Freund, J., Brandmaier, A. M., Lewejohann, L., Kirste, I., Kritzler, M., Krüger, A., Sachser, N., Lindenberger, U., & Kempermann, G. (2013). Emergence of individuality in genetically identical mice. *Science (New York, N.Y.)*, *340*(6133), 756–759. <https://doi.org/10.1126/science.1235294>
- Frick, K. M., & Fernandez, S. M. (2003). Enrichment enhances spatial memory and increases synaptophysin levels in aged female mice. *Neurobiology of Aging*, *24*(4), 615–626. [https://doi.org/10.1016/s0197-4580\(02\)00138-0](https://doi.org/10.1016/s0197-4580(02)00138-0)
- Friedman, S. B., & Ader, R. (1967). Adrenocortical Response to Novelty and Noxious Stimulation. *Neuroendocrinology*, *2*(4), 209–212. <https://doi.org/10.1159/000121549>
- Friske, J. E., & Gammie, S. C. (2005). Environmental enrichment alters plus maze, but not maternal defense performance in mice. *Physiology & Behavior*, *85*(2), 187–194. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2005.03.022>

- Froberg-Fejko, K. M. (2008). Addressing the environmental enrichment needs of mice: Thinking outside the cage. *Lab Animal*, 37(11), Article 11. <https://doi.org/10.1038/labani1108-534>
- Frye, G. D., & Breese, G. R. (1981). An evaluation of the locomotor stimulating action of ethanol in rats and mice. *Psychopharmacology*, 75(4), 372–379. <https://doi.org/10.1007/BF00435856>
- Fukushiro, D. F., Josino, F. S., Saito, L. P., Berro, L. F., Morgado, F., & Frussa-Filho, R. (2012). Acute and chronic ethanol differentially modify the emotional significance of a novel environment: Implications for addiction. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 15(8), 1109–1120. <https://doi.org/10.1017/S1461145711001283>
- Fureix, C., Walker, M., Harper, L., Reynolds, K., Saldivia-Woo, A., & Mason, G. (2016). Stereotypic behaviour in standard non-enriched cages is an alternative to depression-like responses in C57BL/6 mice. *Behavioural Brain Research*, 305, 186–190. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.02.005>
- Fuss, J., Ben Abdallah, N. M.-B., Vogt, M. A., Touma, C., Pacifici, P. G., Palme, R., Witzemann, V., Hellweg, R., & Gass, P. (2010). Voluntary exercise induces anxiety-like behavior in adult C57BL/6J mice correlating with hippocampal neurogenesis. *Hippocampus*, 20(3), 364–376. <https://doi.org/10.1002/hipo.20634>
- Gaiardi, M., Bartoletti, M., Bacchi, A., Gubellini, C., Costa, M., & Babbini, M. (1991). Role of repeated exposure to morphine in determining its affective properties: Place and taste conditioning studies in rats. *Psychopharmacology*, 103(2), 183–186. <https://doi.org/10.1007/BF02244201>
- Galaj, E., Manuszak, M., & Ranaldi, R. (2016). Environmental enrichment as a potential intervention for heroin seeking. *Drug and Alcohol Dependence*, 163, 195–201. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2016.04.016>
- Galani, R., Berthel, M.-C., Lazarus, C., Majchrzak, M., Barbelivien, A., Kelche, C., & Cassel, J.-C. (2007). The behavioral effects of enriched housing are not altered by serotonin depletion but enrichment alters hippocampal neurochemistry. *Neurobiology of Learning and Memory*, 88(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2007.03.009>

- Gallego, X., Cox, R. J., Funk, E., Foster, R. A., & Ehringer, M. A. (2015). Voluntary exercise decreases ethanol preference and consumption in C57BL/6 adolescent mice: Sex differences and hippocampal BDNF expression. *Physiology & Behavior*, *138*, 28–36. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.10.008>
- Gallegos, R. A., Lee, R. S., Criado, J. R., Henriksen, S. J., & Steffensen, S. C. (1999). Adaptive responses of gamma-aminobutyric acid neurons in the ventral tegmental area to chronic ethanol. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *291*(3), 1045–1053.
- Gamallo, A., Villanua, A., Trancho, G., & Fraile, A. (1986). Stress adaptation and adrenal activity in isolated and crowded rats. *Physiology & Behavior*, *36*(2), 217–221. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(86\)90006-5](https://doi.org/10.1016/0031-9384(86)90006-5)
- Garcia, E. J., Haddon, T. N., Saucier, D. A., & Cain, M. E. (2017). Differential housing and novelty response: Protection and risk from locomotor sensitization. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *154*, 20–30. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2017.01.004>
- Garcia-Keller, C., Martinez, S. A., Esparza, M. A., Bollati, F., Kalivas, P. W., & Cancela, L. M. (2013). Cross-sensitization between cocaine and acute restraint stress is associated with sensitized dopamine but not glutamate release in the nucleus accumbens. *The European Journal of Neuroscience*, *37*(6), 982–995. <https://doi.org/10.1111/ejn.12121>
- Gardner, E. L. (2011). Addiction and brain reward and antireward pathways. *Advances in Psychosomatic Medicine*, *30*, 22–60. <https://doi.org/10.1159/000324065>
- Garey, J., Kow, L.-M., Huynh, W., Ogawa, S., & Pfaff, D. W. (2002). Temporal and spatial quantitation of nesting and mating behaviors among mice housed in a semi-natural environment. *Hormones and Behavior*, *42*(3), 294–306. <https://doi.org/10.1006/hbeh.2002.1823>
- Garner, J. P. (2005). Stereotypies and other abnormal repetitive behaviors: Potential impact on validity, reliability, and replicability of scientific outcomes. *ILAR Journal*, *46*(2), 106–117. <https://doi.org/10.1093/ilar.46.2.106>
- Garrido, P., De Blas, M., Ronzoni, G., Cordero, I., Antón, M., Giné, E., Santos, A., Del Arco, A., Segovia, G., & Mora, F. (2013). Differential effects of environmental enrichment and isolation housing on the hormonal and neurochemical responses to stress in the

- prefrontal cortex of the adult rat: Relationship to working and emotional memories. *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria: 1996)*, 120(5), 829–843. <https://doi.org/10.1007/s00702-012-0935-3>
- Gärtner, K. (1990). A third component causing random variability beside environment and genotype. A reason for the limited success of a 30 year long effort to standardize laboratory animals? *Laboratory Animals*, 24(1), 71–77. <https://doi.org/10.1258/002367790780890347>
- Gass, J. T., Glen, W. B., McGonigal, J. T., Trantham-Davidson, H., Lopez, M. F., Randall, P. K., Yaxley, R., Floresco, S. B., & Chandler, L. J. (2014). Miller. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 39(11), 2570–2583. <https://doi.org/10.1038/npp.2014.109>
- Genova, L., Berke, J., & Hyman, S. E. (1997). Molecular Adaptations to Psychostimulants in Striatal Neurons: Toward a Pathophysiology of Addiction. *Neurobiology of Disease*, 4(3), 239–246. <https://doi.org/10.1006/nbdi.1997.0154>
- Gessner, P. K. (1973). Effect of trichloroethanol and of chloral hydrate on the in vivo rate of disappearance of ethanol in mice. *Archives Internationales De Pharmacodynamie Et De Therapie*, 202(2), 392–401.
- Geuzaine, A., & Tirelli, E. (2014). Wheel-running mitigates psychomotor sensitization initiation but not post-sensitization conditioned activity and conditioned place preference induced by cocaine in mice. *Behavioural Brain Research*, 262, 57–67. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2014.01.002>
- Gianoulakis, C. (1990). Characterization of the effects of acute ethanol administration on the release of β -endorphin peptides by the rat hypothalamus. *European Journal of Pharmacology*, 180(1), 21–29. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(90\)90588-W](https://doi.org/10.1016/0014-2999(90)90588-W)
- Gianoulakis, C. (2004). Endogenous opioids and addiction to alcohol and other drugs of abuse. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 4(1), 39–50. <https://doi.org/10.2174/1568026043451573>
- Glue, P., & Nutt, D. (1990). Overexcitement and disinhibition. Dynamic neurotransmitter interactions in alcohol withdrawal. *The British Journal of Psychiatry: The Journal of Mental Science*, 157, 491–499. <https://doi.org/10.1192/bjp.157.4.491>

- Goeders, N. E. (1988). Intracranial cocaine self-administration. *NIDA Research Monograph*, *88*, 199–216.
- Goeldner, F. O., Pigatto, G., Ribeiro, A. F., Machado, H. B., & Boerngen-Lacerda, R. (2005). Influence of fluoxetine and paroxetine in behavioral sensitization induced by ethanol in mice. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *82*(2), 388–396. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2005.09.009>
- Goes, T. C., Antunes, F. D., & Teixeira-Silva, F. (2009). Trait and state anxiety in animal models: Is there correlation? *Neuroscience Letters*, *450*(3), 266–269. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2008.11.037>
- Goh, J., & Ladiges, W. (2015). Voluntary Wheel Running in Mice. *Current Protocols in Mouse Biology*, *5*(4), 283–290. <https://doi.org/10.1002/9780470942390.mo140295>
- Goldberg, M. E., Insalaco, J. R., Hefner, M. A., & Salama, A. I. (1973). Effect of prolonged isolation on learning, biogenic amine turnover and aggressive behaviour in three strains of mice. *Neuropharmacology*, *12*(11), 1049–1058. [https://doi.org/10.1016/0028-3908\(73\)90049-x](https://doi.org/10.1016/0028-3908(73)90049-x)
- Gong, W., Neill, D. B., & Justice, J. B. (1996). Locomotor response to novelty does not predict cocaine place preference conditioning in rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *53*(1), 185–190.
- González-Marín, M. del C., Coune, F., & Naassila, M. (2020). Vulnerability to ethanol sensitization predicts higher intake and motivation to self-administer ethanol: Proof of the incentive salience sensitization theory? *Addiction Biology*, *25*(6), Article 6. <https://doi.org/10.1111/adb.12833>
- Gonzales, R. A., & Weiss, F. (1998). Suppression of ethanol-reinforced behavior by naltrexone is associated with attenuation of the ethanol-induced increase in dialysate dopamine levels in the nucleus accumbens. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *18*(24), 10663–10671.
- Gorelick, D. A., & Wilkins, J. N. (1986). Special aspects of human alcohol withdrawal. *Recent Developments in Alcoholism: An Official Publication of the American Medical Society on Alcoholism, the Research Society on Alcoholism, and the National Council on Alcoholism*, *4*, 283–305. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-1695-2_13

- Goullé, J.-P., & Guerbet, M. (2015). [Pharmacokinetics, metabolism, and analytical methods of ethanol]. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 73(5), 313–322. <https://doi.org/10.1016/j.pharma.2015.03.003>
- Granger, B. (1999). [The discovery of haloperidol]. *L'Encephale*, 25(1), 59–66.
- Grant, B. F., & Dawson, D. A. (1997). Age at onset of alcohol use and its association with DSM-IV alcohol abuse and dependence: Results from the National Longitudinal Alcohol Epidemiologic Survey. *Journal of Substance Abuse*, 9, 103–110. [https://doi.org/10.1016/s0899-3289\(97\)90009-2](https://doi.org/10.1016/s0899-3289(97)90009-2)
- Greenberg, G. (1972). The effects of ambient temperature and population density on aggression in two inbred strains of mice, *Mus musculus*. *Behaviour*, 42(1), 119–130. <https://doi.org/10.1163/156853972x00130>
- Greenfield, S. F., Back, S. E., Lawson, K., & Brady, K. T. (2010). Substance abuse in women. *The Psychiatric Clinics of North America*, 33(2), 339–355. <https://doi.org/10.1016/j.psc.2010.01.004>
- Greenough, W. T., & Volkmar, F. R. (1973). Pattern of dendritic branching in occipital cortex of rats reared in complex environments. *Experimental Neurology*, 40(2), 491–504. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(73\)90090-3](https://doi.org/10.1016/0014-4886(73)90090-3)
- Greenough, W. T., Volkmar, F. R., & Juraska, J. M. (1973). Effects of rearing complexity on dendritic branching in frontolateral and temporal cortex of the rat. *Experimental Neurology*, 41(2), 371–378. [https://doi.org/10.1016/0014-4886\(73\)90278-1](https://doi.org/10.1016/0014-4886(73)90278-1)
- Gregor, G. L., Smith, R. F., Simons, L. S., & Parker, H. B. (1972). Behavioral consequences of crowding in the deermouse (*Peromyscus maniculatus*). *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 79(3), 488–493. <https://doi.org/10.1037/h0032853>
- Gremel, C. M., & Cunningham, C. L. (2008). Roles of the nucleus accumbens and amygdala in the acquisition and expression of ethanol-conditioned behavior in mice. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 28(5), 1076–1084. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.4520-07.2008>
- Groblewski, P. A., Bax, L. S., & Cunningham, C. L. (2008). Reference-dose place conditioning with ethanol in mice: Empirical and theoretical analysis. *Psychopharmacology*, 201(1), 97–106. <https://doi.org/10.1007/s00213-008-1251-3>

- Gross, A. N., Richter, S. H., Engel, A. K. J., & Würbel, H. (2012). Cage-induced stereotypies, perseveration and the effects of environmental enrichment in laboratory mice. *Behavioural Brain Research*, 234(1), 61–68. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2012.06.007>
- Gross, A. N.-M., Engel, A. K. J., & Würbel, H. (2011). Simply a nest? Effects of different enrichments on stereotypic and anxiety-related behaviour in mice. *Applied Animal Behaviour Science*, 134(3), 239–245. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2011.06.020>
- Gubner, N. R., Cunningham, C. L., & Phillips, T. J. (2015). Nicotine enhances the locomotor stimulating but not the conditioned rewarding effect of ethanol in DBA/2J mice. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 39(1), 64–72. <https://doi.org/10.1111/acer.12590>
- Gubner, N. R., Delucchi, K. L., & Ramo, D. E. (2016). Associations between binge drinking frequency and tobacco use among young adults. *Addictive Behaviors*, 60, 191–196. <https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2016.04.019>
- Gubner, N. R., & Phillips, T. J. (2015). Effects of nicotine on ethanol-induced locomotor sensitization: A model of neuroadaptation. *Behavioural Brain Research*, 288, 26–32. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.03.066>
- Guerri, C., & Pascual, M. (2019). Impact of neuroimmune activation induced by alcohol or drug abuse on adolescent brain development. *International Journal of Developmental Neuroscience: The Official Journal of the International Society for Developmental Neuroscience*, 77, 89–98. <https://doi.org/10.1016/j.ijdevneu.2018.11.006>
- Guisado, E., Fernandez-Tome, P., Garzón, J., & Del Río, J. (1980). Increased dopamine receptor binding in the striatum of rats after long-term isolation. *European Journal of Pharmacology*, 65(4), 463–464. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(80\)90359-3](https://doi.org/10.1016/0014-2999(80)90359-3)
- Gupta, R. C., & Kofoed, J. (1966). Toxicological statistics for barbiturates, other sedatives, and tranquilizers in Ontario: A 10-year survey. *Canadian Medical Association Journal*, 94(16), 863–865.
- Habrat, B., Chmielewska, K., Baran-Furga, H., Keszycska, B., & Taracha, E. (2002). [Subjective Quality of Life in opiate-dependent patients before admission after six months and one-year participation in methadone program]. *Przegląd Lekarski*, 59(4–5), 351–354.

- Haemisch, A., & Gärtner, K. (1994). The cage design affects intermale aggression in small groups of male laboratory mice: Strain specific consequences on social organization, and endocrine activations in two inbred strains (DBA/2J and CBA/J). *Journal of Experimental Animal Science*, 36(4–5), Article 4–5.
- Haemisch, A., Voss, T., & Gärtner, K. (1994). Effects of environmental enrichment on aggressive behavior, dominance hierarchies, and endocrine states in male DBA/2J mice. *Physiology & Behavior*, 56(5), 1041–1048. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(94\)90341-7](https://doi.org/10.1016/0031-9384(94)90341-7)
- Hall, F. S. (1998). Social deprivation of neonatal, adolescent, and adult rats has distinct neurochemical and behavioral consequences. *Critical Reviews in Neurobiology*, 12(1–2), 129–162. <https://doi.org/10.1615/critrevneurobiol.v12.i1-2.50>
- Hall, F. S., Huang, S., Fong, G. W., Pert, A., & Linnoila, M. (1998). Effects of isolation-rearing on voluntary consumption of ethanol, sucrose and saccharin solutions in Fawn Hooded and Wistar rats. *Psychopharmacology*, 139(3), 210–216. <https://doi.org/10.1007/s002130050706>
- Hall, F. S., Huang, S., Fong, G. W., Sundstrom, J. M., & Pert, A. (2000). Differential basis of strain and rearing effects on open-field behavior in Fawn Hooded and Wistar rats. *Physiology & Behavior*, 71(5), 525–532. [https://doi.org/10.1016/s0031-9384\(00\)00372-3](https://doi.org/10.1016/s0031-9384(00)00372-3)
- Hall, F. S., Sora, I., & Uhl, G. R. (2001). Ethanol consumption and reward are decreased in mu-opiate receptor knockout mice. *Psychopharmacology*, 154(1), 43–49. <https://doi.org/10.1007/s002130000622>
- Hall, W., & Zador, D. (1997). The alcohol withdrawal syndrome. *Lancet (London, England)*, 349(9069), 1897–1900. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(97\)04572-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(97)04572-8)
- Hamilton, K. R., Elliott, B. M., Berger, S. S., & Grunberg, N. E. (2014). Environmental enrichment attenuates nicotine behavioral sensitization in male and female rats. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*, 22(4), 356–363. <https://doi.org/10.1037/a0037205>
- Harri, M., Lindblom, J., Malinen, H., Hyttinen, M., Lapveteläinen, T., Eskola, S., & Helminen, H. J. (1999). Effect of access to a running wheel on behavior of C57BL/6J mice. *Laboratory Animal Science*, 49(4), 401–405.

- Harrison, S. J., & Nobrega, J. N. (2009). A functional role for the dopamine D3 receptor in the induction and expression of behavioural sensitization to ethanol in mice. *Psychopharmacology*, 207(1), 47–56. <https://doi.org/10.1007/s00213-009-1629-x>
- Hartmann, A., Lisboa, S. F., Sonogo, A. B., Coutinho, D., Gomes, F. V., & Guimarães, F. S. (2019). Cannabidiol attenuates aggressive behavior induced by social isolation in mice: Involvement of 5-HT1A and CB1 receptors. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 94, 109637. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2019.109637>
- Harvey, S., Phillips, J. G., Rees, A., & Hall, T. R. (1984). Stress and adrenal function. *The Journal of Experimental Zoology*, 232(3), 633–645. <https://doi.org/10.1002/jez.1402320332>
- Hasebe, S., Ago, Y., Nishiyama, S., Oka, S., Hashimoto, H., Takuma, K., & Matsuda, T. (2015). Pharmacological profile of encounter-induced hyperactivity in isolation-reared mice. *Behavioural Pharmacology*, 26(7 Spec No), 681–690. <https://doi.org/10.1097/FBP.000000000000140>
- Hatch, A. M., Wiberg, G. S., Zawadzka, Z., Cann, M., Airth, J. M., & Grice, H. C. (1965). Isolation syndrome in the rat. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 7(5), 737–745. [https://doi.org/10.1016/0041-008x\(65\)90132-8](https://doi.org/10.1016/0041-008x(65)90132-8)
- Hawkins, P., Morton, D. B., Burman, O., Dennison, N., Honess, P., Jennings, M., Lane, S., Middleton, V., Roughan, J. V., Wells, S., Westwood, K., & UK Joint Working Group on Refinement BVAWF/FRAME/RSPCA/UFAW. (2011). A guide to defining and implementing protocols for the welfare assessment of laboratory animals: Eleventh report of the BVAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement. *Laboratory Animals*, 45(1), 1–13. <https://doi.org/10.1258/la.2010.010031>
- Hawrylak, N., & Greenough, W. T. (1995). Monocular deprivation alters the morphology of glial fibrillary acidic protein-immunoreactive astrocytes in the rat visual cortex. *Brain Research*, 683(2), 187–199. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(95\)00374-y](https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)00374-y)
- Heck, M., Quertemont, E., & Simon, J. (2024). Impact of a pre-test measurement of alcohol craving in cue-exposure studies: Relationship with social desirability and demand effects. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, 115, 41–52. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2023.08.013>

- Hefner, K., & Holmes, A. (2007). An investigation of the behavioral actions of ethanol across adolescence in mice. *Psychopharmacology*, *191*(2), 311–322. <https://doi.org/10.1007/s00213-006-0646-2>
- Heilig, M., MacKillop, J., Martinez, D., Rehm, J., Leggio, L., & Vanderschuren, L. J. M. J. (2021). Addiction as a brain disease revised: Why it still matters, and the need for consilience. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *46*(10), 1715–1723. <https://doi.org/10.1038/s41386-020-00950-y>
- Heinrich, L. M., & Gullone, E. (2006). The clinical significance of loneliness: A literature review. *Clinical Psychology Review*, *26*(6), 695–718. <https://doi.org/10.1016/j.cpr.2006.04.002>
- Heit, C., Dong, H., Chen, Y., Shah, Y. M., Thompson, D. C., & Vasiliou, V. (2015). Transgenic Mouse Models for Alcohol Metabolism, Toxicity and Cancer. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, *815*, 375–387. https://doi.org/10.1007/978-3-319-09614-8_22
- Hellemans, K. G. C., Benge, L. C., & Olmstead, M. C. (2004). Adolescent enrichment partially reverses the social isolation syndrome. *Brain Research. Developmental Brain Research*, *150*(2), 103–115. <https://doi.org/10.1016/j.devbrainres.2004.03.003>
- Hendershott, T. R., Cronin, M. E., Langella, S., McGuinness, P. S., & Basu, A. C. (2016). Effects of environmental enrichment on anxiety-like behavior, sociability, sensory gating, and spatial learning in male and female C57BL/6J mice. *Behavioural Brain Research*, *314*, 215–225. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.08.004>
- Henderson-Redmond, A. N., Guindon, J., & Morgan, D. J. (2016). Roles for the endocannabinoid system in ethanol-motivated behavior. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, *65*, 330–339. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2015.06.011>
- Hennessy, M. B., Kaiser, S., & Sachser, N. (2009). Social buffering of the stress response: Diversity, mechanisms, and functions. *Frontiers in Neuroendocrinology*, *30*(4), 470–482. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2009.06.001>
- Herman, J. P. (2012). Neural pathways of stress integration: Relevance to alcohol abuse. *Alcohol Research: Current Reviews*, *34*(4), 441–447.

- Hermens, D. F., Lagopoulos, J., Tobias-Webb, J., De Regt, T., Dore, G., Juckes, L., Latt, N., & Hickie, I. B. (2013). Pathways to alcohol-induced brain impairment in young people: A review. *Cortex; a Journal Devoted to the Study of the Nervous System and Behavior*, 49(1), 3–17. <https://doi.org/10.1016/j.cortex.2012.05.021>
- Hermes, G. L., Delgado, B., Tretiakova, M., Cavigelli, S. A., Krausz, T., Conzen, S. D., & McClintock, M. K. (2009). Social isolation dysregulates endocrine and behavioral stress while increasing malignant burden of spontaneous mammary tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(52), 22393–22398. <https://doi.org/10.1073/pnas.0910753106>
- Hernández-Arteaga, E., & Ágmo, A. (2023). Seminatural environments for rodent behavioral testing: A representative design improving animal welfare and enhancing replicability. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 17, 1192213. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2023.1192213>
- Hilakivi, L. A., & Lister, R. G. (1989). Effect of Ethanol on the Social Behavior of Group-Housed and Isolated Mice. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 13(5), Article 5. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1989.tb00393.x>
- Hilakivi, L. A., Ota, M., & Lister, R. G. (1989). Effect of isolation on brain monoamines and the behavior of mice in tests of exploration, locomotion, anxiety and behavioral “despair.” *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 33(2), 371–374. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(89\)90516-9](https://doi.org/10.1016/0091-3057(89)90516-9)
- Hingson, R. W., Edwards, E. M., Heeren, T., & Rosenbloom, D. (2009). Age of drinking onset and injuries, motor vehicle crashes, and physical fights after drinking and when not drinking. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 33(5), 783–790. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2009.00896.x>
- Hjeresen, DennisL., Reed, DanielleR., & Woods, StephenC. (1986). Tolerance to hypothermia induced by ethanol depends on specific drug effects. *Psychopharmacology*, 89(1). <https://doi.org/10.1007/BF00175187>
- Hobbs, B. A., Kozubal, W., & Nebiar, F. F. (1997). Evaluation of Objects for Environmental Enrichment of Mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*, 36(3), 69–71.

- Hodge, G. K., & Butcher, L. L. (1975). Catecholamine correlates of isolation-induced aggression in mice. *European Journal of Pharmacology*, 31(1), 81–93. [https://doi.org/10.1016/0014-2999\(75\)90081-3](https://doi.org/10.1016/0014-2999(75)90081-3)
- Hoebel, B. G. (1988). Neuroscience and motivation: Pathways and peptides that define motivational systems. In *Stevens' handbook of experimental psychology: Perception and motivation; Learning and cognition, Vols. 1-2, 2nd ed* (pp. 547–625). John Wiley & Sons.
- Hogg, S. (1996). A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 54(1), 21–30. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(95\)02126-4](https://doi.org/10.1016/0091-3057(95)02126-4)
- Holgate, J. Y., Garcia, H., Chatterjee, S., & Bartlett, S. E. (2017). Social and environmental enrichment has different effects on ethanol and sucrose consumption in mice. *Brain and Behavior*, 7(8), Article 8. <https://doi.org/10.1002/brb3.767>
- Hooks, M. S., Jones, D. N., Holtzman, S. G., Juncos, J. L., Kalivas, P. W., & Justice, J. B. (1994). Individual differences in behavior following amphetamine, GBR-12909, or apomorphine but not SKF-38393 or quinpirole. *Psychopharmacology*, 116(2), 217–225. <https://doi.org/10.1007/BF02245065>
- Hooks, M. S., Jones, G. H., Liem, B. J., & Justice, J. B. (1992). Sensitization and individual differences to IP amphetamine, cocaine, or caffeine following repeated intra-cranial amphetamine infusions. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 654, 444–447. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1992.tb25993.x>
- Horger, B. A., Shelton, K., & Schenk, S. (1990). Preexposure sensitizes rats to the rewarding effects of cocaine. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 37(4), 707–711. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(90\)90552-s](https://doi.org/10.1016/0091-3057(90)90552-s)
- Hostinar, C. E., Sullivan, R. M., & Gunnar, M. R. (2014). Psychobiological mechanisms underlying the social buffering of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis: A review of animal models and human studies across development. *Psychological Bulletin*, 140(1), 256–282. <https://doi.org/10.1037/a0032671>
- Huffine, C. L., Folkman, S., & Lazarus, R. S. (1989). Psychoactive drugs, alcohol, and stress and coping processes in older adults. *The American Journal of Drug and Alcohol Abuse*, 15(1), 101–113. <https://doi.org/10.3109/00952998908993403>

- Hughes, R. N. (2007). Sex does matter: Comments on the prevalence of male-only investigations of drug effects on rodent behaviour. *Behavioural Pharmacology*, *18*(7), 583–589. <https://doi.org/10.1097/FBP.0b013e3282eff0e8>
- Hui, S. C., Sevilla, E. L., & Ogle, C. W. (1993). 5-HT₃ antagonists reduce morphine self-administration in rats. *British Journal of Pharmacology*, *110*(4), 1341–1346. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.1993.tb13966.x>
- Hunt, W. A., & Lands, W. E. (1992). A role for behavioral sensitization in uncontrolled ethanol intake. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, *9*(4), 327–328. [https://doi.org/10.1016/0741-8329\(92\)90075-l](https://doi.org/10.1016/0741-8329(92)90075-l)
- Hutchinson, E., Avery, A., & Vandewoude, S. (2005). Environmental enrichment for laboratory rodents. *ILAR Journal*, *46*(2), 148–161. <https://doi.org/10.1093/ilar.46.2.148>
- Huynh, N., Arabian, N. M., Asatryan, L., & Davies, D. L. (2019). Murine Drinking Models in the Development of Pharmacotherapies for Alcoholism: Drinking in the Dark and Two-bottle Choice. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, *143*, 10.3791/57027. <https://doi.org/10.3791/57027>
- Hwa, L. S., Nathanson, A. J., Shimamoto, A., Tayeh, J. K., Wilens, A. R., Holly, E. N., Newman, E. L., DeBold, J. F., & Miczek, K. A. (2015). Aggression and increased glutamate in the mPFC during withdrawal from intermittent alcohol in outbred mice. *Psychopharmacology*, *232*(16), 2889–2902. <https://doi.org/10.1007/s00213-015-3925-y>
- Ieraci, A., Mallei, A., & Popoli, M. (2016). Social Isolation Stress Induces Anxious-Depressive-Like Behavior and Alterations of Neuroplasticity-Related Genes in Adult Male Mice. *Neural Plasticity*, *2016*, 6212983. <https://doi.org/10.1155/2016/6212983>
- Imperio, C. G., McFalls, A. J., Hadad, N., Blanco-Berdugo, L., Masser, D. R., Colechio, E. M., Coffey, A. A., Bixler, G. V., Stanford, D. R., Vrana, K. E., Grigson, P. S., & Freeman, W. M. (2018). Exposure to environmental enrichment attenuates addiction-like behavior and alters molecular effects of heroin self-administration in rats. *Neuropharmacology*, *139*, 26–40. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.06.037>
- Itzhak, Y., & Anderson, K. L. (2008). Ethanol-induced behavioral sensitization in adolescent and adult mice: Role of the nNOS gene. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, *32*(10), 1839–1848. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2008.00766.x>

- Itzhak, Y., & Martin, J. L. (1999). Effects of cocaine, nicotine, dizocipline and alcohol on mice locomotor activity: Cocaine-alcohol cross-sensitization involves upregulation of striatal dopamine transporter binding sites. *Brain Research*, *818*(2), 204–211. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(98\)01260-8](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(98)01260-8)
- Itzhak, Y., Roger-Sánchez, C., & Anderson, K. L. (2009). Role of the nNOS gene in ethanol-induced conditioned place preference in mice. *Alcohol (Fayetteville, N. Y.)*, *43*(4), 285–291. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2009.02.004>
- Jacobs, B., Schall, M., & Scheibel, A. B. (1993). A quantitative dendritic analysis of Wernicke's area in humans. II. Gender, hemispheric, and environmental factors. *The Journal of Comparative Neurology*, *327*(1), 97–111. <https://doi.org/10.1002/cne.903270108>
- Jacobus, J., & Tapert, S. F. (2013). Neurotoxic effects of alcohol in adolescence. *Annual Review of Clinical Psychology*, *9*, 703–721. <https://doi.org/10.1146/annurev-clinpsy-050212-185610>
- Janus, C., Koperwas, J. S., Janus, M., & Roder, J. (1995). Rearing environment and radial maze exploration in mice. *Behavioural Processes*, *34*(2), 129–140. [https://doi.org/10.1016/0376-6357\(94\)00060-t](https://doi.org/10.1016/0376-6357(94)00060-t)
- Jennings, M., Batchelor, G. R., Brain, P. F., Dick, A., Elliott, H., Francis, R. J., Hubrecht, R. C., Hurst, J. L., Morton, D. B., Peters, A. G., Raymond, R., Sales, G. D., Sherwin, C. M., & West, C. (1998). Refining rodent husbandry: The mouse. Report of the Rodent Refinement Working Party. *Laboratory Animals*, *32*(3), 233–259. <https://doi.org/10.1258/002367798780559301>
- Jiang, W., Chen, J., Vidjro, O. E., Zhang, Y., Guo, G., Li, Z., Qi, Y., Dai, R., & Ma, T. (2022). Construction and evaluation of an alcohol vapor chamber system. *Journal of Biomedical Research*, 1–10. <https://doi.org/10.7555/JBR.36.20220151>
- Jirkof, P., Bratcher, N., Medina, L., Strasburg, D., Ebert, P., & Gaskill, B. N. (2020). The effect of group size, age and handling frequency on inter-male aggression in CD 1 mice. *Scientific Reports*, *10*(1), 2253. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-59012-4>
- Jones, A. W., Hahn, R. G., & Stalberg, H. P. (1990). Distribution of ethanol and water between plasma and whole blood; inter- and intra-individual variations after administration of ethanol by intravenous infusion. *Scandinavian Journal of Clinical and*

- Laboratory Investigation*, 50(7), 775–780.
<https://doi.org/10.1080/00365519009091072>
- Jones, T. A., Klintsova, A. Y., Kilman, V. L., Sirevaag, A. M., & Greenough, W. T. (1997). Induction of multiple synapses by experience in the visual cortex of adult rats. *Neurobiology of Learning and Memory*, 68(1), 13–20.
<https://doi.org/10.1006/nlme.1997.3774>
- Joseph, R. (1999). Environmental influences on neural plasticity, the limbic system, emotional development and attachment: A review. *Child Psychiatry and Human Development*, 29(3), 189–208. <https://doi.org/10.1023/a:1022660923605>
- Kafkafi, N., Benjamini, Y., Sakov, A., Elmer, G. I., & Golani, I. (2005). Genotype-environment interactions in mouse behavior: A way out of the problem. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(12), 4619–4624. <https://doi.org/10.1073/pnas.0409554102>
- Kalant, H. (1998). Research on tolerance: What can we learn from history? *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 22(1), 67–76. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1998.tb03618.x>
- Kaler, S. R., & Freeman, B. J. (1994). Analysis of environmental deprivation: Cognitive and social development in Romanian orphans. *Journal of Child Psychology and Psychiatry, and Allied Disciplines*, 35(4), 769–781. <https://doi.org/10.1111/j.1469-7610.1994.tb01220.x>
- Kalinichev, M., White, D. A., & Holtzman, S. G. (2004). Individual differences in locomotor reactivity to a novel environment and sensitivity to opioid drugs in the rat. I. Expression of morphine-induced locomotor sensitization. *Psychopharmacology*, 177(1–2), 61–67. <https://doi.org/10.1007/s00213-004-1990-8>
- Kalivas, P. W. (1995). Interactions between dopamine and excitatory amino acids in behavioral sensitization to psychostimulants. *Drug and Alcohol Dependence*, 37(2), 95–100. [https://doi.org/10.1016/0376-8716\(94\)01063-q](https://doi.org/10.1016/0376-8716(94)01063-q)
- Kalivas, P. W., & Duffy, P. (1987). Sensitization to repeated morphine injection in the rat: Possible involvement of A10 dopamine neurons. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 241(1), 204–212.

- Kalivas, P. W., & Stewart, J. (1991). Dopamine transmission in the initiation and expression of drug- and stress-induced sensitization of motor activity. *Brain Research Reviews*, 16(3), 223–244. [https://doi.org/10.1016/0165-0173\(91\)90007-U](https://doi.org/10.1016/0165-0173(91)90007-U)
- Kaluve, A. M., Le, J. T., & Graham, B. M. (2022). Female rodents are not more variable than male rodents: A meta-analysis of preclinical studies of fear and anxiety. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 143, 104962. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2022.104962>
- Kang, Y., Cosme, D., Lydon-Staley, D., Ahn, J., Jovanova, M., Corbani, F., Lomax, S., Stanoi, O., Strecher, V., Mucha, P. J., Ochsner, K., Bassett, D. S., & Falk, E. B. (2022). Purpose in life, neural alcohol cue reactivity and daily alcohol use in social drinkers. *Addiction (Abingdon, England)*, 117(12), 3049–3057. <https://doi.org/10.1111/add.16012>
- Kapasova, Z., & Szumlinski, K. K. (2008). Strain Differences in Alcohol-Induced Neurochemical Plasticity: A Role for Accumbens Glutamate in Alcohol Intake. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 32(4), 617–631. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2008.00620.x>
- Kappel, S., Hawkins, P., & Mendl, M. T. (2017). To Group or Not to Group? Good Practice for Housing Male Laboratory Mice. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 7(12). <https://doi.org/10.3390/ani7120088>
- Karila, L., Zarmdini, R., & Lejoyeux, M. (2014). [Delirium tremens]. *La Revue Du Praticien*, 64(10), 1349–1352.
- Kawakami, S. E., Quadros, I. M. H., & Suchecki, D. (2016). Naltrexone Prevents in Males and Attenuates in Females the Expression of Behavioral Sensitization to Ethanol Regardless of Maternal Separation. *Frontiers in Endocrinology*, 7, 135. <https://doi.org/10.3389/fendo.2016.00135>
- Kawakami, S. E., Quadros, I. M. H., Takahashi, S., & Suchecki, D. (2007). Long maternal separation accelerates behavioural sensitization to ethanol in female, but not in male mice. *Behavioural Brain Research*, 184(2), 109–116. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2007.06.023>
- Kayir, H., & Uzbay, I. T. (2002). Investigation of a possible sensitization development to a challenge dose of ethanol after 2 weeks following the single injection in mice.

- Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 73(3), 551–556.
[https://doi.org/10.1016/s0091-3057\(02\)00808-0](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(02)00808-0)
- Keller, R., Costa, T., Imperiale, D., Bianco, A., Rondini, E., Hassiotis, A., & Bertelli, M. O. (2021). Stereotypies in the Autism Spectrum Disorder: Can We Rely on an Ethological Model? *Brain Sciences*, 11(6), 762. <https://doi.org/10.3390/brainsci11060762>
- Kempermann, G. (2019). Environmental enrichment, new neurons and the neurobiology of individuality. *Nature Reviews. Neuroscience*, 20(4), 235–245. <https://doi.org/10.1038/s41583-019-0120-x>
- Kempermann, G., Kuhn, H. G., & Gage, F. H. (1997). More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature*, 386(6624), 493–495. <https://doi.org/10.1038/386493a0>
- Kentner, A. C., Speno, A. V., Doucette, J., & Roderick, R. C. (2021). The Contribution of Environmental Enrichment to Phenotypic Variation in Mice and Rats. *eNeuro*, 8(2), ENEURO.0539-20.2021. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0539-20.2021>
- Keyes, K. M., Hatzenbuehler, M. L., Grant, B. F., & Hasin, D. S. (2012). Stress and alcohol: Epidemiologic evidence. *Alcohol Research: Current Reviews*, 34(4), 391–400.
- Keyes, K. M., Hatzenbuehler, M. L., & Hasin, D. S. (2011). Stressful life experiences, alcohol consumption, and alcohol use disorders: The epidemiologic evidence for four main types of stressors. *Psychopharmacology*, 218(1), 1–17. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2236-1>
- Khaderi, S. A. (2019). Introduction: Alcohol and Alcoholism. *Clinics in Liver Disease*, 23(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.cld.2018.09.009>
- Khan, A., Levy, P., DeHorn, S., Miller, W., & Compton, S. (2008). Predictors of mortality in patients with delirium tremens. *Academic Emergency Medicine: Official Journal of the Society for Academic Emergency Medicine*, 15(8), 788–790. <https://doi.org/10.1111/j.1553-2712.2008.00187.x>
- Khantzian, E. J. (2013). Addiction as a self-regulation disorder and the role of self-medication. *Addiction (Abingdon, England)*, 108(4), 668–669. <https://doi.org/10.1111/add.12004>

- King, A. C., Houle, T., de Wit, H., Holdstock, L., & Schuster, A. (2002). Biphasic alcohol response differs in heavy versus light drinkers. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 26(6), 827–835.
- Kita, T., Okamoto, M., & Nakashima, T. (1992). Nicotine-induced sensitization to ambulatory stimulant effect produced by daily administration into the ventral tegmental area and the nucleus accumbens in rats. *Life Sciences*, 50(8), 583–590. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(92\)90370-5](https://doi.org/10.1016/0024-3205(92)90370-5)
- Kiyatkin, E., Wise, R. A., & Gratton, A. (1992). *Chronamperometric measurements of dopamine levels in the rat nucleus accumbens*, . 18, 374.
- Kliethermes, C. L., & Crabbe, J. C. (2006). Genetic independence of mouse measures of some aspects of novelty seeking. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(13), 5018–5023. <https://doi.org/10.1073/pnas.0509724103>
- Knight, J., & Abbott, A. (2002). Full house. *Nature*, 417(6891), Article 6891. <https://doi.org/10.1038/417785a>
- Knych, E. T., & Eisenberg, R. M. (1979). Effect of amphetamine on plasma corticosterone in the conscious rat. *Neuroendocrinology*, 29(2), 110–118. <https://doi.org/10.1159/000122912>
- Koch-Weser, J., Sellers, E. M., & Kalant, H. (1976). Alcohol intoxication and withdrawal. *The New England Journal of Medicine*, 294(14), 757–762. <https://doi.org/10.1056/NEJM197604012941405>
- Koechling, U. M., Smith, B. R., & Amit, Z. (1990). Differential effects of catecholamine antagonists on ethanol-induced excitation in mice. *Psychopharmacology*, 102(2), 234–238. <https://doi.org/10.1007/BF02245927>
- Kolb, B., Gorny, G., Söderpalm, A. H. V., & Robinson, T. E. (2003). Environmental complexity has different effects on the structure of neurons in the prefrontal cortex versus the parietal cortex or nucleus accumbens. *Synapse (New York, N.Y.)*, 48(3), 149–153. <https://doi.org/10.1002/syn.10196>
- Komleva, I. K., Salmina, A. B., Prokopenko, S. V., Shestakova, L. A., Petrova, M. M., Malinovskaia, N. A., & Lopatina, O. L. (2013). [Changes in structural and functional

- plasticity of the brain induced by environmental enrichment]. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk*, 6, 39–48. <https://doi.org/10.15690/vramn.v68i6.672>
- Koob, G. F. (1992). Drugs of abuse: Anatomy, pharmacology and function of reward pathways. *Trends in Pharmacological Sciences*, 13, 177–184. [https://doi.org/10.1016/0165-6147\(92\)90060-J](https://doi.org/10.1016/0165-6147(92)90060-J)
- Koob, G. F. (1996). Drug addiction: The yin and yang of hedonic homeostasis. *Neuron*, 16(5), 893–896. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)80109-9](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)80109-9)
- Koob, G. F. (2009). Neurobiological substrates for the dark side of compulsivity in addiction. *Neuropharmacology*, 56 Suppl 1(Suppl 1), Article Suppl 1. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2008.07.043>
- Koob, G. F. (2010). The role of CRF and CRF-related peptides in the dark side of addiction. *Brain Research*, 1314, 3–14. <https://doi.org/10.1016/j.brainres.2009.11.008>
- Koob, G. F. (2013). Negative reinforcement in drug addiction: The darkness within. *Current Opinion in Neurobiology*, 23(4), 559–563. <https://doi.org/10.1016/j.conb.2013.03.011>
- Koob, G. F., Buck, C. L., Cohen, A., Edwards, S., Park, P. E., Schlosburg, J. E., Schmeichel, B., Vendruscolo, L. F., Wade, C. L., Whitfield, T. W., & George, O. (2014). Addiction as a stress surfeit disorder. *Neuropharmacology*, 76 Pt B, 370–382. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.05.024>
- Koob, G. F., & Le Moal, M. (1997). Drug abuse: Hedonic homeostatic dysregulation. *Science (New York, N.Y.)*, 278(5335), 52–58. <https://doi.org/10.1126/science.278.5335.52>
- Koob, G. F., & Le Moal, M. (2001). Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 24(2), 97–129. [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(00\)00195-0](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(00)00195-0)
- Koob, G. F., Sanna, P. P., & Bloom, F. E. (1998). Neuroscience of addiction. *Neuron*, 21(3), 467–476. [https://doi.org/10.1016/s0896-6273\(00\)80557-7](https://doi.org/10.1016/s0896-6273(00)80557-7)
- Koob, G. F., & Schulkin, J. (2019). Addiction and stress: An allostatic view. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 106, 245–262. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2018.09.008>

- Koob, G. F., & Volkow, N. D. (2010). Neurocircuitry of Addiction. *Neuropsychopharmacology*, 35(1), 217–238. <https://doi.org/10.1038/npp.2009.110>
- Koob, G. F., & Volkow, N. D. (2016). Neurobiology of addiction: A neurocircuitry analysis. *The Lancet. Psychiatry*, 3(8), 760–773. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(16\)00104-8](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(16)00104-8)
- Koob, G. F., Wall, T. L., & Schafer, J. (1987). Rapid induction of tolerance to the antipunishment effects of ethanol. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, 4(6), 481–484. [https://doi.org/10.1016/0741-8329\(87\)90090-5](https://doi.org/10.1016/0741-8329(87)90090-5)
- Körholz, J. C., Zocher, S., Grzyb, A. N., Morisse, B., Poetzsch, A., Ehret, F., Schmied, C., & Kempermann, G. (2018). Selective increases in inter-individual variability in response to environmental enrichment in female mice. *eLife*, 7, e35690. <https://doi.org/10.7554/eLife.35690>
- Kosobud, A. E., Harris, A. E., & Chapin, J. K. (1992). *Actions of drugs of abuse on reward-related activity in neurons of the ventral tegmental area and prefrontal cortex in the rat*, 18, 900.
- Kosten, T. A., & Miserendino, M. J. (1998). Dissociation of novelty- and cocaine-conditioned locomotor activity from cocaine place conditioning. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 60(4), 785–791. [https://doi.org/10.1016/s0091-3057\(97\)00388-2](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(97)00388-2)
- Kosten, T. R. (2011). Stress and addiction. *The American Journal of Psychiatry*, 168(6), 566–568. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2011.11020180>
- Kozorovitskiy, Y., Gross, C. G., Kopil, C., Battaglia, L., McBreen, M., Stranahan, A. M., & Gould, E. (2005). Experience induces structural and biochemical changes in the adult primate brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(48), 17478–17482. <https://doi.org/10.1073/pnas.0508817102>
- Kraeuter, A.-K., Guest, P. C., & Sarnyai, Z. (2019). The Open Field Test for Measuring Locomotor Activity and Anxiety-Like Behavior. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 1916, 99–103. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2_9
- Krech, D., Rosenzweig, M. R., & Bennett, E. L. (1962). Relations between chemistry and problem-solving among rats raised in enriched and impoverished environments.

Journal of Comparative and Physiological Psychology, 55, 801–807.
<https://doi.org/10.1037/h0044220>

Kreusch, F., Goffaux, V., Siep, N., Houben, K., Quertemont, E., & Wiers, R. (2015). Brain Activation Associated with Automatic Processing of Alcohol-Related Cues in Young Heavy Drinkers and Its Modulation by Alcohol Administration. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 39(10). <https://doi.org/10.1111/acer.12835>

Kringelbach, M. L., & Berridge, K. C. (2012). The joyful mind. *Scientific American*, 307(2), 40–45. <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0812-40>

Kruse, L. C., Linsenbardt, D. N., & Boehm, S. L. (2012). Positive allosteric modulation of the GABA(B) receptor by GS39783 attenuates the locomotor stimulant actions of ethanol and potentiates the induction of locomotor sensitization. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, 46(5), 455–462. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2012.03.004>

Kühn, S., & Gallinat, J. (2011). Common biology of craving across legal and illegal drugs—A quantitative meta-analysis of cue-reactivity brain response. *The European Journal of Neuroscience*, 33(7), 1318–1326. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2010.07590.x>

Kuleskaya, N., Rauvala, H., & Voikar, V. (2011). Evaluation of Social and Physical Enrichment in Modulation of Behavioural Phenotype in C57BL/6J Female Mice. *PLoS ONE*, 6(9), e24755. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024755>

Kunos, G. (2020). Interactions Between Alcohol and the Endocannabinoid System. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 44(4), 790–805. <https://doi.org/10.1111/acer.14306>

LaBuda, C. J., & Hale, R. L. (2000). Anxiety in mice following acute aspartame and ethanol exposure. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, 20(1), 69–74. [https://doi.org/10.1016/s0741-8329\(99\)00060-9](https://doi.org/10.1016/s0741-8329(99)00060-9)

Laber, K., Veatch, L. M., Lopez, M. F., Mulligan, J. K., & Lathers, D. M. R. (2008). Effects of housing density on weight gain, immune function, behavior, and plasma corticosterone concentrations in BALB/c and C57BL/6 mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science: JAALAS*, 47(2), 16–23.

- Laermans, J., Scheers, H., Vandekerckhove, P., & De Buck, E. (2023). Friendly visiting by a volunteer for reducing loneliness or social isolation in older adults: A systematic review. *Campbell Systematic Reviews*, *19*(4), e1359. <https://doi.org/10.1002/cl2.1359>
- Lajtha, A., & Sershen, H. (2010). Nicotine: Alcohol reward interactions. *Neurochemical Research*, *35*(8), 1248–1258. <https://doi.org/10.1007/s11064-010-0181-8>
- Lallai, V., Manca, L., & Dazzi, L. (2016). Social Isolation Blunted the Response of Mesocortical Dopaminergic Neurons to Chronic Ethanol Voluntary Intake. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, *10*. <https://doi.org/10.3389/fncel.2016.00155>
- Lalonde, R., & Strazielle, C. (2012). Relations between open-field, elevated plus-maze, and emergence tests in C57BL/6Jlco and BALB/cAnN@lco mice injected with ethanol. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, *26*(2), 271–278. <https://doi.org/10.1111/j.1472-8206.2010.00919.x>
- Landers, M. S., Knott, G. W., Lipp, H. P., Poletaeva, I., & Welker, E. (2011). Synapse formation in adult barrel cortex following naturalistic environmental enrichment. *Neuroscience*, *199*, 143–152. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2011.10.040>
- Lands, W. E. M. (1998). A review of alcohol clearance in humans. *Alcohol*, *15*(2), 147–160. [https://doi.org/10.1016/S0741-8329\(97\)00110-9](https://doi.org/10.1016/S0741-8329(97)00110-9)
- Langen, B., & Fink, H. (2004). Anxiety as a predictor of alcohol preference in rats? *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, *28*(6), 961–968. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2004.05.002>
- Lannoy, S., Baggio, S., Heeren, A., Dormal, V., Maurage, P., & Billieux, J. (2021). What is binge drinking? Insights from a network perspective. *Addictive Behaviors*, *117*, 106848. <https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2021.106848>
- Latham, N., & Mason, G. (2004). From house mouse to mouse house: The behavioural biology of free-living *Mus musculus* and its implications in the laboratory. *Applied Animal Behaviour Science*, *3–4*(86), 261–289. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2004.02.006>
- Latham, N., & Mason, G. (2010). Frustration and perseveration in stereotypic captive animals: Is a taste of enrichment worse than none at all? *Behavioural Brain Research*, *211*(1), 96–104. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2010.03.018>

- Latvala, A., Rose, R. J., Pulkkinen, L., Dick, D. M., Korhonen, T., & Kaprio, J. (2014). Drinking, smoking, and educational achievement: Cross-lagged associations from adolescence to adulthood. *Drug and Alcohol Dependence*, *137*, 106–113. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2014.01.016>
- Laurie, D. J., Wisden, W., & Seeburg, P. H. (1992). The distribution of thirteen GABAA receptor subunit mRNAs in the rat brain. III. Embryonic and postnatal development. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, *12*(11), 4151–4172. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.12-11-04151.1992>
- Lazarus, R. S. (1999). *Stress and emotion: A new synthesis* (pp. xiv, 342). Springer Publishing Co.
- Lê, A. D., & Kianmaa, K. (1988). Characteristics of ethanol tolerance in alcohol drinking (AA) and alcohol avoiding (ANA) rats. *Psychopharmacology*, *94*(4), 479–483. <https://doi.org/10.1007/BF00212841>
- Leal-Galicia, P., Saldívar-González, A., Morimoto, S., & Arias, C. (2007). Exposure to environmental enrichment elicits differential hippocampal cell proliferation: Role of individual responsiveness to anxiety. *Developmental Neurobiology*, *67*(4), 395–405. <https://doi.org/10.1002/dneu.20322>
- Lees, B., Meredith, L. R., Kirkland, A. E., Bryant, B. E., & Squeglia, L. M. (2020). Effect of alcohol use on the adolescent brain and behavior. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *192*, 172906. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2020.172906>
- Lees, B., Mewton, L., Stapinski, L. A., Squeglia, L. M., Rae, C. D., & Teesson, M. (2019). Neurobiological and Cognitive Profile of Young Binge Drinkers: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Neuropsychology Review*, *29*(3), 357–385. <https://doi.org/10.1007/s11065-019-09411-w>
- Legastelois, R., Botia, B., Coune, F., Jeanblanc, J., & Naassila, M. (2014). Deciphering the relationship between vulnerability to ethanol-induced behavioral sensitization and ethanol consumption in outbred mice: EtOH sensitization and intake. *Addiction Biology*, *19*(2), 210–224. <https://doi.org/10.1111/adb.12104>
- Legastelois, R., Botia, B., & Naassila, M. (2013). Blockade of Ethanol-Induced Behavioral Sensitization by Sodium Butyrate: Descriptive Analysis of Gene Regulations in the

- Striatum. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 37(7), 1143–1153.
<https://doi.org/10.1111/acer.12088>
- Leggio, M. G., Mandolesi, L., Federico, F., Spirito, F., Ricci, B., Gelfo, F., & Petrosini, L. (2005). Environmental enrichment promotes improved spatial abilities and enhanced dendritic growth in the rat. *Behavioural Brain Research*, 163(1), 78–90.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2005.04.009>
- Leigh-Hunt, N., Bagguley, D., Bash, K., Turner, V., Turnbull, S., Valtorta, N., & Caan, W. (2017). An overview of systematic reviews on the public health consequences of social isolation and loneliness. *Public Health*, 152, 157–171.
<https://doi.org/10.1016/j.puhe.2017.07.035>
- LeMarquand, D., Pihl, R. O., & Benkelfat, C. (1994). Serotonin and alcohol intake, abuse, and dependence: Clinical evidence. *Biological Psychiatry*, 36(5), 326–337.
[https://doi.org/10.1016/0006-3223\(94\)90630-0](https://doi.org/10.1016/0006-3223(94)90630-0)
- Lennartsson, C., Rehnberg, J., & Dahlberg, L. (2022). The association between loneliness, social isolation and all-cause mortality in a nationally representative sample of older women and men. *Aging & Mental Health*, 26(9), 1821–1828.
<https://doi.org/10.1080/13607863.2021.1976723>
- Leshner, A. I. (1997). Addiction is a brain disease, and it matters. *Science (New York, N. Y.)*, 278(5335), 45–47. <https://doi.org/10.1126/science.278.5335.45>
- Lespine, L.-F. (2018). *Wheel-running exercise and the vulnerability to cocaine psychomotor sensitization in C57BL/6J mice: Persistence, longevity and developmental components*. Université de Liège.
- Lespine, L.-F., & Tirelli, E. (2015). The protective effects of free wheel-running against cocaine psychomotor sensitization persist after exercise cessation in C57BL/6J mice. *Neuroscience*, 310, 650–664. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.10.009>
- Lespine, L.-F., & Tirelli, E. (2018). Evidence for a long-term protection of wheel-running exercise against cocaine psychomotor sensitization in adolescent but not in adult mice. *Behavioural Brain Research*, 349, 63–72.
<https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.04.054>

- Lessov, C. N., Palmer, A. A., Quick, E. A., & Phillips, T. J. (2001). Voluntary ethanol drinking in C57BL/6J and DBA/2J mice before and after sensitization to the locomotor stimulant effects of ethanol. *Psychopharmacology*, *155*(1), 91–99. <https://doi.org/10.1007/s002130100699>
- Lessov, C. N., & Phillips, T. J. (1998). Duration of sensitization to the locomotor stimulant effects of ethanol in mice. *Psychopharmacology*, *135*(4), Article 4. <https://doi.org/10.1007/s002130050525>
- Lessov, C. N., & Phillips, T. J. (2003). Cross-sensitization between the locomotor stimulant effects of ethanol and those of morphine and cocaine in mice. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, *27*(4), 616–627. <https://doi.org/10.1097/01.ALC.0000062760.17530.74>
- Lett, B. T. (1989). Repeated exposures intensify rather than diminish the rewarding effects of amphetamine, morphine, and cocaine. *Psychopharmacology*, *98*(3), 357–362. <https://doi.org/10.1007/BF00451687>
- Leukefeld, C. G., & Tims, F. M. (1989). Relapse and recovery in drug abuse: Research and practice. *The International Journal of the Addictions*, *24*(3), 189–201. <https://doi.org/10.3109/10826088909047283>
- Levin, E. D., Dow-Edwards, D., & Patisaul, H. (2021). Introduction to sex differences in neurotoxic effects. *Neurotoxicology and Teratology*, *83*, 106931. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2020.106931>
- Levy, A. D., Murphy, J. M., McBride, W. J., Lumeng, L., & Li, T. K. (1991). Microinjection of sulpiride into the nucleus accumbens increases ethanol drinking in alcohol-preferring (P) rats. *Alcohol and Alcoholism (Oxford, Oxfordshire). Supplement*, *1*, 417–420.
- Lewejohann, L., Reefmann, N., Widmann, P., Ambrée, O., Herring, A., Keyvani, K., Paulus, W., & Sachser, N. (2009). Transgenic Alzheimer mice in a semi-naturalistic environment: More plaques, yet not compromised in daily life. *Behavioural Brain Research*, *201*(1), Article 1. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2009.01.037>
- Lewejohann, L., Reinhard, C., Schrewe, A., Brandewiede, J., Haemisch, A., Görtz, N., Schachner, M., & Sachser, N. (2006). Environmental bias? Effects of housing conditions, laboratory environment and experimenter on behavioral tests. *Genes, Brain, and Behavior*, *5*(1), 64–72. <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2005.00140.x>

- Leyton, M. (2007). Conditioned and sensitized responses to stimulant drugs in humans. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 31(8), 1601–1613. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2007.08.027>
- Leyton, M., & Vezina, P. (2013). Striatal ups and downs: Their roles in vulnerability to addictions in humans. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 37(9 Pt A), 1999–2014. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.01.018>
- Lidster, K., Owen, K., Browne, W. J., & Prescott, M. J. (2019). Cage aggression in group-housed laboratory male mice: An international data crowdsourcing project. *Scientific Reports*, 9(1), 15211. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51674-z>
- Liljequist, S., Berggren, U., & Engel, J. (1981). The effect of catecholamine receptor antagonists on ethanol-induced locomotor stimulation. *Journal of Neural Transmission*, 50(1), 57–67. <https://doi.org/10.1007/BF01254914>
- Lin, E.-J. D., Sun, M., Choi, E. Y., Magee, D., Stets, C. W., & During, M. J. (2015). Social overcrowding as a chronic stress model that increases adiposity in mice. *Psychoneuroendocrinology*, 51, 318–330. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2014.10.007>
- Linder, C. C., & Davisson, M. T. (2004). CHAPTER 3—Strains, Stocks, and Mutant Mice. In H. J. Hedrich & G. Bullock (Eds.), *The Laboratory Mouse* (pp. 25–46). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012336425-8/50056-X>
- Linnoila, M. (1990). Benzodiazepines and alcohol. *Journal of Psychiatric Research*, 24, 121–127. [https://doi.org/10.1016/0022-3956\(90\)90043-P](https://doi.org/10.1016/0022-3956(90)90043-P)
- Linnoila, M., Mattila, M. J., & Kitchell, B. S. (1979). Drug interactions with alcohol. *Drugs*, 18(4), 299–311. <https://doi.org/10.2165/00003495-197918040-00003>
- Linsenbardt, D. N., & Boehm II, S. L. (2010). Ethanol-induced locomotor sensitization in DBA/2J mice is associated with alterations in GABAA subunit gene expression and behavioral sensitivity to GABAA acting drugs. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 95(3), Article 3. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2010.02.014>
- Linsenbardt, D. N., & Boehm, S. L. (2013). Determining the heritability of ethanol-induced locomotor sensitization in mice using short-term behavioral selection. *Psychopharmacology*, 230(2), 267–278. <https://doi.org/10.1007/s00213-013-3151-4>

- Linsenbardt, D. N., Moore, E. M., Gross, C. D., Goldfarb, K. J., Blackman, L. C., & Boehm, S. L. (2009). Sensitivity and tolerance to the hypnotic and ataxic effects of ethanol in adolescent and adult C57BL/6J and DBA/2J mice. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 33(3), 464–476. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2008.00857.x>
- Lisdahl, K. M., Thayer, R., Squeglia, L. M., McQueeney, T. M., & Tapert, S. F. (2013). Recent binge drinking predicts smaller cerebellar volumes in adolescents. *Psychiatry Research*, 211(1), 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2012.07.009>
- Lister, R. G. (1987). The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology*, 92(2), 180–185. <https://doi.org/10.1007/BF00177912>
- Lister, R. G. (1990). Ethologically-based animal models of anxiety disorders. *Pharmacology & Therapeutics*, 46(3), Article 3. [https://doi.org/10.1016/0163-7258\(90\)90021-s](https://doi.org/10.1016/0163-7258(90)90021-s)
- Littleton, J. (2001). Receptor regulation as a unitary mechanism for drug tolerance and physical dependence—Not quite as simple as it seemed! *Addiction (Abingdon, England)*, 96(1), 87–101. <https://doi.org/10.1046/j.1360-0443.2001.961877.x>
- Liu, Y., Sun, Y., Zhao, X., Kim, J.-Y., Luo, L., Wang, Q., Meng, X., Li, Y., Sui, N., Chen, Z.-F., Pan, C., Li, L., & Zhang, Y. (2019). Enhancement of Aggression Induced by Isolation Rearing is Associated with a Lack of Central Serotonin. *Neuroscience Bulletin*, 35(5), 841–852. <https://doi.org/10.1007/s12264-019-00373-w>
- Lopez, M. F., Doremus-Fitzwater, T. L., & Becker, H. C. (2011). Chronic social isolation and chronic variable stress during early development induce later elevated ethanol intake in adult C57BL/6J mice. *Alcohol*, 45(4), Article 4. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2010.08.017>
- Lopez, M. F., & Laber, K. (2015). Impact of social isolation and enriched environment during adolescence on voluntary ethanol intake and anxiety in C57BL/6J mice. *Physiology & Behavior*, 148, 151–156. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2014.11.012>
- Love, C. J., Gubert, C., Renoir, T., & Hannan, A. J. (2022). Environmental enrichment and exercise housing protocols for mice. *STAR Protocols*, 3(4), Article 4. <https://doi.org/10.1016/j.xpro.2022.101689>

- Lovinger, D. M. (2008). Communication networks in the brain: Neurons, receptors, neurotransmitters, and alcohol. *Alcohol Research & Health: The Journal of the National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism*, 31(3), 196–214.
- Lu, H., Cheng, P.-L., Lim, B. K., Khoshnevisrad, N., & Poo, M.-M. (2010). Elevated BDNF after cocaine withdrawal facilitates LTP in medial prefrontal cortex by suppressing GABA inhibition. *Neuron*, 67(5), 821–833. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.08.012>
- Lumeng, L., Waller, M. B., McBride, W. J., & Li, T. K. (1982). Different sensitivities to ethanol in alcohol-preferring and -nonpreferring rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 16(1), 125–130. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(82\)90023-5](https://doi.org/10.1016/0091-3057(82)90023-5)
- Lutz, C. K., & Novak, M. A. (2005). Environmental enrichment for nonhuman primates: Theory and application. *ILAR Journal*, 46(2), 178–191. <https://doi.org/10.1093/ilar.46.2.178>
- Lynch, W. J. (2006). Sex differences in vulnerability to drug self-administration. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*, 14(1), 34–41. <https://doi.org/10.1037/1064-1297.14.1.34>
- Lynch, W. J., Peterson, A. B., Sanchez, V., Abel, J., & Smith, M. A. (2013). Exercise as a novel treatment for drug addiction: A neurobiological and stage-dependent hypothesis. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 37(8), Article 8. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2013.06.011>
- Lynch, W. J., Piehl, K. B., Acosta, G., Peterson, A. B., & Hemby, S. E. (2010). Aerobic Exercise Attenuates Reinstatement of Cocaine-Seeking Behavior and Associated Neuroadaptations in the Prefrontal Cortex. *Biological Psychiatry*, 68(8), 774–777. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.06.022>
- Lyness, W. H., Smith, F. L., Heavner, J. E., Iacono, C. U., & Garvin, R. D. (1989). Morphine self-administration in the rat during adjuvant-induced arthritis. *Life Sciences*, 45(23), 2217–2224. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(89\)90062-3](https://doi.org/10.1016/0024-3205(89)90062-3)
- Macedo, G. C., Kawakami, S. E., Vignoli, T., Sinigaglia-Coimbra, R., & Suchecki, D. (2013). The influence of orexins on ethanol-induced behavioral sensitization in male mice. *Neuroscience Letters*, 551, 84–88. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2013.07.010>

- Mackenzie-Taylor, D., & Rech, R. H. (1991). Cellular and learned tolerances for ethanol hypothermia. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 38(1), 29–36. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(91\)90585-P](https://doi.org/10.1016/0091-3057(91)90585-P)
- Maddux, J. F., & Desmond, D. P. (2000). Addiction or dependence? *Addiction (Abingdon, England)*, 95(5), 661–665. <https://doi.org/10.1046/j.1360-0443.2000.9556611.x>
- Makowska, I. J., Franks, B., El-Hinn, C., Jorgensen, T., & Weary, D. M. (2019). Standard laboratory housing for mice restricts their ability to segregate space into clean and dirty areas. *Scientific Reports*, 9(1), 6179. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-42512-3>
- Makowska, I. J., & Weary, D. M. (2016). Differences in Anticipatory Behaviour between Rats (*Rattus norvegicus*) Housed in Standard versus Semi-Naturalistic Laboratory Environments. *PLoS One*, 11(1), e0147595. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147595>
- Maldonado, R., Valverde, O., & Berrendero, F. (2006). Involvement of the endocannabinoid system in drug addiction. *Trends in Neurosciences*, 29(4), 225–232. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2006.01.008>
- Maldonado-Devincci, A. M., Badanich, K. A., & Kirstein, C. L. (2010). Alcohol during adolescence selectively alters immediate and long-term behavior and neurochemistry. *Alcohol (Fayetteville, N. Y.)*, 44(1), 57–66. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2009.09.035>
- Malick, J. B., & Barnett, A. (1976). The role of serotonergic pathways in isolation-induced aggression in mice. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 5(1), 55–61. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(76\)90288-4](https://doi.org/10.1016/0091-3057(76)90288-4)
- Malone, S. G., Shaykin, J. D., Stairs, D. J., & Bardo, M. T. (2022). Neurobehavioral effects of environmental enrichment and drug abuse vulnerability: An updated review. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 221, 173471. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2022.173471>
- Mamlouk, G. M., Dorris, D. M., Barrett, L. R., & Meitzen, J. (2020). Sex bias and omission in neuroscience research is influenced by research model and journal, but not reported NIH funding. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 57, 100835. <https://doi.org/10.1016/j.yfrne.2020.100835>

- Manley, S. J., & Little, H. J. (1997). Enhancement of amphetamine- and cocaine-induced locomotor activity after chronic ethanol administration. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *281*(3), 1330–1339.
- Mansour, A., Khachaturian, H., Lewis, M. E., Akil, H., & Watson, S. J. (1988). Anatomy of CNS opioid receptors. *Trends in Neurosciences*, *11*(7), 308–314. [https://doi.org/10.1016/0166-2236\(88\)90093-8](https://doi.org/10.1016/0166-2236(88)90093-8)
- Marashi, V., Barnekow, A., & Sachser, N. (2004). Effects of environmental enrichment on males of a docile inbred strain of mice. *Physiology & Behavior*, *82*(5), 765–776. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.05.009>
- Marco, C. A., & Kelen, G. D. (1990). Acute intoxication. *Emergency Medicine Clinics of North America*, *8*(4), 731–748.
- Marco, E. M., Peñasco, S., Hernández, M.-D., Gil, A., Borcel, E., Moya, M., Giné, E., López-Moreno, J. A., Guerri, C., López-Gallardo, M., & Rodríguez de Fonseca, F. (2017). Long-Term Effects of Intermittent Adolescent Alcohol Exposure in Male and Female Rats. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *11*, 233. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2017.00233>
- Marianno, P., Abrahao, K. P., & Camarini, R. (2017). Environmental Enrichment Blunts Ethanol Consumption after Restraint Stress in C57BL/6 Mice. *PLOS ONE*, *12*(1), Article 1. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0170317>
- Marinho, E. A. V., Oliveira-Lima, A. J., Santos, R., Hollais, A. W., Baldaia, M. A., Wuo-Silva, R., Yokoyama, T. S., Takatsu-Coleman, A. L., Patti, C. L., Longo, B. M., Berro, L. F., & Frussa-Filho, R. (2015). Effects of rimonabant on the development of single dose-induced behavioral sensitization to ethanol, morphine and cocaine in mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, *58*, 22–31. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2014.11.010>
- Martin-Iverson, M. T., & Burger, L. Y. (1995). Behavioral sensitization and tolerance to cocaine and the occupation of dopamine receptors by dopamine. *Molecular Neurobiology*, *11*(1–3), 31–46. <https://doi.org/10.1007/BF02740682>
- Mason, B. J., Salvato, F. R., Williams, L. D., Ritvo, E. C., & Cutler, R. B. (1999). A double-blind, placebo-controlled study of oral nalmefene for alcohol dependence. *Archives of General Psychiatry*, *56*(8), 719–724. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.56.8.719>

- Mason, G. J. (1991). Stereotypies and suffering. *Behavioural Processes*, 25(2–3), 103–115. [https://doi.org/10.1016/0376-6357\(91\)90013-P](https://doi.org/10.1016/0376-6357(91)90013-P)
- Masur, J., & Boerngen, R. (1980). The excitatory component of ethanol in mice: A chronic study. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 13(6), 777–780. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(80\)90206-3](https://doi.org/10.1016/0091-3057(80)90206-3)
- Masur, J., & dos Santos, H. M. (1988). Response variability of ethanol-induced locomotor activation in mice. *Psychopharmacology*, 96(4), 547–550. <https://doi.org/10.1007/BF02180038>
- Masur, J., Oliveira de Souza, M. L., & Zwicker, A. P. (1986). The excitatory effect of ethanol: Absence in rats, no tolerance and increased sensitivity in mice. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 24(5), 1225–1228. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(86\)90175-9](https://doi.org/10.1016/0091-3057(86)90175-9)
- Matonda-Ma-Nzuzi, T., Didone, V., Seutin, V., Tirelli, E., & Quertemont, E. (2019). Investigating the reciprocal relationships between locomotor sensitization to ethanol and PTSD-like clusters in DBA/2J mice. *Behavioural Brain Research*, 368, 111909. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.111909>
- Matsumoto, K., Fujiwara, H., Araki, R., & Yabe, T. (2019). Post-weaning social isolation of mice: A putative animal model of developmental disorders. *Journal of Pharmacological Sciences*, 141(3), 111–118. <https://doi.org/10.1016/j.jpshs.2019.10.002>
- Matthews, G. A., & Tye, K. M. (2019). Neural mechanisms of social homeostasis. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1457(1), Article 1. <https://doi.org/10.1111/nyas.14016>
- Mattson, M. P. (2000). Neuroprotective signaling and the aging brain: Take away my food and let me run. *Brain Research*, 886(1–2), 47–53. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(00\)02790-6](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(00)02790-6)
- Mattson, M. P., Duan, W., Lee, J., & Guo, Z. (2001). Suppression of brain aging and neurodegenerative disorders by dietary restriction and environmental enrichment: Molecular mechanisms. *Mechanisms of Ageing and Development*, 122(7), 757–778. [https://doi.org/10.1016/s0047-6374\(01\)00226-3](https://doi.org/10.1016/s0047-6374(01)00226-3)

- Maurage, P., Lannoy, S., Mange, J., Grynberg, D., Beaunieux, H., Banovic, I., Gierski, F., & Naassila, M. (2020). What We Talk About When We Talk About Binge Drinking: Towards an Integrated Conceptualization and Evaluation. *Alcohol and Alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 55(5), 468–479. <https://doi.org/10.1093/alcalc/aaa041>
- Mazarakis, N. K., Mo, C., Renoir, T., van Dellen, A., Deacon, R., Blakemore, C., & Hannan, A. J. (2014). “Super-Enrichment” Reveals Dose-Dependent Therapeutic Effects of Environmental Stimulation in a Transgenic Mouse Model of Huntington’s Disease. *Journal of Huntington’s Disease*, 3(3), 299–309. <https://doi.org/10.3233/JHD-140118>
- McAuliffe, W. E. (1982). A test of Wikler’s theory of relapse: The frequency of relapse due to conditioned withdrawal sickness. *The International Journal of the Addictions*, 17(1), 19–33. <https://doi.org/10.3109/10826088209054607>
- McCool, B. A., & Chappell, A. M. (2009). Early social isolation in male Long-Evans rats alters both appetitive and consummatory behaviors expressed during operant ethanol self-administration. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 33(2), 273–282. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2008.00830.x>
- McIlveen, R., & Gross, R. D. (1996). *Biopsychology*. Hodder & Stoughton.
- McKeon, A., Frye, M. A., & Delanty, N. (2008). The alcohol withdrawal syndrome. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 79(8), 854–862. <https://doi.org/10.1136/jnnp.2007.128322>
- McKinsey & Company. (2014). *Overcoming obesity: An initial economic analysis*. https://www.mckinsey.com/~media/mckinsey/business%20functions/economic%20studies%20temp/our%20insights/how%20the%20world%20could%20better%20fight%20obesity/mgi_overcoming_obesity_full_report.ashx
- McQuaid, R. J., Dunn, R., Jacobson-Pick, S., Anisman, H., & Audet, M.-C. (2018). Post-weaning Environmental Enrichment in Male CD-1 Mice: Impact on Social Behaviors, Corticosterone Levels and Prefrontal Cytokine Expression in Adulthood. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 12, 145. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2018.00145>
- McQueeney, T., Schweinsburg, B. C., Schweinsburg, A. D., Jacobus, J., Bava, S., Frank, L. R., & Tapert, S. F. (2009). Altered white matter integrity in adolescent binge drinkers. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 33(7), 1278–1285. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2009.00953.x>

- Medina, K. L., McQueeney, T., Nagel, B. J., Hanson, K. L., Schweinsburg, A. D., & Tapert, S. F. (2008). Prefrontal cortex volumes in adolescents with alcohol use disorders: Unique gender effects. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 32(3), 386–394. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2007.00602.x>
- Meijer, J. H., & Robbers, Y. (2014). Wheel running in the wild. *Proceedings. Biological Sciences*, 281(1786), 20140210. <https://doi.org/10.1098/rspb.2014.0210>
- Melchior, C. L. (1988). Environment-dependent tolerance to ethanol produced by intracerebroventricular injections in mice. *Psychopharmacology*, 96(2), 258–261. <https://doi.org/10.1007/BF00177571>
- Melendez, R. I., Gregory, M. L., Bardo, M. T., & Kalivas, P. W. (2004). Impoverished rearing environment alters metabotropic glutamate receptor expression and function in the prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 29(11), 1980–1987. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300507>
- Melgaard, B. (1983). The neurotoxicity of ethanol. *Acta Neurologica Scandinavica*, 67(3), 131–142. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0404.1983.tb04556.x>
- Melón, L. C., & Boehm, S. L. (2011). 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: DEVELOPMENT OF LOCOMOTOR SENSITIZATION TO ALCOHOL. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, 35(7), 1351–1360. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2011.01471.x>
- Mering, S., Kaliste-Korhonen, E., & Nevalainen, T. (2001). Estimates of appropriate number of rats: Interaction with housing environment. *Laboratory Animals*, 35(1), 80–90. <https://doi.org/10.1258/0023677011911408>
- Merkley, C. M., Jian, C., Mosa, A., Tan, Y.-F., & Wojtowicz, J. M. (2014). Homeostatic regulation of adult hippocampal neurogenesis in aging rats: Long-term effects of early exercise. *Frontiers in Neuroscience*, 8, 174. <https://doi.org/10.3389/fnins.2014.00174>
- Mesa-Gresa, P., Pérez-Martinez, A., & Redolat, R. (2013). Behavioral effects of combined environmental enrichment and chronic nicotine administration in male NMRI mice. *Physiology & Behavior*, 114–115, 65–76. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2013.03.010>

- Meyer, P. J., & Phillips, T. J. (2007). Behavioral sensitization to ethanol does not result in cross-sensitization to NMDA receptor antagonists. *Psychopharmacology*, *195*(1), 103–115. <https://doi.org/10.1007/s00213-007-0871-3>
- Meziane, H., Ouagazzal, A.-M., Aubert, L., Wietrzych, M., & Krezel, W. (2007). Estrous cycle effects on behavior of C57BL/6J and BALB/cByJ female mice: Implications for phenotyping strategies. *Genes, Brain, and Behavior*, *6*(2), 192–200. <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2006.00249.x>
- Miczek, K. A., Barros, H. M., Sakoda, L., & Weerts, E. M. (1998). Alcohol and heightened aggression in individual mice. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, *22*(8), 1698–1705.
- Miczek, K. A., Maxson, S. C., Fish, E. W., & Faccidomo, S. (2001). Aggressive behavioral phenotypes in mice. *Behavioural Brain Research*, *125*(1–2), 167–181. [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(01\)00298-4](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(01)00298-4)
- Mieske, P., Diederich, K., & Lewejohann, L. (2021). Roaming in a Land of Milk and Honey: Life Trajectories and Metabolic Rate of Female Inbred Mice Living in a Semi Naturalistic Environment. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, *11*(10), Article 10. <https://doi.org/10.3390/ani11103002>
- Mieske, P., Hobbiesiefken, U., Fischer-Tenhagen, C., Heintz, C., Hohlbaum, K., Kahnau, P., Meier, J., Wilzopolski, J., Butzke, D., Rudeck, J., Lewejohann, L., & Diederich, K. (2022). Bored at home?-A systematic review on the effect of environmental enrichment on the welfare of laboratory rats and mice. *Frontiers in Veterinary Science*, *9*, 899219. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.899219>
- Mifflin, K. A., & Kerr, B. J. (2013). Sex-related differences in acute and chronic pain: A bench to bedside perspective. *Canadian Journal of Anaesthesia = Journal Canadien D'anesthésie*, *60*(3), 221–226. <https://doi.org/10.1007/s12630-012-9881-7>
- Miller, J. W., Naimi, T. S., Brewer, R. D., & Jones, S. E. (2007). Binge drinking and associated health risk behaviors among high school students. *Pediatrics*, *119*(1), 76–85. <https://doi.org/10.1542/peds.2006-1517>
- Miller, K. M., Risher, M.-L., Acheson, S. K., Darlow, M., Sexton, H. G., Schramm-Sapyta, N., & Swartzwelder, H. S. (2017). Behavioral Inefficiency on a Risky Decision-Making

- Task in Adulthood after Adolescent Intermittent Ethanol Exposure in Rats. *Scientific Reports*, 7(1), 4680. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-04704-7>
- Mogil, J. S., & Chanda, M. L. (2005). The case for the inclusion of female subjects in basic science studies of pain. *Pain*, 117(1–2), 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.pain.2005.06.020>
- Mohammed, A. H., Zhu, S. W., Darmopil, S., Hjerling-Leffler, J., Ernfors, P., Winblad, B., Diamond, M. C., Eriksson, P. S., & Bogdanovic, N. (2002). Environmental enrichment and the brain. *Progress in Brain Research*, 138, 109–133. [https://doi.org/10.1016/S0079-6123\(02\)38074-9](https://doi.org/10.1016/S0079-6123(02)38074-9)
- Mollenauer, S., Bryson, R., Speck, C., & Chamberlin, J. R. (1992). Effects of exercise on ethanol-induced hypothermia and loss of righting response in C57BL/6J mice. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 43(1), Article 1. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(92\)90669-7](https://doi.org/10.1016/0091-3057(92)90669-7)
- Mollgaard, K., Diamond, M. C., Bennett, E. L., Rosenzweig, M. R., & Lindner, B. (1971). Quantitative synaptic changes with differential experience in rat brain. *The International Journal of Neuroscience*, 2(3), 113–127. <https://doi.org/10.3109/00207457109148764>
- Moncek, F., Duncko, R., Johansson, B. B., & Jezova, D. (2004). Effect of environmental enrichment on stress related systems in rats. *Journal of Neuroendocrinology*, 16(5), 423–431. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.2004.01173.x>
- Monfils, M. H., & Agee, L. A. (2019). Insights from social transmission of information in rodents. *Genes, Brain, and Behavior*, 18(1), e12534. <https://doi.org/10.1111/gbb.12534>
- Montesinos, J., Pascual, M., Rodríguez-Arias, M., Miñarro, J., & Guerri, C. (2016). Involvement of TLR4 in the long-term epigenetic changes, rewarding and anxiety effects induced by intermittent ethanol treatment in adolescence. *Brain, Behavior, and Immunity*, 53, 159–171. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2015.12.006>
- Mora, F., Segovia, G., & Del Arco, A. (2008). Glutamate-dopamine-GABA interactions in the aging basal ganglia. *Brain Research Reviews*, 58(2), 340–353. <https://doi.org/10.1016/j.brainresrev.2007.10.006>

- Mora-Gallegos, A., Rojas-Carvajal, M., Salas, S., Saborío-Arce, A., Fornaguera-Trías, J., & Brenes, J. C. (2015). Age-dependent effects of environmental enrichment on spatial memory and neurochemistry. *Neurobiology of Learning and Memory*, *118*, 96–104. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2014.11.012>
- Moreau, N., Martensen, H., & Daniels, S. (2022). Lowering the legal alcohol limit in Belgium: Potential effects on the number of traffic victims. *Accident; Analysis and Prevention*, *166*, 106542. <https://doi.org/10.1016/j.aap.2021.106542>
- Morgan, J. A., Singhal, G., Corrigan, F., Jaehne, E. J., Jawahar, M. C., & Baune, B. T. (2018). The effects of aerobic exercise on depression-like, anxiety-like, and cognition-like behaviours over the healthy adult lifespan of C57BL/6 mice. *Behavioural Brain Research*, *337*, 193–203. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.09.022>
- Morgan, K. N., & Tromborg, C. T. (2007). Sources of stress in captivity. *Applied Animal Behaviour Science*, *102*(3), Article 3. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2006.05.032>
- Morley-Fletcher, S., Rea, M., Maccari, S., & Laviola, G. (2003). Environmental enrichment during adolescence reverses the effects of prenatal stress on play behaviour and HPA axis reactivity in rats. *The European Journal of Neuroscience*, *18*(12), 3367–3374. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2003.03070.x>
- Morton, R. A., Diaz, M. R., Topper, L. A., & Valenzuela, C. F. (2014). Construction of vapor chambers used to expose mice to alcohol during the equivalent of all three trimesters of human development. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, *89*, 51839. <https://doi.org/10.3791/51839>
- Muncie, H. L., Yasinian, Y., & Oge', L. (2013). Outpatient management of alcohol withdrawal syndrome. *American Family Physician*, *88*(9), 589–595.
- Munn, E., Bunning, M., Prada, S., Bohlen, M., Crabbe, J. C., & Wahlsten, D. (2011). Reversed light-dark cycle and cage enrichment effects on ethanol-induced deficits in motor coordination assessed in inbred mouse strains with a compact battery of refined tests. *Behavioural Brain Research*, *224*(2), Article 2. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.05.030>
- Murray, T. D., & Berger, A. (1997). Alcohol withdrawal. *Virginia Medical Quarterly: VMQ*, *124*(3), 184–187, 189.

- Naassila, M., Pierrefiche, O., Ledent, C., & Daoust, M. (2004). Decreased alcohol self-administration and increased alcohol sensitivity and withdrawal in CB1 receptor knockout mice. *Neuropharmacology*, *46*(2), 243–253. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2003.09.002>
- Nagy, J., Kolok, S., Boros, A., & Dezsó, P. (2005). Role of Altered Structure and Function of NMDA Receptors in Development of Alcohol Dependence. *Current Neuropharmacology*, *3*(4), 281–297. <https://doi.org/10.2174/157015905774322499>
- Nathan, P. E., Conrad, M., & Skinstad, A. H. (2016). History of the Concept of Addiction. *Annual Review of Clinical Psychology*, *12*(1), 29–51. <https://doi.org/10.1146/annurev-clinpsy-021815-093546>
- National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism. (2012). Stress and Alcohol. *Alcohol Research: Current Reviews*, *34*(4), 381–528.
- National Research Council. (2011). *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (8th ed.). National Academies Press (US). <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK54050/>
- Nestby, P., Vanderschuren, L. J., De Vries, T. J., Hogenboom, F., Wardeh, G., Mulder, A. H., & Schoffelmeer, A. N. (1997). Ethanol, like psychostimulants and morphine, causes long-lasting hyperreactivity of dopamine and acetylcholine neurons of rat nucleus accumbens: Possible role in behavioural sensitization. *Psychopharmacology*, *133*(1), 69–76. <https://doi.org/10.1007/s002130050373>
- Nestby, P., Vanderschuren, L. J., De Vries, T. J., Mulder, A. H., Wardeh, G., Hogenboom, F., & Schoffelmeer, A. N. (1999). Unrestricted free-choice ethanol self-administration in rats causes long-term neuroadaptations in the nucleus accumbens and caudate putamen. *Psychopharmacology*, *141*(3), 307–314. <https://doi.org/10.1007/s002130050838>
- Nestler, E. J. (2001). Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. *Nature Reviews. Neuroscience*, *2*(2), 119–128. <https://doi.org/10.1038/35053570>
- Nestler, E. J. (2002). Common molecular and cellular substrates of addiction and memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, *78*(3), 637–647. <https://doi.org/10.1006/nlme.2002.4084>

- Nevison, C. M., Hurst, J. L., & Barnard, C. J. (1999). Why do male ICR(CD-1) mice perform bar-related (stereotypic) behaviour? *Behavioural Processes*, 47(2), 95–111. [https://doi.org/10.1016/s0376-6357\(99\)00053-4](https://doi.org/10.1016/s0376-6357(99)00053-4)
- Newberry, R. C. (1995). Environmental enrichment: Increasing the biological relevance of captive environments. *Applied Animal Behaviour Science*, 44(2), Article 2. [https://doi.org/10.1016/0168-1591\(95\)00616-Z](https://doi.org/10.1016/0168-1591(95)00616-Z)
- Newlin, D. B., & Thomson, J. B. (1990). Alcohol challenge with sons of alcoholics: A critical review and analysis. *Psychological Bulletin*, 108(3), 383–402. <https://doi.org/10.1037/0033-2909.108.3.383>
- Newlin, D. B., & Thomson, J. B. (1991). Chronic tolerance and sensitization to alcohol in sons of alcoholics. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 15(3), 399–405. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1991.tb00537.x>
- Newlin, D. B., & Thomson, J. B. (1999). Chronic tolerance and sensitization to alcohol in sons of alcoholics: II. Replication and reanalysis. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*, 7(3), 234–243. <https://doi.org/10.1037//1064-1297.7.3.234>
- Newman, E. L., Chu, A., Bahamón, B., Takahashi, A., Debold, J. F., & Miczek, K. A. (2012). NMDA receptor antagonism: Escalation of aggressive behavior in alcohol-drinking mice. *Psychopharmacology*, 224(1), 167–177. <https://doi.org/10.1007/s00213-012-2734-9>
- Nichter, M., Nichter, M., Carkoglu, A., Lloyd-Richardson, E., & Tobacco Etiology Research Network (TERN). (2010). Smoking and drinking among college students: “it’s a package deal.” *Drug and Alcohol Dependence*, 106(1), 16–20. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2009.07.025>
- Nicol, C. J. (1995). The social transmission of information and behaviour. *Applied Animal Behaviour Science*, 44(2–4), 79–98. [https://doi.org/10.1016/0168-1591\(95\)00607-T](https://doi.org/10.1016/0168-1591(95)00607-T)
- Nicol, C. J., Brocklebank, S., Mendl, M., & Sherwin, C. M. (2008). A targeted approach to developing environmental enrichment for two strains of laboratory mice. *Applied Animal Behaviour Science*, 110(3), 341–353. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2007.05.006>

- Noble, E. P. (1996). Alcoholism and the dopaminergic system: A review. *Addiction Biology*, 1(4), 333–348. <https://doi.org/10.1080/1355621961000124956>
- Nolen, G. A., & Alexander, J. C. (1966). Effects of diet and type of nesting material on the reproduction and lactation of the rat. *Laboratory Animal Care*, 16(4), 327–336.
- Nona, C. N., Hendershot, C. S., & Lê, A. D. (2018). Behavioural sensitization to alcohol: Bridging the gap between preclinical research and human models. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 173, 15–26. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2018.08.003>
- Norris, M. L., & Adams, C. E. (1976). Incidence of pup mortality in the rat with particular reference to nesting material, maternal age and parity. *Laboratory Animals*, 10(2), 165–169. <https://doi.org/10.1258/002367776781071486>
- Nourrisson, D. (1988). AUX ORIGINES DE L'ANTIALCOOLISME. *Histoire, Économie et Société*, 7(4), 491–506.
- Nowak, K. L., Ingraham, C. M., Mckinzie, D. L., McBride, W. J., Lumeng, L., Li, T. K., & Murphy, J. M. (2000). An assessment of novelty-seeking behavior in alcohol-preferring and nonpreferring rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 66(1), 113–121. [https://doi.org/10.1016/s0091-3057\(00\)00206-9](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(00)00206-9)
- Ntais, C., Pakos, E., Kyzas, P., & Ioannidis, J. P. A. (2005). Benzodiazepines for alcohol withdrawal. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 3, CD005063. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD005063.pub2>
- Nutt, D. J., King, L. A., & Phillips, L. D. (2010). Drug harms in the UK: A multicriteria decision analysis. *The Lancet*, 376(9752), 1558–1565. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)61462-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61462-6)
- Nyssen, L., Brabant, C., Didone, V., & Quertemont, E. (2016). Response to novelty and cocaine stimulant effects: Lack of stability across environments in female Swiss mice. *Psychopharmacology*, 233(4), Article 4. <https://doi.org/10.1007/s00213-015-4146-0>
- O'Brien, C. P. (1994). Treatment of alcoholism as a chronic disorder. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, 11(6), 433–437. [https://doi.org/10.1016/0741-8329\(94\)90063-9](https://doi.org/10.1016/0741-8329(94)90063-9)
- O'Brien, C. P. (2015). Drug Addiction. In L. L. Brunton, B. A. Chabner, & B. C. Knollmann (Eds.), *Goodman & Gilman's: The Pharmacological Basis of Therapeutics* (12th ed.).

McGraw-Hill

Education.

accessmedicine.mhmedical.com/content.aspx?aid=1127867096

- O'Brien, C. P., & McLellan, A. T. (1996). Myths about the treatment of addiction. *Lancet (London, England)*, 347(8996), 237–240. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(96\)90409-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(96)90409-2)
- O'Brien, C. P., Volkow, N., & Li, T.-K. (2006). What's in a word? Addiction versus dependence in DSM-V. *The American Journal of Psychiatry*, 163(5), 764–765. <https://doi.org/10.1176/ajp.2006.163.5.764>
- O'Brien, M. A., Weston, R. M., Sheth, N. U., Bradley, S., Bigbee, J., Pandey, A., Williams, R. W., Wolstenholme, J. T., & Miles, M. F. (2018). Ethanol-Induced Behavioral Sensitization Alters the Synaptic Transcriptome and Exon Utilization in DBA/2J Mice. *Frontiers in Genetics*, 9, 402. <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00402>
- O'Callaghan, R. M., Griffin, E. W., & Kelly, A. M. (2009). Long-term treadmill exposure protects against age-related neurodegenerative change in the rat hippocampus. *Hippocampus*, 19(10), 1019–1029. <https://doi.org/10.1002/hipo.20591>
- Oertelt-Prigione, S., Parol, R., Krohn, S., Preissner, R., & Regitz-Zagrosek, V. (2010). Analysis of sex and gender-specific research reveals a common increase in publications and marked differences between disciplines. *BMC Medicine*, 8, 70. <https://doi.org/10.1186/1741-7015-8-70>
- Ogawa, S., Choleris, E., & Pfaff, D. (2004). Genetic influences on aggressive behaviors and arousability in animals. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1036, 257–266. <https://doi.org/10.1196/annals.1330.016>
- Ohline, S. M., & Abraham, W. C. (2019). Environmental enrichment effects on synaptic and cellular physiology of hippocampal neurons. *Neuropharmacology*, 145(Pt A), 3–12. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.04.007>
- Ohsawa, M., & Kamei, J. (1999). Modification of the effect of diazepam on the propofol-induced loss of the righting reflex in mice by diabetes. *Brain Research*, 833(2), 282–285. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(99\)01507-3](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(99)01507-3)
- Ojima, K., Matsumoto, K., Tohda, M., & Watanabe, H. (1995). Hyperactivity of central noradrenergic and CRF systems is involved in social isolation-induced decrease in

- pentobarbital sleep. *Brain Research*, 684(1), 87–94. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(95\)00388-7](https://doi.org/10.1016/0006-8993(95)00388-7)
- Olds, J., & Milner, P. (1954). Positive reinforcement produced by electrical stimulation of septal area and other regions of rat brain. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 47(6), 419–427. <https://doi.org/10.1037/h0058775>
- Olive, M. F., Koenig, H. N., Nannini, M. A., & Hodge, C. W. (2001). Stimulation of endorphin neurotransmission in the nucleus accumbens by ethanol, cocaine, and amphetamine. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 21(23), RC184.
- Olson, A. K., Eadie, B. D., Ernst, C., & Christie, B. R. (2006). Environmental enrichment and voluntary exercise massively increase neurogenesis in the adult hippocampus via dissociable pathways. *Hippocampus*, 16(3), 250–260. <https://doi.org/10.1002/hipo.20157>
- Olsson, I. A. S., & Dahlborn, K. (2002). Improving housing conditions for laboratory mice: A review of “environmental enrichment.” *Laboratory Animals*, 36(3), 243–270. <https://doi.org/10.1258/002367702320162379>
- Olsson, I. A. S., Nevison, C. M., Patterson-Kane, E. G., Sherwin, C. M., Van de Weerd, H. A., & Würbel, H. (2003). Understanding behaviour: The relevance of ethological approaches in laboratory animal science. *Applied Animal Behaviour Science*, 81(3), 245–264. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(02\)00285-X](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(02)00285-X)
- Olsson, I. A. S., & Westlund, K. (2007). More than numbers matter: The effect of social factors on behaviour and welfare of laboratory rodents and non-human primates. *Applied Animal Behaviour Science*, 103(3), Article 3. <https://doi.org/10.1016/j.applanim.2006.05.022>
- O’Rourke, K. Y., Touchette, J. C., Hartell, E. C., Bade, E. J., & Lee, A. M. (2016). Voluntary co-consumption of alcohol and nicotine: Effects of abstinence, intermittency, and withdrawal in mice. *Neuropharmacology*, 109, 236–246. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2016.06.023>
- Ozburn, A. R., Harris, R. A., & Blednov, Y. A. (2008). Wheel running, voluntary ethanol consumption, and hedonic substitution. *Alcohol*, 42(5), Article 5. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2008.04.006>

- Ozburn, A. R., Harris, R. A., & Blednov, Y. A. (2013). Chronic voluntary alcohol consumption results in tolerance to sedative/hypnotic and hypothermic effects of alcohol in hybrid mice. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *104*, 33–39. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2012.12.025>
- Päivärinta, P. (1990). Social isolation increases the stimulatory effect of ethanol on locomotor activity. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, *36*(2), Article 2. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(90\)90422-E](https://doi.org/10.1016/0091-3057(90)90422-E)
- Palmer, E., Tyacke, R., Sastre, M., Lingford-Hughes, A., Nutt, D., & Ward, R. J. (2019). Alcohol Hangover: Underlying Biochemical, Inflammatory and Neurochemical Mechanisms. *Alcohol and Alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, *54*(3), 196–203. <https://doi.org/10.1093/alcalc/agz016>
- Pandey, S. C., Sakharkar, A. J., Tang, L., & Zhang, H. (2015). Potential role of adolescent alcohol exposure-induced amygdaloid histone modifications in anxiety and alcohol intake during adulthood. *Neurobiology of Disease*, *82*, 607–619. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2015.03.019>
- Paolone, G., Burdino, R., & Badiani, A. (2003). Dissociation in the modulatory effects of environmental novelty on the locomotor, analgesic, and eating response to acute and repeated morphine in the rat. *Psychopharmacology*, *166*(2), 146–155. <https://doi.org/10.1007/s00213-002-1321-x>
- Papachristou, H., Nederkoorn, C., Havermans, R., van der Horst, M., & Jansen, A. (2012). Can't stop the craving: The effect of impulsivity on cue-elicited craving for alcohol in heavy and light social drinkers. *Psychopharmacology*, *219*(2), 511–518. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2240-5>
- Parmigiani, S., Mainardi, M., Brain, P. F., Haug, M., & Brunoni, V. (1989). Variation in aggressive behavior and anatomo-physiological correlates generated by crowding without physical contact in the house mouse. *Aggressive Behavior*, *15*(3), 191–200. [https://doi.org/10.1002/1098-2337\(1989\)15:3<191::AID-AB2480150302>3.0.CO;2-U](https://doi.org/10.1002/1098-2337(1989)15:3<191::AID-AB2480150302>3.0.CO;2-U)
- Pascual, M., Blanco, A. M., Cauli, O., Miñarro, J., & Guerri, C. (2007). Intermittent ethanol exposure induces inflammatory brain damage and causes long-term behavioural alterations in adolescent rats. *The European Journal of Neuroscience*, *25*(2), 541–550. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2006.05298.x>

- Pascual, R., Valencia, M., & Bustamante, C. (2015). Purkinje cell dendritic atrophy induced by prenatal stress is mitigated by early environmental enrichment. *Neuropediatrics*, *46*(1), 37–43. <https://doi.org/10.1055/s-0034-1395344>
- Pastor, R., & Aragon, C. M. G. (2006). The role of opioid receptor subtypes in the development of behavioral sensitization to ethanol. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, *31*(7), 1489–1499. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300928>
- Pastor, R., McKinnon, C. S., Scibelli, A. C., Burkhart-Kasch, S., Reed, C., Ryabinin, A. E., Coste, S. C., Stenzel-Poore, M. P., & Phillips, T. J. (2008). Corticotropin-releasing factor-1 receptor involvement in behavioral neuroadaptation to ethanol: A urocortin1-independent mechanism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *105*(26), 9070–9075. <https://doi.org/10.1073/pnas.0710181105>
- Pastor, R., Reed, C., Meyer, P. J., McKinnon, C., Ryabinin, A. E., & Phillips, T. J. (2012). Role of corticotropin-releasing factor and corticosterone in behavioral sensitization to ethanol. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, *341*(2), 455–463. <https://doi.org/10.1124/jpet.111.190595>
- Pathak, G., Ibrahim, B. A., McCarthy, S. A., Baker, K., & Kelly, M. P. (2015). Amphetamine sensitization in mice is sufficient to produce both manic- and depressive-related behaviors as well as changes in the functional connectivity of corticolimbic structures. *Neuropharmacology*, *95*, 434–447. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2015.04.026>
- Pautassi, R. M., Suárez, A. B., Hoffmann, L. B., Rueda, A. V., Rae, M., Marianno, P., & Camarini, R. (2017). Effects of environmental enrichment upon ethanol-induced conditioned place preference and pre-frontal BDNF levels in adolescent and adult mice. *Scientific Reports*, *7*(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08795-0>
- Pawlak, C. R., Ho, Y.-J., & Schwarting, R. K. W. (2008). Animal models of human psychopathology based on individual differences in novelty-seeking and anxiety. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *32*(8), 1544–1568. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2008.06.007>

- Pellow, S., Chopin, P., File, S. E., & Briley, M. (1985). Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*, 14(3), 149–167. [https://doi.org/10.1016/0165-0270\(85\)90031-7](https://doi.org/10.1016/0165-0270(85)90031-7)
- Peña, Y., Prunell, M., Rotllant, D., Armario, A., & Escorihuela, R. M. (2009). Enduring effects of environmental enrichment from weaning to adulthood on pituitary-adrenal function, pre-pulse inhibition and learning in male and female rats. *Psychoneuroendocrinology*, 34(9), 1390–1404. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2009.04.019>
- Perlman, D., & Peplau, L. (1981). Toward a social psychology of loneliness Personal relationships 3. *Personal Relationships in Disorder*, 3, 31–43.
- Petit, G., Maurage, P., Kornreich, C., Verbanck, P., & Campanella, S. (2014). Binge drinking in adolescents: A review of neurophysiological and neuroimaging research. *Alcohol and Alcoholism (Oxford, Oxfordshire)*, 49(2), 198–206. <https://doi.org/10.1093/alcalc/agt172>
- Pham, T. M., Brené, S., & Baumans, V. (2005). Behavioral assessment of intermittent wheel running and individual housing in mice in the laboratory. *Journal of Applied Animal Welfare Science: JAAWS*, 8(3), Article 3. https://doi.org/10.1207/s15327604jaws0803_1
- Pham, T. M., Söderström, S., Winblad, B., & Mohammed, A. H. (1999). Effects of environmental enrichment on cognitive function and hippocampal NGF in the non-handled rats. *Behavioural Brain Research*, 103(1), 63–70. [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(99\)00019-4](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(99)00019-4)
- Phillips, T. J., Dickinson, S., & Burkhart-Kasch, S. (1994). Behavioral sensitization to drug stimulant effects in C57BL/6J and DBA/2J inbred mice. *Behavioral Neuroscience*, 108(4), 789–803. <https://doi.org/10.1037//0735-7044.108.4.789>
- Phillips, T. J., Huson, M., Gwiazdon, C., Burkhart-Kasch, S., & Shen, E. H. (1995). Effects of acute and repeated ethanol exposures on the locomotor activity of BXD recombinant inbred mice. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 19(2), 269–278. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1995.tb01502.x>
- Phillips, T. J., Lessov, C. N., Harland, R. D., & Mitchell, S. R. (1996). Evaluation of potential genetic associations between ethanol tolerance and sensitization in BXD/Ty

- recombinant inbred mice. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 277(2), 613–623.
- Phillips, T. J., Roberts, A. J., & Lessov, C. N. (1997). Behavioral sensitization to ethanol: Genetics and the effects of stress. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 57(3), Article 3. [https://doi.org/10.1016/s0091-3057\(96\)00448-0](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(96)00448-0)
- Phillips, T. J., & Shen, E. H. (1996). Neurochemical bases of locomotion and ethanol stimulant effects. *International Review of Neurobiology*, 39, 243–282. [https://doi.org/10.1016/s0074-7742\(08\)60669-8](https://doi.org/10.1016/s0074-7742(08)60669-8)
- Phillips, T., Pastor, R., Scibelli, A., Reed, C., & Tarragon, E. (2010). Behavioral Sensitization to Addictive Drugs: Clinical Relevance and Methodological Aspects. In *Neuromethods* (Vol. 50, pp. 267–305). https://doi.org/10.1007/978-1-60761-883-6_11
- Piazza, P. V., Deminière, J. M., Le Moal, M., & Simon, H. (1989). Factors that predict individual vulnerability to amphetamine self-administration. *Science (New York, N.Y.)*, 245(4925), 1511–1513. <https://doi.org/10.1126/science.2781295>
- Piazza, P. V., Deminiere, J. M., le Moal, M., & Simon, H. (1990). Stress- and pharmacologically-induced behavioral sensitization increases vulnerability to acquisition of amphetamine self-administration. *Brain Research*, 514(1), 22–26. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(90\)90431-a](https://doi.org/10.1016/0006-8993(90)90431-a)
- Piazza, P. V., & Deroche-Gamonet, V. (2013). A multistep general theory of transition to addiction. *Psychopharmacology*, 229(3), 387–413. <https://doi.org/10.1007/s00213-013-3224-4>
- Pieper, J. O., Forester, D. C., & Elmer, G. I. (1997). Mice show strain differences in social affiliation. Implications for open field behavior. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 807, 552–555. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1997.tb51966.x>
- Pietropaolo, S., Branchi, I., Cirulli, F., Chiarotti, F., Aloe, L., & Alleva, E. (2004). Long-term effects of the periadolescent environment on exploratory activity and aggressive behaviour in mice: Social versus physical enrichment. *Physiology & Behavior*, 81(3), 443–453. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2004.02.022>

- Pietropaolo, S., Singer, P., Feldon, J., & Yee, B. K. (2008). The postweaning social isolation in C57BL/6 mice: Preferential vulnerability in the male sex. *Psychopharmacology*, *197*(4), 613–628. <https://doi.org/10.1007/s00213-008-1081-3>
- Pina, M. M., & Cunningham, C. L. (2014). Effects of the novel cannabinoid CB1 receptor antagonist PF 514273 on the acquisition and expression of ethanol conditioned place preference. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, *48*(5), 427–431. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2014.01.013>
- Pinna, G., Costa, E., & Guidotti, A. (2005). Changes in brain testosterone and allopregnanolone biosynthesis elicit aggressive behavior. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *102*(6), 2135–2140. <https://doi.org/10.1073/pnas.0409643102>
- Pinna, G., Dong, E., Matsumoto, K., Costa, E., & Guidotti, A. (2003). In socially isolated mice, the reversal of brain allopregnanolone down-regulation mediates the anti-aggressive action of fluoxetine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *100*(4), 2035–2040. <https://doi.org/10.1073/pnas.0337642100>
- Poole, T. (1997). Happy animals make good science. *Laboratory Animals*, *31*(2), 116–124. <https://doi.org/10.1258/002367797780600198>
- Porter, G. (1965). The provision of sterile bedding and nesting materials with their effects on breeding mice. *Journal of the Animal Technician Association [Animal Technology]*, *16*, 5–8.
- Post, R. M. (1980). Intermittent versus continuous stimulation: Effect of time interval on the development of sensitization or tolerance. *Life Sciences*, *26*(16), 1275–1282. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(80\)90085-5](https://doi.org/10.1016/0024-3205(80)90085-5)
- Post, R. M., Lockfeld, A., Squillace, K. M., & Contel, N. R. (1981). Drug-environment interaction: Context dependency of cocaine-induced behavioral sensitization. *Life Sciences*, *28*(7), 755–760. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(81\)90157-0](https://doi.org/10.1016/0024-3205(81)90157-0)
- Post, R. M., & Rose, H. (1976). Increasing effects of repetitive cocaine administration in the rat. *Nature*, *260*(5553), 731–732. <https://doi.org/10.1038/260731a0>

- Poulos, C. X., & Cappell, H. (1991). Homeostatic theory of drug tolerance: A general model of physiological adaptation. *Psychological Review*, *98*(3), 390–408. <https://doi.org/10.1037/0033-295x.98.3.390>
- Powell, G. L., Vannan, A., Bastle, R. M., Wilson, M. A., Dell'Orco, M., Perrone-Bizzozero, N. I., & Neisewander, J. L. (2020). Environmental enrichment during forced abstinence from cocaine self-administration opposes gene network expression changes associated with the incubation effect. *Scientific Reports*, *10*(1), 11291. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67966-8>
- Powell, S. B., Newman, H. A., McDonald, T. A., Bugenhagen, P., & Lewis, M. H. (2000). Development of spontaneous stereotyped behavior in deer mice: Effects of early and late exposure to a more complex environment. *Developmental Psychobiology*, *37*(2), 100–108.
- Powell, S. B., Newman, H. A., Pendergast, J. F., & Lewis, M. H. (1999). A rodent model of spontaneous stereotypy: Initial characterization of developmental, environmental, and neurobiological factors. *Physiology & Behavior*, *66*(2), 355–363. [https://doi.org/10.1016/s0031-9384\(98\)00303-5](https://doi.org/10.1016/s0031-9384(98)00303-5)
- Prendergast, B. J., Onishi, K. G., & Zucker, I. (2014). Female mice liberated for inclusion in neuroscience and biomedical research. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *40*, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2014.01.001>
- Primus, R. J., & Kellogg, C. K. (1989). Pubertal-related changes influence the development of environment-related social interaction in the male rat. *Developmental Psychobiology*, *22*(6), 633–643. <https://doi.org/10.1002/dev.420220608>
- Procópio-Souza, R., Fukushiro, D. F., Trombin, T. F., Wuo-Silva, R., Zanlorenzi, L. H. F., Lima, A. J. O., Ribeiro, L. T. C., Corrêa, J. M. R. M., Marinho, E. A. V., Kameda, S. R., Andersen, M. L., Tufik, S., & Frussa-Filho, R. (2011). Effects of group exposure on single injection-induced behavioral sensitization to drugs of abuse in mice. *Drug and Alcohol Dependence*, *118*(2–3), 349–359. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2011.04.017>
- Prolla, T. A., & Mattson, M. P. (2001). Molecular mechanisms of brain aging and neurodegenerative disorders: Lessons from dietary restriction. *Trends in*

Neurosciences, 24(11 Suppl), S21-31. [https://doi.org/10.1016/s0166-2236\(00\)01957-3](https://doi.org/10.1016/s0166-2236(00)01957-3)

- Quadir, S. G., Santos, J. R. B. D., Campbell, R. R., Wroten, M. G., Singh, N., Holloway, J. J., Bal, S. K., Camarini, R., & Szumlinski, K. K. (2016). Homer2 regulates alcohol and stress cross-sensitization. *Addiction Biology*, 21(3), 613–633. <https://doi.org/10.1111/adb.12252>
- Quadros, I. M. H., Hipólido, D. C., Frussa-Filho, R., De Lucca, E. M., Nobrega, J. N., & Souza-Formigoni, M. L. O. (2002). Resistance to ethanol sensitization is associated with increased NMDA receptor binding in specific brain areas. *European Journal of Pharmacology*, 442(1–2), 55–61. [https://doi.org/10.1016/s0014-2999\(02\)01503-0](https://doi.org/10.1016/s0014-2999(02)01503-0)
- Quadros, I. M. H., Nobrega, J. N., Hipólido, D. C., de Lucca, E. M., & Souza-Formigoni, M. L. O. (2002). Differential propensity to ethanol sensitization is not associated with altered binding to D1 receptors or dopamine transporters in mouse brain. *Addiction Biology*, 7(3), 291–299. <https://doi.org/10.1080/13556210220139505>
- Quadros, I. M. H., Souza-Formigoni, M. L. O., Fornari, R. V., Nobrega, J. N., & Oliveira, M. G. M. (2003). Is behavioral sensitization to ethanol associated with contextual conditioning in mice? *Behavioural Pharmacology*, 14(2), 129–136. <https://doi.org/10.1097/00008877-200303000-00004>
- Quertemont, E. (2004). Genetic polymorphism in ethanol metabolism: Acetaldehyde contribution to alcohol abuse and alcoholism. *Molecular Psychiatry*, 9(6), 570–581. <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001497>
- Quertemont, E., & Didone, V. (2006). Role of acetaldehyde in mediating the pharmacological and behavioral effects of alcohol. *Alcohol Research & Health: The Journal of the National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism*, 29(4), 258–265.
- Quertemont, E., Eriksson, C. J. P., Zimatkin, S. M., Pronko, P. S., Diana, M., Pisano, M., Rodd, Z. A., Bell, R. R., & Ward, R. J. (2005). Is ethanol a pro-drug? Acetaldehyde contribution to brain ethanol effects. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 29(8), 1514–1521. <https://doi.org/10.1097/01.alc.0000175015.51329.45>
- Quertemont, E., Tambour, S., Bernaerts, P., Zimatkin, S. M., & Tirelli, E. (2004). Behavioral characterization of acetaldehyde in C57BL/6J mice: Locomotor, hypnotic, anxiolytic

- and amnesic effects. *Psychopharmacology*, 177(1–2), 84–92. <https://doi.org/10.1007/s00213-004-1911-x>
- Quertemont, E., Tambour, S., & Tirelli, E. (2005). The role of acetaldehyde in the neurobehavioral effects of ethanol: A comprehensive review of animal studies. *Progress in Neurobiology*, 75(4), 247–274. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2005.03.003>
- Quoilin, C., Didone, V., Tirelli, E., & Quertemont, E. (2010). Ontogeny of the stimulant and sedative effects of ethanol in male and female Swiss mice: Gradual changes from weaning to adulthood. *Psychopharmacology*, 212(4), 501–512. <https://doi.org/10.1007/s00213-010-1971-z>
- Quoilin, C., Didone, V., Tirelli, E., & Quertemont, E. (2012a). Chronic ethanol exposure during adolescence alters the behavioral responsiveness to ethanol in adult mice. *Behavioural Brain Research*, 229(1), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.12.039>
- Quoilin, C., Didone, V., Tirelli, E., & Quertemont, E. (2012b). Developmental differences in ethanol-induced sensitization using postweanling, adolescent, and adult Swiss mice. *Psychopharmacology*, 219(4), 1165–1177. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2453-7>
- Quoilin, C., Didone, V., Tirelli, E., & Quertemont, E. (2013). Chronic tolerance to ethanol-induced sedation: Implication for age-related differences in locomotor sensitization. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, 47(4), Article 4. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2013.01.006>
- Quoilin, C., Didone, V., Tirelli, E., & Quertemont, E. (2014). Higher long-lasting ethanol sensitization after adolescent ethanol exposure in mice. *Psychopharmacology*, 231(8), Article 8. <https://doi.org/10.1007/s00213-013-3376-2>
- Rabadán, R., Ramos-Campos, M., Redolat, R., & Mesa-Gresa, P. (2019). Physical activity and environmental enrichment: Behavioural effects of exposure to different housing conditions in mice. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, 79(4), Article 4.
- Radlow, R. (1994). A quantitative theory of acute tolerance to alcohol. *Psychopharmacology*, 114(1), 1–8. <https://doi.org/10.1007/BF02245438>

- Rae, M., Zanos, P., Georgiou, P., Chivers, P., Bailey, A., & Camarini, R. (2018). Environmental enrichment enhances conditioned place preference to ethanol via an oxytocinergic-dependent mechanism in male mice. *Neuropharmacology*, *138*, 267–274. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.06.013>
- Rahman, A., & Paul, M. (2022). Delirium Tremens. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482134/>
- Rajendram, R., Rajendram, R., & Preedy, V. R. (2016). Chapter 35—Ethanol Metabolism and Implications for Disease. In V. R. Preedy (Ed.), *Neuropathology of Drug Addictions and Substance Misuse* (pp. 377–388). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800213-1.00035-3>
- Ramos, A. (2008). Animal models of anxiety: Do I need multiple tests? *Trends in Pharmacological Sciences*, *29*(10), 493–498. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2008.07.005>
- Ramos, A., Pereira, E., Martins, G. C., Wehrmeister, T. D., & Izidio, G. S. (2008). Integrating the open field, elevated plus maze and light/dark box to assess different types of emotional behaviors in one single trial. *Behavioural Brain Research*, *193*(2), 277–288. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2008.06.007>
- Randall, C. L., Carpenter, J. A., Lester, D., & Friedman, H. J. (1975). Ethanol-induced mouse strain differences in locomotor activity. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *3*(3), 533–535. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(75\)90069-6](https://doi.org/10.1016/0091-3057(75)90069-6)
- Ras, T., van de Ven, M., Patterson-Kane, E. G., & Nelson, K. (2002). Rats' preferences for corn versus wood-based bedding and nesting materials. *Laboratory Animals*, *36*(4), 420–425. <https://doi.org/10.1258/002367702320389080>
- Rasmuson, S., Olsson, T., Henriksson, B. G., Kelly, P. A., Holmes, M. C., Seckl, J. R., & Mohammed, A. H. (1998). Environmental enrichment selectively increases 5-HT_{1A} receptor mRNA expression and binding in the rat hippocampus. *Brain Research. Molecular Brain Research*, *53*(1–2), 285–290. [https://doi.org/10.1016/s0169-328x\(97\)00317-3](https://doi.org/10.1016/s0169-328x(97)00317-3)
- Ratuski, A. S., & Weary, D. M. (2022). Environmental Enrichment for Rats and Mice Housed in Laboratories: A Metareview. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, *12*(4), 414. <https://doi.org/10.3390/ani12040414>

- Razavinasab, M., Parsania, S., Nikootalab, M., Khaleghi, M., Saleki, K., Banazadeh, M., & Shabani, M. (2022). Early environmental enrichment prevents cognitive impairments and developing addictive behaviours in a mouse model of prenatal psychological and physical stress. *International Journal of Developmental Neuroscience: The Official Journal of the International Society for Developmental Neuroscience*, 82(1), 72–84. <https://doi.org/10.1002/jdn.10161>
- Redolat, R., Pérez-Martínez, A., Carrasco, M. C., & Mesa, P. (2009). Individual differences in novelty-seeking and behavioral responses to nicotine: A review of animal studies. *Current Drug Abuse Reviews*, 2(3), Article 3. <https://doi.org/10.2174/1874473710902030230>
- Reguilón, M. D., Ferrer-Pérez, C., Manzanedo, C., Miñarro, J., & Rodríguez-Arias, M. (2023). Voluntary wheel running during adolescence prevents the increase in ethanol intake induced by social defeat in male mice. *Psychopharmacology*. <https://doi.org/10.1007/s00213-023-06461-0>
- Rehm, J., Gmel, G. E., Gmel, G., Hasan, O. S. M., Imtiaz, S., Popova, S., Probst, C., Roerecke, M., Room, R., Samokhvalov, A. V., Shield, K. D., & Shuper, P. A. (2017). The relationship between different dimensions of alcohol use and the burden of disease—An update. *Addiction (Abingdon, England)*, 112(6), 968–1001. <https://doi.org/10.1111/add.13757>
- Richtand, N. M. (2006). Behavioral sensitization, alternative splicing, and d3 dopamine receptor-mediated inhibitory function. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 31(11), 2368–2375. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301163>
- Richter, S. H., Garner, J. P., Auer, C., Kunert, J., & Würbel, H. (2010). Systematic variation improves reproducibility of animal experiments. *Nature Methods*, 7(3), 167–168. <https://doi.org/10.1038/nmeth0310-167>
- Richter, S. H., Garner, J. P., & Würbel, H. (2009). Environmental standardization: Cure or cause of poor reproducibility in animal experiments? *Nature Methods*, 6(4), 257–261. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1312>
- Richter, S. H., Gass, P., & Fuss, J. (2014). Resting Is Rusting: A Critical View on Rodent Wheel-Running Behavior. *The Neuroscientist: A Review Journal Bringing*

Neurobiology, Neurology and Psychiatry, 20(4), 313–325.
<https://doi.org/10.1177/1073858413516798>

Rico-Barrio, I., Peñasco, S., Puente, N., Ramos, A., Fontaine, C. J., Reguero, L., Giordano, M. E., Buceta, I., Terradillos, I., Lekunberri, L., Mendizabal-Zubiaga, J., Rodríguez de Fonseca, F., Gerrikagoitia, I., Elezgarai, I., & Grandes, P. (2019). Cognitive and neurobehavioral benefits of an enriched environment on young adult mice after chronic ethanol consumption during adolescence: Enriched environment and EtOH. *Addiction Biology*, 24(5), Article 5. <https://doi.org/10.1111/adb.12667>

Risinger, F. O., & Boyce, J. M. (2002). 5-HT_{1A} receptor blockade and the motivational profile of ethanol. *Life Sciences*, 71(6), 707–715. [https://doi.org/10.1016/s0024-3205\(02\)01728-9](https://doi.org/10.1016/s0024-3205(02)01728-9)

Risinger, F. O., & Oakes, R. A. (1996). Dose- and conditioning trial-dependent ethanol-induced conditioned place preference in Swiss-Webster mice. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 55(1), 117–123. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(96\)00069-x](https://doi.org/10.1016/0091-3057(96)00069-x)

Rivier, C., & Lee, S. (1996). Acute alcohol administration stimulates the activity of hypothalamic neurons that express corticotropin-releasing factor and vasopressin. *Brain Research*, 726(1–2), 1–10.

Robbins, T. W., & Everitt, B. J. (1992). Functions of dopamine in the dorsal and ventral striatum. *Seminars in Neuroscience*, 4(2), 119–127. [https://doi.org/10.1016/1044-5765\(92\)90010-Y](https://doi.org/10.1016/1044-5765(92)90010-Y)

Roberts, A. J., Lessov, C. N., & Phillips, T. J. (1995). Critical role for glucocorticoid receptors in stress- and ethanol-induced locomotor sensitization. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 275(2), 790–797.

Robinson, T. E., & Becker, J. B. (1986). Enduring changes in brain and behavior produced by chronic amphetamine administration: A review and evaluation of animal models of amphetamine psychosis. *Brain Research*, 396(2), 157–198. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(86\)80193-7](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(86)80193-7)

Robinson, T. E., & Berridge, K. C. (1993). The neural basis of drug craving: An incentive-sensitization theory of addiction. *Brain Research. Brain Research Reviews*, 18(3), 247–291. [https://doi.org/10.1016/0165-0173\(93\)90013-p](https://doi.org/10.1016/0165-0173(93)90013-p)

- Robinson, T. E., & Berridge, K. C. (2000). The psychology and neurobiology of addiction: An incentive-sensitization view. *Addiction (Abingdon, England)*, *95 Suppl 2*, S91-117. <https://doi.org/10.1080/09652140050111681>
- Robinson, T. E., & Berridge, K. C. (2001). Incentive-sensitization and addiction. *Addiction*, *96*(1), Article 1. <https://doi.org/10.1046/j.1360-0443.2001.9611038.x>
- Robinson, T. E., & Berridge, K. C. (2008). The incentive sensitization theory of addiction: Some current issues. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *363*(1507), Article 1507. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0093>
- Berridge, K. C., & Robinson, T. E. (2016). Liking, wanting, and the incentive-sensitization theory of addiction. *The American Psychologist*, *71*(8), Article 8. <https://doi.org/10.1037/amp0000059>
- Robinson, T. E., Browman, K. E., Crombag, H. S., & Badiani, A. (1998). Modulation of the induction or expression of psychostimulant sensitization by the circumstances surrounding drug administration. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *22*(2), 347–354. [https://doi.org/10.1016/s0149-7634\(97\)00020-1](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(97)00020-1)
- Rodd-Henricks, Z. A., Melendez, R. I., Zaffaroni, A., Goldstein, A., McBride, W. J., & Li, T.-K. (2002). The reinforcing effects of acetaldehyde in the posterior ventral tegmental area of alcohol-preferring rats. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *72*(1–2), 55–64. [https://doi.org/10.1016/s0091-3057\(01\)00733-x](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(01)00733-x)
- Rodgers, R. J., & Cole, J. C. (1993). Influence of social isolation, gender, strain, and prior novelty on plus-maze behaviour in mice. *Physiology & Behavior*, *54*(4), 729–736. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(93\)90084-s](https://doi.org/10.1016/0031-9384(93)90084-s)
- Rodgers, R. J., Lee, C., & Shepherd, J. K. (1992). Effects of diazepam on behavioural and antinociceptive responses to the elevated plus-maze in male mice depend upon treatment regimen and prior maze experience. *Psychopharmacology*, *106*(1), 102–110. <https://doi.org/10.1007/BF02253596>
- Rodríguez-Ortega, E., de la Fuente, L., de Amo, E., & Cubero, I. (2018). Environmental Enrichment During Adolescence Acts as a Protective and Therapeutic Tool for Ethanol Binge-Drinking, Anxiety-Like, Novelty Seeking and Compulsive-Like Behaviors in C57BL/6J Mice During Adulthood. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, *12*, 177. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2018.00177>

- Roemer, A., & Stockwell, T. (2017). Alcohol Mixed With Energy Drinks and Risk of Injury: A Systematic Review. *Journal of Studies on Alcohol and Drugs*, 78(2), 175–183. <https://doi.org/10.15288/jsad.2017.78.175>
- Rogers, J., Li, S., Lanfumey, L., Hannan, A. J., & Renoir, T. (2017). Environmental enrichment reduces innate anxiety with no effect on depression-like behaviour in mice lacking the serotonin transporter. *Behavioural Brain Research*, 332, 355–361. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.06.009>
- Roger-Sánchez, C., Aguilar, M. A., Rodríguez-Arias, M., Aragon, C. M., & Miñarro, J. (2012). Age- and sex-related differences in the acquisition and reinstatement of ethanol CPP in mice. *Neurotoxicology and Teratology*, 34(1), 108–115. <https://doi.org/10.1016/j.ntt.2011.07.011>
- Romer, D., Reyna, V. F., & Satterthwaite, T. D. (2017). Beyond stereotypes of adolescent risk taking: Placing the adolescent brain in developmental context. *Developmental Cognitive Neuroscience*, 27, 19–34. <https://doi.org/10.1016/j.dcn.2017.07.007>
- Roper, T. J. (1973). Nesting material as a reinforcer for female mice. *Animal Behaviour*, 21(4), 733–740. [https://doi.org/10.1016/S0003-3472\(73\)80099-5](https://doi.org/10.1016/S0003-3472(73)80099-5)
- Roper, T. J. (1976). Self-Sustaining Activities and Reinforcement in the Nest Building Behaviour of Mice. *Behaviour*, 59(1/2), 40–58.
- Rosenzweig, M. R. (1966). Environmental complexity, cerebral change, and behavior. *The American Psychologist*, 21(4), 321–332. <https://doi.org/10.1037/h0023555>
- Rosenzweig, M. R. (1996). Aspects of the search for neural mechanisms of memory. *Annual Review of Psychology*, 47, 1–32. <https://doi.org/10.1146/annurev.psych.47.1.1>
- Rosenzweig, M. R., & Bennett, E. L. (1969). Effects of differential environments on brain weights and enzyme activities in gerbils, rats, and mice. *Developmental Psychobiology*, 2(2), 87–95. <https://doi.org/10.1002/dev.420020208>
- Rosenzweig, M. R., & Bennett, E. L. (1972). Cerebral changes in rats exposed individually to an enriched environment. *Journal of Comparative and Physiological Psychology*, 80(2), 304–313. <https://doi.org/10.1037/h0032978>

- Rosenzweig, M. R., & Bennett, E. L. (1996). Psychobiology of plasticity: Effects of training and experience on brain and behavior. *Behavioural Brain Research*, *78*(1), 57–65. [https://doi.org/10.1016/0166-4328\(95\)00216-2](https://doi.org/10.1016/0166-4328(95)00216-2)
- Ros-Simó, C., & Valverde, O. (2012). Early-life social experiences in mice affect emotional behaviour and hypothalamic-pituitary-adrenal axis function. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *102*(3), Article 3. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2012.06.001>
- Roy, V., Belzung, C., Delarue, C., & Chapillon, P. (2001). Environmental enrichment in BALB/c mice: Effects in classical tests of anxiety and exposure to a predatory odor. *Physiology & Behavior*, *74*(3), 313–320. [https://doi.org/10.1016/s0031-9384\(01\)00561-3](https://doi.org/10.1016/s0031-9384(01)00561-3)
- Rueda, A. V. L., Teixeira, A. M. A., Yonamine, M., & Camarini, R. (2012). Environmental enrichment blocks ethanol-induced locomotor sensitization and decreases BDNF levels in the prefrontal cortex in mice: EE and ethanol sensitization. *Addiction Biology*, *17*(4), Article 4. <https://doi.org/10.1111/j.1369-1600.2011.00408.x>
- Rustay, N. R., Boehm, S. L., Schafer, G. L., Browman, K. E., Erwin, V. G., & Crabbe, J. C. (2001). Sensitivity and tolerance to ethanol-induced incoordination and hypothermia in HAFT and LAFT mice. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *70*(1), 167–174. [https://doi.org/10.1016/s0091-3057\(01\)00595-0](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(01)00595-0)
- Rustay, N. R., & Crabbe, J. C. (2004). Genetic analysis of rapid tolerance to ethanol's incoordinating effects in mice: Inbred strains and artificial selection. *Behavior Genetics*, *34*(4), 441–451. <https://doi.org/10.1023/B:BEGE.0000023649.60539.dd>
- Sale, A., Berardi, N., & Maffei, L. (2009). Enrich the environment to empower the brain. *Trends in Neurosciences*, *32*(4), 233–239. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2008.12.004>
- Salomon, L., Lanteri, C., Glowinski, J., & Tassin, J.-P. (2006). Behavioral sensitization to amphetamine results from an uncoupling between noradrenergic and serotonergic neurons. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *103*(19), 7476–7481. <https://doi.org/10.1073/pnas.0600839103>
- Sampedro-Piquero, P., Zancada-Menendez, C., Begega, A., Rubio, S., & Arias, J. L. (2013). Effects of environmental enrichment on anxiety responses, spatial memory

and cytochrome c oxidase activity in adult rats. *Brain Research Bulletin*, *98*, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2013.06.006>

Sanchis-Segura, C., Pastor, R., & Aragon, C. M. G. (2004). Opposite effects of acute versus chronic naltrexone administration on ethanol-induced locomotion. *Behavioural Brain Research*, *153*(1), 61–67. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2003.11.003>

Sandnabba, N. K. (1995a). Predatory aggression in male mice selectively bred for isolation-induced intermale aggression. *Behavior Genetics*, *25*(4), 361–366. <https://doi.org/10.1007/BF02197286>

Sandnabba, N. K. (1995b). Predatory behaviour in females of two strains of mice selectively bred for isolation-induced intermale aggression. *Behavioural Processes*, *34*(1), 93–100. [https://doi.org/10.1016/0376-6357\(94\)00059-p](https://doi.org/10.1016/0376-6357(94)00059-p)

Sandnabba, N. K., Lagerspetz, K. M., & Jensen, E. (1994). Effects of testosterone exposure and fighting experience on the aggressive behavior of female and male mice selectively bred for intermale aggression. *Hormones and Behavior*, *28*(3), 219–231. <https://doi.org/10.1006/hbeh.1994.1019>

Santos-Rocha, J. B., Rae, M., Teixeira, A. M. A., Teixeira, S. A., Munhoz, C. D., Muscará, M. N., Marcourakis, T., Szumlinski, K. K., & Camarini, R. (2018). Involvement of neuronal nitric oxide synthase in cross-sensitization between chronic unpredictable stress and ethanol in adolescent and adult mice. *Alcohol*, *68*, 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2017.10.004>

Sarnyai, Z., Bíró, E., Penke, B., & Telegdy, G. (1992). The cocaine-induced elevation of plasma corticosterone is mediated by endogenous corticotropin-releasing factor (CRF) in rats. *Brain Research*, *589*(1), 154–156. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(92\)91176-f](https://doi.org/10.1016/0006-8993(92)91176-f)

Sayette, M. A. (1999). Does drinking reduce stress? *Alcohol Research & Health: The Journal of the National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism*, *23*(4), 250–255.

Sayler, A., & Salmon, M. (1969). Communal nursing in mice: Influence of multiple mothers on the growth of the young. *Science (New York, N.Y.)*, *164*(3885), 1309–1310. <https://doi.org/10.1126/science.164.3885.1309>

- Sayler, A., & Salmon, M. (1971). An ethological analysis of communal nursing by the house mouse (*Mus musculus*). *Behaviour*, 40(1–2), 62–85. <https://doi.org/10.1163/156853971X00339>
- Schenk, S., Gorman, K., & Amit, Z. (1990). Age-dependent effects of isolation housing on the self-administration of ethanol in laboratory rats. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, 7(4), 321–326. [https://doi.org/10.1016/0741-8329\(90\)90090-y](https://doi.org/10.1016/0741-8329(90)90090-y)
- Schiff, S. R. (1982). Conditioned dopaminergic activity. *Biological Psychiatry*, 17(2), 135–154.
- Schoffelmeer, A. N. M., De Vries, T. J., Wardeh, G., van de Ven, H. W. M., & Vanderschuren, L. J. M. J. (2002). Psychostimulant-induced behavioral sensitization depends on nicotinic receptor activation. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 22(8), 3269–3276. <https://doi.org/20026312>
- Scholz, J., Allemang-Grand, R., Dazai, J., & Lerch, J. P. (2015). Environmental enrichment is associated with rapid volumetric brain changes in adult mice. *NeuroImage*, 109, 190–198. <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2015.01.027>
- Schuckit, M. A. (1991). A longitudinal study of children of alcoholics. *Recent Developments in Alcoholism: An Official Publication of the American Medical Society on Alcoholism, the Research Society on Alcoholism, and the National Council on Alcoholism*, 9, 5–19.
- Schuckit, M. A. (1994). Low level of response to alcohol as a predictor of future alcoholism. *The American Journal of Psychiatry*, 151(2), 184–189. <https://doi.org/10.1176/ajp.151.2.184>
- Schuckit, M. A. (2009). Alcohol-use disorders. *Lancet (London, England)*, 373(9662), 492–501. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(09\)60009-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(09)60009-X)
- Schuckit, M. A. (2014). Recognition and management of withdrawal delirium (delirium tremens). *The New England Journal of Medicine*, 371(22), 2109–2113. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1407298>
- Schuckit, M. A. (2015). Management of withdrawal delirium (delirium tremens). *The New England Journal of Medicine*, 372(6), 580–581. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1415679>

- Schuckit, M. A. (2018). A Critical Review of Methods and Results in the Search for Genetic Contributors to Alcohol Sensitivity. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 42(5), 822–835. <https://doi.org/10.1111/acer.13628>
- Schuhr, B. (1987). Social structure and plasma corticosterone level in female albino mice. *Physiology & Behavior*, 40(6), 689–693. [https://doi.org/10.1016/0031-9384\(87\)90269-1](https://doi.org/10.1016/0031-9384(87)90269-1)
- Schultz, W. (1992). Activity of dopamine neurons in the behaving primate. *Seminars in Neuroscience*, 4(2), 129–138. [https://doi.org/10.1016/1044-5765\(92\)90011-P](https://doi.org/10.1016/1044-5765(92)90011-P)
- Schumann, G., Loth, E., Banaschewski, T., Barbot, A., Barker, G., Büchel, C., Conrod, P. J., Dalley, J. W., Flor, H., Gallinat, J., Garavan, H., Heinz, A., Ittnerman, B., Lathrop, M., Mallik, C., Mann, K., Martinot, J.-L., Paus, T., Poline, J.-B., ... IMAGEN consortium. (2010). The IMAGEN study: Reinforcement-related behaviour in normal brain function and psychopathology. *Molecular Psychiatry*, 15(12), 1128–1139. <https://doi.org/10.1038/mp.2010.4>
- Sefen, J. A. N., Patil, J. D., & Cooper, H. (2022). The implications of alcohol mixed with energy drinks from medical and socio-legal standpoints. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 16, 968889. <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2022.968889>
- Segal, D. S. (1975). Behavioral and neurochemical correlates of repeated d-amphetamine administration. *Advances in Biochemical Psychopharmacology*, 13, 247–262.
- Segal, D. S., Geyer, M. A., & Schuckit, M. A. (1981). Stimulant-induced psychosis: An evaluation of animal methods. *Essays in Neurochemistry and Neuropharmacology*, 5, 95–129.
- Segovia, G., Del Arco, A., de Blas, M., Garrido, P., & Mora, F. (2008). Effects of an enriched environment on the release of dopamine in the prefrontal cortex produced by stress and on working memory during aging in the awake rat. *Behavioural Brain Research*, 187(2), 304–311. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2007.09.024>
- Segovia, G., del Arco, A., & Mora, F. (2009). Environmental enrichment, prefrontal cortex, stress, and aging of the brain. *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria: 1996)*, 116(8), 1007–1016. <https://doi.org/10.1007/s00702-009-0214-0>

- Segovia, G., Yagüe, A. G., García-Verdugo, J. M., & Mora, F. (2006). Environmental enrichment promotes neurogenesis and changes the extracellular concentrations of glutamate and GABA in the hippocampus of aged rats. *Brain Research Bulletin*, *70*(1), 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2005.11.005>
- Seibenhener, M. L., & Wooten, M. C. (2015). Use of the Open Field Maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, *96*, e52434. <https://doi.org/10.3791/52434>
- Seitz, H. K., & Stickel, F. (2007). Alcoholic liver disease in the elderly. *Clinics in Geriatric Medicine*, *23*(4), 905–921, viii. <https://doi.org/10.1016/j.cger.2007.06.010>
- Seitz, H. K., & Stickel, F. (2010). Acetaldehyde as an underestimated risk factor for cancer development: Role of genetics in ethanol metabolism. *Genes & Nutrition*, *5*(2), 121–128. <https://doi.org/10.1007/s12263-009-0154-1>
- Sell, S. L., Dillon, A. M., Cunningham, K. A., & Thomas, M. L. (2005). Estrous cycle influence on individual differences in the response to novelty and cocaine in female rats. *Behavioural Brain Research*, *161*(1), 69–74. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2005.01.004>
- Sellers, E. M., Toneatto, T., Romach, M. K., Somer, G. R., Sobell, L. C., & Sobell, M. B. (1994). Clinical efficacy of the 5-HT₃ antagonist ondansetron in alcohol abuse and dependence. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, *18*(4), 879–885. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1994.tb00054.x>
- Sershen, H., Hashim, A., & Vadasz, C. (2002). Strain and sex differences in repeated ethanol treatment-induced motor activity in quasi-congenic mice. *Genes, Brain, and Behavior*, *1*(3), 156–165. <https://doi.org/10.1034/j.1601-183x.2002.10303.x>
- Seutin, V., Scuvée-Moreau, J., & Quertemont, E. (2015). *L'alcool en questions*. Mardaga.
- Sharko, A. C., Kaigler, K. F., Fadel, J. R., & Wilson, M. A. (2013). Individual differences in voluntary ethanol consumption lead to differential activation of the central amygdala in rats: Relationship to the anxiolytic and stimulant effects of low dose ethanol. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, *37* Suppl 1(Suppl 1), E172-180. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2012.01907.x>

- Sharma, A. N., Chopde, C. T., Hirani, K., Kokare, D. M., & Ugale, R. R. (2007). Chronic progesterone treatment augments while dehydroepiandrosterone sulphate prevents tolerance to ethanol anxiolysis and withdrawal anxiety in rats. *European Journal of Pharmacology*, *567*(3), 211–222. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2007.04.025>
- Sharma, R., Sahota, P., & Thakkar, M. M. (2014). Rapid tolerance development to the NREM sleep promoting effect of alcohol. *Sleep*, *37*(4), 821–824. <https://doi.org/10.5665/sleep.3598>
- Shemesh, Y., & Chen, A. (2023). A paradigm shift in translational psychiatry through rodent neuroethology. *Molecular Psychiatry*, *28*(3), 993–1003. <https://doi.org/10.1038/s41380-022-01913-z>
- Sherwin, C. M. (1996a). Preferences of individually housed TO strain laboratory mice for loose substrate or tubes for sleeping. *Laboratory Animals*, *30*(3), 245–251. <https://doi.org/10.1258/002367796780684926>
- Sherwin, C. M. (1996b). Preferences of Laboratory Mice for Characteristics of Soiling Sites. *Animal Welfare*, *5*(3), 283–288. <https://doi.org/10.1017/S0962728600018868>
- Sherwin, C. M. (1997). Observations on the prevalence of nest-building in non-breeding TO strain mice and their use of two nesting materials. *Laboratory Animals*, *31*(2), 125–132. <https://doi.org/10.1258/002367797780600134>
- Sherwin, C. M. (2004). The influences of standard laboratory cages on rodents and the validity of research data. *Animal Welfare*, *13*(S1), S9–S15. <https://doi.org/10.1017/S0962728600014329>
- Shimosato, K., & Watanabe, S. (2003). Concurrent evaluation of locomotor response to novelty and propensity toward cocaine conditioned place preference in mice. *Journal of Neuroscience Methods*, *128*(1–2), 103–110. [https://doi.org/10.1016/s0165-0270\(03\)00153-5](https://doi.org/10.1016/s0165-0270(03)00153-5)
- Shnitko, T. A., Liu, Z., Wang, X., Grant, K. A., & Kroenke, C. D. (2019). Chronic Alcohol Drinking Slows Brain Development in Adolescent and Young Adult Nonhuman Primates. *eNeuro*, *6*(2), ENEURO.0044-19.2019. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0044-19.2019>

- Shulman, E. P., Smith, A. R., Silva, K., Icenogle, G., Duell, N., Chein, J., & Steinberg, L. (2016). The dual systems model: Review, reappraisal, and reaffirmation. *Developmental Cognitive Neuroscience*, 17, 103–117. <https://doi.org/10.1016/j.dcn.2015.12.010>
- Shuster, L., Webster, G. W., & Yu, G. (1975). Increased running response to morphine in morphine-pretreated mice. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 192(1), 64–67.
- Shuster, L., Yu, G., & Bates, A. (1977). Sensitization to cocaine stimulation in mice. *Psychopharmacology*, 52(2), 185–190. <https://doi.org/10.1007/BF00439108>
- Siegel, S. (1999). Drug anticipation and drug addiction. The 1998 H. David Archibald Lecture. *Addiction (Abingdon, England)*, 94(8), 1113–1124. <https://doi.org/10.1046/j.1360-0443.1999.94811132.x>
- Siegel, S., Baptista, M. A., Kim, J. A., McDonald, R. V., & Weise-Kelly, L. (2000). Pavlovian psychopharmacology: The associative basis of tolerance. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*, 8(3), 276–293. <https://doi.org/10.1037//1064-1297.8.3.276>
- Siegel, S., Hinson, R. E., Krank, M. D., & McCully, J. (1982). Heroin “Overdose” Death: Contribution of Drug-Associated Environmental Cues. *Science*, 216(4544), 436–437. <https://doi.org/10.1126/science.7200260>
- Siegel, S., & MacRae, J. (1984). Environmental specificity of tolerance. *Trends in Neurosciences*, 7(5), 140–143. [https://doi.org/10.1016/S0166-2236\(84\)80124-1](https://doi.org/10.1016/S0166-2236(84)80124-1)
- Sikora, M., Nicolas, C., Istin, M., Jaafari, N., Thiriet, N., & Solinas, M. (2018). Generalization of effects of environmental enrichment on seeking for different classes of drugs of abuse. *Behavioural Brain Research*, 341, 109–113. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2017.12.027>
- Silveri, M. M., & Spear, L. P. (2001). Acute, rapid, and chronic tolerance during ontogeny: Observations when equating ethanol perturbation across age. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 25(9), 1301–1308.
- Silvers, J. M., Tokunaga, S., Mittleman, G., & Matthews, D. B. (2003). Chronic intermittent injections of high-dose ethanol during adolescence produce metabolic, hypnotic, and

cognitive tolerance in rats. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 27(10), 1606–1612. <https://doi.org/10.1097/01.ALC.0000090141.66526.22>

Simon, J., Etienne, A.-M., Bouchard, S., & Quertemont, E. (2020). Alcohol craving in heavy and occasional alcohol drinkers after cue exposure in a virtual environment: The role of the sense of presence. *Frontiers in Human Neuroscience*. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2020.00124>

Simon, J., Grogna, D., Rivard, M.-C., Heck, M., Bouchard, S., & Quertemont, E. (2022). Assessing attentional bias for alcohol-related cues using eye tracking in a virtual reality environment. *Frontiers in Virtual Reality*. <https://doi.org/10.3389/frvir.2022.849840>

Simpson, J., & Kelly, J. P. (2011). The impact of environmental enrichment in laboratory rats—Behavioural and neurochemical aspects. *Behavioural Brain Research*, 222(1), Article 1. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.04.002>

Simpson, J., & Kelly, J. P. (2012). An investigation of whether there are sex differences in certain behavioural and neurochemical parameters in the rat. *Behavioural Brain Research*, 229(1), 289–300. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.12.036>

Singhal, G., Morgan, J., Jawahar, M. C., Corrigan, F., Jaehne, E. J., Toben, C., Breen, J., Pederson, S. M., Hannan, A. J., & Baune, B. T. (2019). Short-term environmental enrichment, and not physical exercise, alleviate cognitive decline and anxiety from middle age onwards without affecting hippocampal gene expression. *Cognitive, Affective & Behavioral Neuroscience*, 19(5), 1143–1169. <https://doi.org/10.3758/s13415-019-00743-x>

Sinha, R. (2008). Chronic stress, drug use, and vulnerability to addiction. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1141, 105–130. <https://doi.org/10.1196/annals.1441.030>

Sinha, R. (2009). Modeling stress and drug craving in the laboratory: Implications for addiction treatment development. *Addiction Biology*, 14(1), 84–98. <https://doi.org/10.1111/j.1369-1600.2008.00134.x>

Sirevaag, A. M., & Greenough, W. T. (1991). Plasticity of GFAP-immunoreactive astrocyte size and number in visual cortex of rats reared in complex environments. *Brain Research*, 540(1–2), 273–278. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(91\)90517-y](https://doi.org/10.1016/0006-8993(91)90517-y)

- Smith, A. L., & Corrow, D. J. (2005). Modifications to husbandry and housing conditions of laboratory rodents for improved well-being. *ILAR Journal*, 46(2), 140–147. <https://doi.org/10.1093/ilar.46.2.140>
- Smith, B. R., & Amit, Z. (1985). The role of gamma-aminobutyric acid (GABA) in the regulation of ethanol and acetaldehyde self-administration. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 9(5–6), 759–763. [https://doi.org/10.1016/0278-5846\(85\)90056-9](https://doi.org/10.1016/0278-5846(85)90056-9)
- Smith, B. R., Amit, Z., & Splawinsky, J. (1984). Conditioned place preference induced by intraventricular infusions of acetaldehyde. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, 1(3), 193–195. [https://doi.org/10.1016/0741-8329\(84\)90097-1](https://doi.org/10.1016/0741-8329(84)90097-1)
- Smith, B. R., Aragon, C. M., & Amit, Z. (1997). Catalase and the production of brain acetaldehyde: A possible mediator of the psychopharmacological effects of ethanol. *Addiction Biology*, 2(3), 277–290. <https://doi.org/10.1080/13556219772570>
- Smith, J. P., & Randall, C. L. (2012). Anxiety and alcohol use disorders: Comorbidity and treatment considerations. *Alcohol Research: Current Reviews*, 34(4), 414–431.
- Smith, L. N., Penrod, R. D., Taniguchi, M., & Cowan, C. W. (2016). Assessment of Cocaine-induced Behavioral Sensitization and Conditioned Place Preference in Mice. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*, 108, 53107. <https://doi.org/10.3791/53107>
- Smith, M. A., Schmidt, K. T., Iordanou, J. C., & Mustroph, M. L. (2008). Aerobic exercise decreases the positive-reinforcing effects of cocaine. *Drug and Alcohol Dependence*, 98(1–2), Article 1–2. <https://doi.org/10.1016/j.drugalcdep.2008.05.006>
- Sofuoglu, M., Rosenheck, R., & Petrakis, I. (2014). Pharmacological treatment of comorbid PTSD and substance use disorder: Recent progress. *Addictive Behaviors*, 39(2), 428–433. <https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2013.08.014>
- Solinas, M., Chauvet, C., Thiriet, N., El Rawas, R., & Jaber, M. (2008). Reversal of cocaine addiction by environmental enrichment. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(44), 17145–17150. <https://doi.org/10.1073/pnas.0806889105>

- Solinas, M., Thiriet, N., Chauvet, C., & Jaber, M. (2010). Prevention and treatment of drug addiction by environmental enrichment. *Progress in Neurobiology*, 92(4), Article 4. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2010.08.002>
- Solinas, M., Thiriet, N., Rawas, R. E., Lardeux, V., & Jaber, M. (2009). Environmental Enrichment During Early Stages of Life Reduces the Behavioral, Neurochemical, and Molecular Effects of Cocaine. *Neuropsychopharmacology*, 34(5), Article 5. <https://doi.org/10.1038/npp.2008.51>
- Solomon, R., & Corbit, J. D. (1974). An opponent-process theory of motivation. I. Temporal dynamics of affect. *Psychological Review*. <https://doi.org/10.1037/H0036128>
- Song, M., Wang, X.-Y., Zhao, M., Wang, X.-Y., Zhai, H.-F., & Lu, L. (2007). Role of stress in acquisition of alcohol-conditioned place preference in adolescent and adult mice. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 31(12), 2001–2005. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2007.00522.x>
- Souza-Formigoni, M. L., De Lucca, E. M., Hipólido, D. C., Enns, S. C., Oliveira, M. G., & Nobrega, J. N. (1999). Sensitization to ethanol's stimulant effect is associated with region-specific increases in brain D2 receptor binding. *Psychopharmacology*, 146(3), 262–267. <https://doi.org/10.1007/s002130051115>
- Spanagel, R., Montkowski, A., Allingham, K., Stöhr, T., Shoaib, M., Holsboer, F., & Landgraf, R. (1995). Anxiety: A potential predictor of vulnerability to the initiation of ethanol self-administration in rats. *Psychopharmacology*, 122(4), 369–373. <https://doi.org/10.1007/BF02246268>
- Spangler, R., Zhou, Y., Maggos, C. E., Zlobin, A., Ho, A., & Kreek, M. J. (1996). Dopamine antagonist and "binge" cocaine effects on rat opioid and dopamine transporter mRNAs. *Neuroreport*, 7(13), 2196–2200. <https://doi.org/10.1097/00001756-199609020-00028>
- Spanos, L. J., & Yamamoto, B. K. (1989). Acute and subchronic effects of methylenedioxymethamphetamine [(+/-)MDMA] on locomotion and serotonin syndrome behavior in the rat. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 32(4), 835–840. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(89\)90044-0](https://doi.org/10.1016/0091-3057(89)90044-0)
- Sparling, J. E., Barbeau, K., Boileau, K., & Konkle, A. T. M. (2020). Environmental enrichment and its influence on rodent offspring and maternal behaviours, a scoping

- style review of indices of depression and anxiety. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 197, 172997. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2020.172997>
- Spealman, R. D., & Goldberg, S. R. (1978). Drug self-administration by laboratory animals: Control by schedules of reinforcement. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 18, 313–339. <https://doi.org/10.1146/annurev.pa.18.040178.001525>
- Spear, L. P. (2000a). *Modeling Adolescent Development and Alcohol Use in Animals* (2). 24(2), Article 2.
- Spear, L. P. (2000b). The adolescent brain and age-related behavioral manifestations. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 24(4), Article 4. [https://doi.org/10.1016/s0149-7634\(00\)00014-2](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(00)00014-2)
- Spear, L. P. (2015). Adolescent alcohol exposure: Are there separable vulnerable periods within adolescence? *Physiology & Behavior*, 148, 122–130. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.01.027>
- Spear, L. P. (2016). Consequences of adolescent use of alcohol and other drugs: Studies using rodent models. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 70, 228–243. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.07.026>
- Spear, L. P. (2018). Effects of adolescent alcohol consumption on the brain and behaviour. *Nature Reviews. Neuroscience*, 19(4), 197–214. <https://doi.org/10.1038/nrn.2018.10>
- Spivak, K., Aragon, C. M., & Amit, Z. (1987). Alterations in brain aldehyde dehydrogenase activity modify the locomotor effects produced by ethanol in rats. *Alcohol and Drug Research*, 7(5–6), 481–491.
- Squeglia, L. M., & Cservenka, A. (2017). Adolescence and Drug Use Vulnerability: Findings from Neuroimaging. *Current Opinion in Behavioral Sciences*, 13, 164–170. <https://doi.org/10.1016/j.cobeha.2016.12.005>
- Squeglia, L. M., Sorg, S. F., Schweinsburg, A. D., Wetherill, R. R., Pulido, C., & Tapert, S. F. (2012). Binge drinking differentially affects adolescent male and female brain morphometry. *Psychopharmacology*, 220(3), 529–539. <https://doi.org/10.1007/s00213-011-2500-4>
- Squeglia, L. M., Tapert, S. F., Sullivan, E. V., Jacobus, J., Meloy, M. J., Rohlfing, T., & Pfefferbaum, A. (2015). Brain development in heavy-drinking adolescents. *The*

American Journal of Psychiatry, 172(6), 531–542.
<https://doi.org/10.1176/appi.ajp.2015.14101249>

Stairs, D. J., Ewin, S. E., Kangiser, M. M., & Pfaff, M. N. (2017). Effects of environmental enrichment on d-amphetamine self-administration following nicotine exposure. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*, 25(5), 393–401.
<https://doi.org/10.1037/pha0000137>

St-Cyr, S., Abuaish, S., Spinieli, R. L., & McGowan, P. O. (2018). Maternal Predator Odor Exposure in Mice Programs Adult Offspring Social Behavior and Increases Stress-Induced Behaviors in Semi-Naturalistic and Commonly-Used Laboratory Tasks. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 12, 136.
<https://doi.org/10.3389/fnbeh.2018.00136>

Stead, J. D. H., Clinton, S., Neal, C., Schneider, J., Jama, A., Miller, S., Vazquez, D. M., Watson, S. J., & Akil, H. (2006). Selective breeding for divergence in novelty-seeking traits: Heritability and enrichment in spontaneous anxiety-related behaviors. *Behavior Genetics*, 36(5), 697–712. <https://doi.org/10.1007/s10519-006-9058-7>

Steinberg, L. (2010). A dual systems model of adolescent risk-taking. *Developmental Psychobiology*, 52(3), 216–224. <https://doi.org/10.1002/dev.20445>

Steiner, B., Kronenberg, G., Jessberger, S., Brandt, M. D., Reuter, K., & Kempermann, G. (2004). Differential regulation of gliogenesis in the context of adult hippocampal neurogenesis in mice. *Glia*, 46(1), 41–52. <https://doi.org/10.1002/glia.10337>

Stephens, M. A. C., & Wand, G. (2012). Stress and the HPA axis: Role of glucocorticoids in alcohol dependence. *Alcohol Research: Current Reviews*, 34(4), 468–483.

Steptoe, A., Shankar, A., Demakakos, P., & Wardle, J. (2013). Social isolation, loneliness, and all-cause mortality in older men and women. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(15), 5797–5801.
<https://doi.org/10.1073/pnas.1219686110>

Stevenson, R. A., Besheer, J., & Hodge, C. W. (2008). Comparison of ethanol locomotor sensitization in adolescent and adult DBA/2J mice. *Psychopharmacology*, 197(3), 361–370. <https://doi.org/10.1007/s00213-007-1038-y>

- Stevenson, R. A., Hoffman, J. L., Maldonado-Devincci, A. M., Faccidomo, S., & Hodge, C. W. (2019). MGlur5 activity is required for the induction of ethanol behavioral sensitization and associated changes in ERK MAP kinase phosphorylation in the nucleus accumbens shell and lateral habenula. *Behavioural Brain Research*, *367*, 19–27. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2019.03.038>
- Stewart, J. (1992). Conditioned stimulus control of the expression of sensitization of the behavioral activating effects of opiate and stimulant drugs. In *Learning and memory: The behavioral and biological substrates* (pp. 129–151). Lawrence Erlbaum Associates, Inc.
- Stewart, J., & Badiani, A. (1993). Tolerance and sensitization to the behavioral effects of drugs. *Behavioural Pharmacology*, *4*(4), 289–312.
- Stewart, J., de Wit, H., & Eikelboom, R. (1984). Role of unconditioned and conditioned drug effects in the self-administration of opiates and stimulants. *Psychological Review*, *91*(2), 251–268.
- Stewart, J., & Wise, R. A. (1992). Reinstatement of heroin self-administration habits: Morphine prompts and naltrexone discourages renewed responding after extinction. *Psychopharmacology*, *108*(1–2), 79–84. <https://doi.org/10.1007/BF02245289>
- Stokols, D. (1972). On the distinction between density and crowding: Some implications for future research. *Psychological Review*, *79*(3), 275–277. <https://doi.org/10.1037/h0032706>
- Strakowski, S. M., Sax, K. W., Setters, M. J., & Keck, P. E. (1996). Enhanced response to repeated d-amphetamine challenge: Evidence for behavioral sensitization in humans. *Biological Psychiatry*, *40*(9), 872–880. [https://doi.org/10.1016/0006-3223\(95\)00497-1](https://doi.org/10.1016/0006-3223(95)00497-1)
- Strömbom, U. H., & Liedman, B. (1982). Role of dopaminergic neurotransmission in locomotor stimulation by dexamphetamine and ethanol. *Psychopharmacology*, *78*(3), 271–276. <https://doi.org/10.1007/BF00428164>
- Suddendorf, R. F. (1989). Research on alcohol metabolism among Asians and its implications for understanding causes of alcoholism. *Public Health Reports (Washington, D.C.: 1974)*, *104*(6), 615–620.

- Sullens, D. G., Gilley, K., Jensen, K., Vichaya, E., Dolan, S. L., & Sekeres, M. J. (2021). Social isolation induces hyperactivity and exploration in aged female mice. *PLoS One*, *16*(2), e0245355. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0245355>
- Susser, E. R., & Wallace, R. B. (1982). The effects of environmental complexity on the hippocampal formation of the adult rat. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, *42*(2), 203–207.
- Svenson, K. L., & Paigen, B. (2019). Recommended housing densities for research mice: Filling the gap in data-driven alternatives. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *33*(3), 3097–3111. <https://doi.org/10.1096/fj.201801972R>
- Sztainberg, Y., & Chen, A. (2010). An environmental enrichment model for mice. *Nature Protocols*, *5*(9), Article 9. <https://doi.org/10.1038/nprot.2010.114>
- Tabakoff, B., & Kiianmaa, K. (1982). Does tolerance develop to the activating, as well as the depressant, effects of ethanol? *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *17*(5), 1073–1076. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(82\)90496-8](https://doi.org/10.1016/0091-3057(82)90496-8)
- Tambour, S., Didone, V., Tirelli, E., & Quertemont, E. (2005). Dissociation between the locomotor and anxiolytic effects of acetaldehyde in the elevated plus-maze: Evidence that acetaldehyde is not involved in the anxiolytic effects of ethanol in mice. *European Neuropsychopharmacology: The Journal of the European College of Neuropsychopharmacology*, *15*(6), Article 6. <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2005.04.014>
- Tambour, S., Didone, V., Tirelli, E., & Quertemont, E. (2006). Locomotor effects of ethanol and acetaldehyde after peripheral and intraventricular injections in Swiss and C57BL/6J mice. *Behavioural Brain Research*, *172*(1), 145–154. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2006.05.010>
- Tanaka, T., Ago, Y., Umehara, C., Imoto, E., Hasebe, S., Hashimoto, H., Takuma, K., & Matsuda, T. (2017). Role of Prefrontal Serotonergic and Dopaminergic Systems in Encounter-Induced Hyperactivity in Methamphetamine-Sensitized Mice. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, *20*(5), 410–421. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyw115>

- Tapia-Rojas, C., Carvajal, F. J., Mira, R. G., Arce, C., Lerma-Cabrera, J. M., Orellana, J. A., Cerpa, W., & Quintanilla, R. A. (2018). Adolescent Binge Alcohol Exposure Affects the Brain Function Through Mitochondrial Impairment. *Molecular Neurobiology*, *55*(5), 4473–4491. <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0613-4>
- Thiele, T. E., Crabbe, J. C., & Boehm, S. L. (2014). “Drinking in the Dark” (DID): A Simple Mouse Model of Binge-Like Alcohol Intake. *Current Protocols in Neuroscience / Editorial Board, Jacqueline N. Crawley ... [et Al.]*, *68*, 9.49.1-9.49.12. <https://doi.org/10.1002/0471142301.ns0949s68>
- Tirelli, E., & Jodogne, C. (1993). Behavioral sensitization and tolerance to the D-sub-2 agonist RU 24213: Dissociation between several patterns in mice. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, *44*(3), Article 3. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(93\)90178-V](https://doi.org/10.1016/0091-3057(93)90178-V)
- Tirelli, E., Jodogne, C., & Legros, J. J. (1992). Oxytocin blocks the environmentally conditioned compensatory response present after tolerance to ethanol-induced hypothermia in mice. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *43*(4), 1263–1267. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(92\)90512-e](https://doi.org/10.1016/0091-3057(92)90512-e)
- Tirelli, E., Laviola, G., & Adriani, W. (2003). Ontogenesis of behavioral sensitization and conditioned place preference induced by psychostimulants in laboratory rodents. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, *27*(1–2), 163–178. [https://doi.org/10.1016/s0149-7634\(03\)00018-6](https://doi.org/10.1016/s0149-7634(03)00018-6)
- Torcaso, A., Asimes, A., Meagher, M., & Pak, T. R. (2017). Adolescent binge alcohol exposure increases risk assessment behaviors in male Wistar rats after exposure to an acute psychological stressor in adulthood. *Psychoneuroendocrinology*, *76*, 154–161. <https://doi.org/10.1016/j.psyneuen.2016.11.032>
- Torrens, M., Domingo-Salvany, A., Alonso, J., Castillo, C., & San, L. (1999). Methadone and quality of life. *Lancet (London, England)*, *353*(9158), 1101. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)76462-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)76462-X)
- Torres-Reveron, A., & Dow-Edwards, D. (2022). Scoping review on environmental enrichment: Are critical periods and sex differences adequately studied? *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *218*, 173420. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2022.173420>

- Toth, L. A., Kregel, K., Leon, L., & Musch, T. I. (2011). Environmental enrichment of laboratory rodents: The answer depends on the question. *Comparative Medicine*, *61*(4), 314–321.
- Treit, D., & Berridge, K. C. (1990). A comparison of benzodiazepine, serotonin, and dopamine agents in the taste-reactivity paradigm. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *37*(3), 451–456. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(90\)90011-6](https://doi.org/10.1016/0091-3057(90)90011-6)
- Trevisan, L. A., Boutros, N., Petrakis, I. L., & Krystal, J. H. (1998). Complications of alcohol withdrawal: Pathophysiological insights. *Alcohol Health and Research World*, *22*(1), 61–66.
- Tsai, P. P., Stelzer, H. D., Hedrich, H. J., & Hackbarth, H. (2003). Are the effects of different enrichment designs on the physiology and behaviour of DBA/2 mice consistent? *Laboratory Animals*, *37*(4), 314–327. <https://doi.org/10.1258/002367703322389889>
- Tsai, P.-P., Stelzer, H. D., Schraepler, A., & Hackbarth, H. (2006). Importance and effects of enrichment on physiology, behaviour and breeding performance in mice. *ALTEX: Alternativen Zu Tierexperimenten*, *23 Suppl*, 96–98.
- Tsibulsky, V. L., & Amit, Z. (1993). Tolerance to effects of high doses of ethanol: 1. Lethal effects in mice. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, *45*(2), 465–472. [https://doi.org/10.1016/0091-3057\(93\)90266-v](https://doi.org/10.1016/0091-3057(93)90266-v)
- Tzschentke, T. M. (1998). Measuring reward with the conditioned place preference paradigm: A comprehensive review of drug effects, recent progress and new issues. *Progress in Neurobiology*, *56*(6), 613–672. [https://doi.org/10.1016/s0301-0082\(98\)00060-4](https://doi.org/10.1016/s0301-0082(98)00060-4)
- Tzschentke, T. M. (2007). Measuring reward with the conditioned place preference (CPP) paradigm: Update of the last decade. *Addiction Biology*, *12*(3–4), 227–462. <https://doi.org/10.1111/j.1369-1600.2007.00070.x>
- Ueda, S., Sakakibara, S., & Yoshimoto, K. (2005). Effect of long-lasting serotonin depletion on environmental enrichment-induced neurogenesis in adult rat hippocampus and spatial learning. *Neuroscience*, *135*(2), 395–402. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2005.06.065>

- Umathe, S. N., Bhutada, P. S., Raut, V. S., Jain, N. S., & Mundhada, Y. R. (2009). The 5-HT₃ receptor antagonist, ondansetron, blocks the development and expression of ethanol-induced locomotor sensitization in mice. *Behavioural Pharmacology*, *20*(1), 78–83. <https://doi.org/10.1097/FBP.0b013e3283242ff4>
- Urban, N. B. L., Kegeles, L. S., Slifstein, M., Xu, X., Martinez, D., Sakr, E., Castillo, F., Moadel, T., O'Malley, S. S., Krystal, J. H., & Abi-Dargham, A. (2010). Sex differences in striatal dopamine release in young adults after oral alcohol challenge: A positron emission tomography imaging study with [¹¹C]raclopride. *Biological Psychiatry*, *68*(8), 689–696. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2010.06.005>
- Usher, K., Bhullar, N., & Jackson, D. (2020). Life in the pandemic: Social isolation and mental health. *Journal of Clinical Nursing*, *29*(15–16), 2756–2757. <https://doi.org/10.1111/jocn.15290>
- Usui, T., Macleod, M. R., McCann, S. K., Senior, A. M., & Nakagawa, S. (2021). Meta-analysis of variation suggests that embracing variability improves both replicability and generalizability in preclinical research. *PLoS Biology*, *19*(5), e3001009. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.3001009>
- Vallee, B. L. (1994). Alcohol in human history. *EXS*, *71*, 1–8. https://doi.org/10.1007/978-3-0348-7330-7_1
- Valzelli, L. (1967). Drugs and aggressiveness. *Advances in Pharmacology*, *5*, 79–108. [https://doi.org/10.1016/s1054-3589\(08\)60655-9](https://doi.org/10.1016/s1054-3589(08)60655-9)
- Valzelli, L. (1973). The “isolation syndrome” in mice. *Psychopharmacologia*, *31*(4), 305–320. <https://doi.org/10.1007/BF00421275>
- Valzelli, L., & Bernasconi, S. (1979). Aggressiveness by isolation and brain serotonin turnover changes in different strains of mice. *Neuropsychobiology*, *5*(3), 129–135. <https://doi.org/10.1159/000117674>
- van Amsterdam, J., & van den Brink, W. (2013a). Reduced-risk drinking as a viable treatment goal in problematic alcohol use and alcohol dependence. *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, *27*(11), 987–997. <https://doi.org/10.1177/0269881113495320>

- van Amsterdam, J., & van den Brink, W. (2013b). The high harm score of alcohol. Time for drug policy to be revisited? *Journal of Psychopharmacology (Oxford, England)*, 27(3), 248–255. <https://doi.org/10.1177/0269881112472559>
- Van de Weerd, H. A., Aarsen, E. L., Mulder, A., Kruitwagen, C. L. J. J., Hendriksen, C. F. M., & Baumans, V. (2002). Effects of environmental enrichment for mice: Variation in experimental results. *Journal of Applied Animal Welfare Science: JAAWS*, 5(2), 87–109. https://doi.org/10.1207/S15327604JAWS0502_01
- Van de Weerd, H. A., Baumans, V., Koolhaas, J. M., & van Zutphen, L. F. (1994). Strain specific behavioural response to environmental enrichment in the mouse. *Journal of Experimental Animal Science*, 36(4–5), 117–127.
- Van de Weerd, H. A., Van Loo, P. L. P., & Baumans, V. (2004). Environmental enrichment: Room for reduction? *Alternatives to Laboratory Animals: ATLA*, 32 Suppl 2, 69–71. <https://doi.org/10.1177/026119290403202s14>
- Van de Weerd, H. A., Van Loo, P. L. P., Van Zutphen, L. F. M., Koolhaas, J. M., & Baumans, V. (1998). Strength of preference for nesting material as environmental enrichment for laboratory mice. *Applied Animal Behaviour Science*, 55(3), 369–382. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(97\)00043-9](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(97)00043-9)
- Van de Weerd, H. A., Van Loo, P. L., Van Zutphen, L. F., Koolhaas, J. M., & Baumans, V. (1997). Preferences for nesting material as environmental enrichment for laboratory mice. *Laboratory Animals*, 31(2), 133–143. <https://doi.org/10.1258/002367797780600152>
- Van Hartesveldt, C., & Joyce, J. N. (1986). Effects of estrogen on the basal ganglia. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 10(1), 1–14. [https://doi.org/10.1016/0149-7634\(86\)90029-1](https://doi.org/10.1016/0149-7634(86)90029-1)
- Van Hees, L., Didone, V., Charlet-Briart, M., van Ingelgom, T., Alexandre, A., Quertemont, E., Nguyen, L., & Laguesse, S. (2022). Voluntary alcohol binge-drinking in adolescent C57Bl6 mice induces delayed appearance of behavioural defects in both males and females. *Addiction Biology*, 27(1). <https://doi.org/10.1111/adb.13102>
- van Ingelgom, T., Didone, V., Godefroid, L., & Quertemont, É. (2024). Effects of social housing conditions on ethanol-induced behavioral sensitization in Swiss mice.

- Psychopharmacology*, 241(5), 987–1000. <https://doi.org/10.1007/s00213-024-06527-7>
- van Ingelgom, T., Didone, V., & Quertemont, E. (2021, December 1). *Inbred/outbred: Quelle variabilité dans un modèle murin de la sensibilisation comportementale ?* 46ème colloque AFSTAL 2021. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.16763.39209>
- Van Loo, P. L. P., Blom, H. J. M., Meijer, M. K., & Baumans, V. (2005). Assessment of the use of two commercially available environmental enrichments by laboratory mice by preference testing. *Laboratory Animals*, 39(1), 58–67. <https://doi.org/10.1258/0023677052886501>
- Van Loo, P. L., de Groot, A. C., Van Zutphen, B. F. M., & Baumans, V. (2001). Do Male Mice Prefer or Avoid Each Other's Company? Influence of Hierarchy, Kinship, and Familiarity. *Journal of Applied Animal Welfare Science*, 4(2), Article 2. https://doi.org/10.1207/S15327604JAWS0402_1
- Van Loo, P., Kruitwagen, C. L. J. J., Koolhaas, J., Van de Weerd, H., Zutphen, L. F. M., & Baumans, V. (2002). Influence of cage enrichment on aggressive behaviour and physiological parameters in male mice. *Appl. Anim. Behav. Sci.*, 76. [https://doi.org/10.1016/S0168-1591\(01\)00200-3](https://doi.org/10.1016/S0168-1591(01)00200-3)
- Van Loo, P. L. P., Kuin, N., Sommer, R., Avsaroglu, H., Pham, T., & Baumans, V. (2007). Impact of “living apart together” on postoperative recovery of mice compared with social and individual housing. *Laboratory Animals*, 41(4), 441–455. <https://doi.org/10.1258/002367707782314328>
- Van Loo, P. L., Mol, J. A., Koolhaas, J. M., Van Zutphen, B. F., & Baumans, V. (2001). Modulation of aggression in male mice: Influence of group size and cage size. *Physiology & Behavior*, 72(5), 675–683. [https://doi.org/10.1016/s0031-9384\(01\)00425-5](https://doi.org/10.1016/s0031-9384(01)00425-5)
- Van Loo, P. L. P., Van der Meer, E., Kruitwagen, C. L. J. J., Koolhaas, J. M., Van Zutphen, L. F. M., & Baumans, V. (2004). Long-term effects of husbandry procedures on stress-related parameters in male mice of two strains. *Laboratory Animals*, 38(2), 169–177. <https://doi.org/10.1258/002367704322968858>
- Van Loo, P. L. P., Van de Weerd, H. A., Van Zutphen, L. F. M., & Baumans, V. (2004). Preference for social contact versus environmental enrichment in male laboratory

- mice. *Laboratory Animals*, 38(2), Article 2.
<https://doi.org/10.1258/002367704322968867>
- Van Loo, P. L. P., Van Zutphen, L. F. M., & Baumans, V. (2003). Male management: Coping with aggression problems in male laboratory mice. *Laboratory Animals*, 37(4), 300–313. <https://doi.org/10.1258/002367703322389870>
- Van Oortmerssen, G. A. (1971). Biological significance, genetics and evolutionary origin of variability in behaviour within and between inbred strains of mice (*Mus musculus*). A behaviour genetic study. *Behaviour*, 38(1), 1–92.
<https://doi.org/10.1163/156853971x00014>
- van Praag, H. (2008). Neurogenesis and exercise: Past and future directions. *Neuromolecular Medicine*, 10(2), Article 2. <https://doi.org/10.1007/s12017-008-8028>
- van Praag, H., Kempermann, G., & Gage, F. H. (2000). Neural consequences of environmental enrichment. *Nature Reviews. Neuroscience*, 1(3), Article 3. <https://doi.org/10.1038/35044558>
- van Zutphen, L., Hedrich, H., van Lith, H., & Prins, J. (Jan-B. (2001). “Genetic standardization.” In L. F. M. van Zutphen, V. Baumans, & A. C. Beynen (Eds.), *“Principles of Laboratory Animal Science: A contribution to the human use and care of animals and to the quality of experimental results”*. (pp. 1–2). Elsevier.
- Vanagas, G., Padaiga, Z., & Subata, E. (2004). Drug addiction maintenance treatment and quality of life measurements. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 40(9), 833–841.
- Vandaele, Y., & Ahmed, S. H. (2021). Habit, choice, and addiction. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 46(4), 689–698. <https://doi.org/10.1038/s41386-020-00899-y>
- Vanderbruggen, N., Matthys, F., Van Laere, S., Zeeuws, D., Santermans, L., Van den Aemele, S., & Crunelle, C. L. (2020). Self-Reported Alcohol, Tobacco, and Cannabis Use during COVID-19 Lockdown Measures: Results from a Web-Based Survey. *European Addiction Research*, 1–7. <https://doi.org/10.1159/000510822>

- Vanderschuren, L. J. M. J., & Pierce, R. C. (2010). Sensitization processes in drug addiction. *Current Topics in Behavioral Neurosciences*, 3, 179–195. https://doi.org/10.1007/7854_2009_21
- VanderWeele, T. J. (2017). Religious Communities and Human Flourishing. *Current Directions in Psychological Science*, 26(5), 476–481. <https://doi.org/10.1177/0963721417721526>
- Varty, G. B., Paulus, M. P., Braff, D. L., & Geyer, M. A. (2000). Environmental enrichment and isolation rearing in the rat: Effects on locomotor behavior and startle response plasticity. *Biological Psychiatry*, 47(10), 864–873. [https://doi.org/10.1016/s0006-3223\(99\)00269-3](https://doi.org/10.1016/s0006-3223(99)00269-3)
- Verma, L., & Jain, N. S. (2016). Central histaminergic transmission modulates the ethanol induced anxiolysis in mice. *Behavioural Brain Research*, 313, 38–52. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2016.07.012>
- Verster, J. C., de Klerk, S., Bervoets, A. C., & Kruisselbrink, L. D. (2013). Editorial: Can hangover immunity be really claimed? *Current Drug Abuse Reviews*, 6(4), 253–254. <https://doi.org/10.2174/187447370604140616120736>
- Verster, J. C., Stephens, R., Penning, R., Rohsenow, D., McGeary, J., Levy, D., McKinney, A., Finnigan, F., Piasecki, T. M., Adan, A., Batty, G. D., Fliervoet, L. A. L., Heffernan, T., Howland, J., Kim, D.-J., Kruisselbrink, L. D., Ling, J., McGregor, N., Murphy, R. J. L., ... Young, M. (2010). The Alcohol Hangover Research Group Consensus Statement on Best Practice in Alcohol Hangover Research. *Current Drug Abuse Reviews*, 3(2), 116–126.
- Vetreno, R. P., Broadwater, M., Liu, W., Spear, L. P., & Crews, F. T. (2014). Adolescent, but not adult, binge ethanol exposure leads to persistent global reductions of choline acetyltransferase expressing neurons in brain. *PLoS One*, 9(11), e113421. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113421>
- Vezina, P., & Stewart, J. (1990). Amphetamine administered to the ventral tegmental area but not to the nucleus accumbens sensitizes rats to systemic morphine: Lack of conditioned effects. *Brain Research*, 516(1), 99–106. [https://doi.org/10.1016/0006-8993\(90\)90902-n](https://doi.org/10.1016/0006-8993(90)90902-n)

- Victor, M., & Adams, R. D. (1953). The effect of alcohol on the nervous system. *Research Publications - Association for Research in Nervous and Mental Disease*, 32, 526–573.
- Võikar, V., Polus, A., Vasar, E., & Rauvala, H. (2005). Long-term individual housing in C57BL/6J and DBA/2 mice: Assessment of behavioral consequences. *Genes, Brain, and Behavior*, 4(4), 240–252. <https://doi.org/10.1111/j.1601-183X.2004.00106.x>
- Võikar, V., Vasar, E., & Rauvala, H. (2004). Behavioral alterations induced by repeated testing in C57BL/6J and 129S2/Sv mice: Implications for phenotyping screens. *Genes, Brain, and Behavior*, 3(1), 27–38. <https://doi.org/10.1046/j.1601-183x.2003.0044.x>
- Volkow, N. D., & Baler, R. D. (2014). Addiction science: Uncovering neurobiological complexity. *Neuropharmacology*, 76 Pt B(0 0), 235–249. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.05.007>
- Volkow, N. D., Chang, L., Wang, G. J., Fowler, J. S., Leonido-Yee, M., Franceschi, D., Sedler, M. J., Gatley, S. J., Hitzemann, R., Ding, Y. S., Logan, J., Wong, C., & Miller, E. N. (2001). Association of dopamine transporter reduction with psychomotor impairment in methamphetamine abusers. *The American Journal of Psychiatry*, 158(3), 377–382. <https://doi.org/10.1176/appi.ajp.158.3.377>
- Volkow, N. D., Koob, G. F., Croyle, R. T., Bianchi, D. W., Gordon, J. A., Koroshetz, W. J., Pérez-Stable, E. J., Riley, W. T., Bloch, M. H., Conway, K., Deeds, B. G., Dowling, G. J., Grant, S., Howlett, K. D., Matochik, J. A., Morgan, G. D., Murray, M. M., Noronha, A., Spong, C. Y., ... Weiss, S. R. B. (2018). The conception of the ABCD study: From substance use to a broad NIH collaboration. *Developmental Cognitive Neuroscience*, 32, 4–7. <https://doi.org/10.1016/j.dcn.2017.10.002>
- Volkow, N. D., Koob, G. F., & McLellan, A. T. (2016). Neurobiologic Advances from the Brain Disease Model of Addiction. *The New England Journal of Medicine*, 374(4), 363–371. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1511480>
- Volkow, N. D., Wang, G. J., Fowler, J. S., Logan, J., Hitzemann, R., Ding, Y. S., Pappas, N., Shea, C., & Piscani, K. (1996). Decreases in dopamine receptors but not in dopamine transporters in alcoholics. *Alcoholism, Clinical and Experimental Research*, 20(9), 1594–1598. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.1996.tb05936.x>
- Volkow, N. D., Wang, G.-J., Telang, F., Fowler, J. S., Logan, J., Jayne, M., Ma, Y., Pradhan, K., & Wong, C. (2007). Profound decreases in dopamine release in striatum in

- detoxified alcoholics: Possible orbitofrontal involvement. *The Journal of Neuroscience: The Official Journal of the Society for Neuroscience*, 27(46), 12700–12706. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3371-07.2007>
- Volpicelli, J. R., Alterman, A. I., Hayashida, M., & O'Brien, C. P. (1992). Naltrexone in the treatment of alcohol dependence. *Archives of General Psychiatry*, 49(11), 876–880. <https://doi.org/10.1001/archpsyc.1992.01820110040006>
- Vonghia, L., Leggio, L., Ferrulli, A., Bertini, M., Gasbarrini, G., & Addolorato, G. (2008). Acute alcohol intoxication. *European Journal of Internal Medicine*, 19(8), 561–567. <https://doi.org/10.1016/j.ejim.2007.06.033>
- Voss, M. W., Vivar, C., Kramer, A. F., & van Praag, H. (2013). Bridging animal and human models of exercise-induced brain plasticity. *Trends in Cognitive Sciences*, 17(10), Article 10. <https://doi.org/10.1016/j.tics.2013.08.001>
- Wachtel, S. R., & de Wit, H. (1999). Subjective and behavioral effects of repeated d-amphetamine in humans. *Behavioural Pharmacology*, 10(3), 271–281. <https://doi.org/10.1097/00008877-199905000-00004>
- Wahlsten, D., Metten, P., Phillips, T. J., Boehm, S. L., Burkhart-Kasch, S., Dorow, J., Doerksen, S., Downing, C., Fogarty, J., Rodd-Henricks, K., Hen, R., McKinnon, C. S., Merrill, C. M., Nolte, C., Schalomon, M., Schlumbohm, J. P., Sibert, J. R., Wenger, C. D., Dudek, B. C., & Crabbe, J. C. (2003). Different data from different labs: Lessons from studies of gene-environment interaction. *Journal of Neurobiology*, 54(1), 283–311. <https://doi.org/10.1002/neu.10173>
- Wakita, M., Shin, M.-C., Iwata, S., Nonaka, K., & Akaike, N. (2012). Effects of ethanol on GABA(A) receptors in GABAergic and glutamatergic presynaptic nerve terminals. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 341(3), 809–819. <https://doi.org/10.1124/jpet.111.189126>
- Wald, C., & Wu, C. (2010). Biomedical research. Of mice and women: The bias in animal models. *Science (New York, N.Y.)*, 327(5973), 1571–1572. <https://doi.org/10.1126/science.327.5973.1571>
- Walker, M., & Mason, G. (2018). A comparison of two types of running wheel in terms of mouse preference, health, and welfare. *Physiology & Behavior*, 191, 82–90. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2018.04.006>

- Wall, E. G., Desai, R., Khant Aung, Z., Yeo, S. H., Grattan, D. R., Handelsman, D. J., & Herbison, A. E. (2023). Unexpected Plasma Gonadal Steroid and Prolactin Levels Across the Mouse Estrous Cycle. *Endocrinology*, *164*(6), bqad070. <https://doi.org/10.1210/endocr/bqad070>
- Wallach, M. B., & Gershon, S. (1971). Sensitization to amphetamines. *Psychopharmacology Bulletin*, *7*(4), 30–31.
- Wang, Q., Wang, Y., Tian, Y., Li, Y., Han, J., Tai, F., & Jia, R. (2023). Social environment enrichment alleviates anxiety-like behavior in mice: Involvement of the dopamine system. *Behavioural Brain Research*, *456*, 114687. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2023.114687>
- Warnault, V., Houchi, H., Barbier, E., Pierrefiche, O., Vilpoux, C., Ledent, C., Daoust, M., & Naassila, M. (2007). The lack of CB1 receptors prevents neuroadaptations of both NMDA and GABA(A) receptors after chronic ethanol exposure. *Journal of Neurochemistry*, *102*(3), 741–752. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2007.04577.x>
- Weber, E. M., Zidar, J., Ewaldsson, B., Askevik, K., Udén, E., Svensk, E., & Törnqvist, E. (2022). Aggression in Group-Housed Male Mice: A Systematic Review. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, *13*(1), 143. <https://doi.org/10.3390/ani13010143>
- Weinstock, M., Speiser, Z., & Ashkenazi, R. (1978). Changes in brain catecholamine turnover and receptor sensitivity induced by social deprivation in rats. *Psychopharmacology*, *56*(2), 205–209. <https://doi.org/10.1007/BF00431851>
- Weiss, V. G., Hammerslag, L. R., & Bardo, M. T. (2020). Effect of a social peer on risky decision making in male Sprague Dawley rats. *Experimental and Clinical Psychopharmacology*, *28*(1), 26–31. <https://doi.org/10.1037/pha0000298>
- Werner, D. F., Swihart, A. R., Ferguson, C., Lariviere, W. R., Harrison, N. L., & Homanics, G. E. (2009). Alcohol-Induced Tolerance and Physical Dependence in Mice With Ethanol Insensitive $\alpha 1$ GABAA Receptors. *Alcoholism: Clinical and Experimental Research*, *33*(2), 289–299. <https://doi.org/10.1111/j.1530-0277.2008.00832.x>
- Whitaker, J., Moy, S. S., Godfrey, V., Nielsen, J., Bellinger, D., & Bradfield, J. (2009). Effects of cage size and enrichment on reproductive performance and behavior in C57BL/6Tac mice. *Lab Animal*, *38*(1), 24–34. <https://doi.org/10.1038/labon0109-24>

- Whitaker, J. W., Moy, S. S., Pritchett-Corning, K. R., & Fletcher, C. A. (2016). Effects of Enrichment and Litter Parity on Reproductive Performance and Behavior in BALB/c and 129/Sv Mice. *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science: JAALAS*, 55(4), 387–399.
- White, F. J. (2002). A Behavioral/Systems Approach to the Neuroscience of Drug Addiction. *Journal of Neuroscience*, 22(9), 3303–3305. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.22-09-03303.2002>
- Wilkinson, L. S., Killcross, S. S., Humby, T., Hall, F. S., Geyer, M. A., & Robbins, T. W. (1994). Social isolation in the rat produces developmentally specific deficits in prepulse inhibition of the acoustic startle response without disrupting latent inhibition. *Neuropsychopharmacology: Official Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 10(1), 61–72. <https://doi.org/10.1038/npp.1994.8>
- Wilkinson, P. K., Sedman, A. J., Sakmar, E., Kay, D. R., & Wagner, J. G. (1977). Pharmacokinetics of ethanol after oral administration in the fasting state. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*, 5(3), 207–224. <https://doi.org/10.1007/BF01065396>
- Will, T. R., Proaño, S. B., Thomas, A. M., Kunz, L. M., Thompson, K. C., Ginnari, L. A., Jones, C. H., Lucas, S.-C., Reavis, E. M., Dorris, D. M., & Meitzen, J. (2017). Problems and Progress regarding Sex Bias and Omission in Neuroscience Research. *eNeuro*, 4(6), ENEURO.0278-17.2017. <https://doi.org/10.1523/ENEURO.0278-17.2017>
- Williamson, C. M., Lee, W., DeCasien, A. R., Lanham, A., Romeo, R. D., & Curley, J. P. (2019). Social hierarchy position in female mice is associated with plasma corticosterone levels and hypothalamic gene expression. *Scientific Reports*, 9(1), 7324. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43747-w>
- Windle, M., & Zucker, R. A. (2010). Reducing underage and young adult drinking: How to address critical drinking problems during this developmental period. *Alcohol Research & Health: The Journal of the National Institute on Alcohol Abuse and Alcoholism*, 33(1–2), 29–44.
- Wirth, H. (1983). Criteria for the evaluation of laboratory animal bedding. *Laboratory Animals*, 17(2), 81–84. <https://doi.org/10.1258/002367783780959493>

- Wise, R. A. (1982). Neuroleptics and operant behavior: The anhedonia hypothesis. *Behavioral and Brain Sciences*, 5(1), 39–53. <https://doi.org/10.1017/S0140525X00010372>
- Wise, R. A. (1985). The anhedonia hypothesis: Mark III. *Behavioral and Brain Sciences*, 8(1), 178–186. <https://doi.org/10.1017/S0140525X00020306>
- Wise, R. A. (1987). The role of reward pathways in the development of drug dependence. *Pharmacology & Therapeutics*, 35(1–2). [https://doi.org/10.1016/0163-7258\(87\)90108-2](https://doi.org/10.1016/0163-7258(87)90108-2)
- Wise, R. A., & Bozarth, M. A. (1984). Brain reward circuitry: Four circuit elements “wired” in apparent series. *Brain Research Bulletin*, 12(2), 203–208. [https://doi.org/10.1016/0361-9230\(84\)90190-4](https://doi.org/10.1016/0361-9230(84)90190-4)
- Wise, R. A., & Bozarth, M. A. (1987). A psychomotor stimulant theory of addiction. *Psychological Review*, 94(4), 469–492. <https://doi.org/10.1037/0033-295X.94.4.469>
- Wise, R. A., & Koob, G. F. (2014). The Development and Maintenance of Drug Addiction. *Neuropsychopharmacology*, 39(2), 254–262. <https://doi.org/10.1038/npp.2013.261>
- Wise, R. A., & Rompre, P. P. (1989). Brain dopamine and reward. *Annual Review of Psychology*, 40, 191–225. <https://doi.org/10.1146/annurev.ps.40.020189.001203>
- Wojdala, A., Molins, F., & Serrano, M. Á. (2020). Stress and drug addiction: An up-to-date perspective from 2020. *Adicciones*, 32(4), 239–242. <https://doi.org/10.20882/adicciones.1470>
- Wolf, M. E., Dahlin, S. L., Hu, X. T., Xue, C. J., & White, K. (1995). Effects of lesions of prefrontal cortex, amygdala, or fornix on behavioral sensitization to amphetamine: Comparison with N-methyl-D-aspartate antagonists. *Neuroscience*, 69(2), 417–439. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(95\)00248-h](https://doi.org/10.1016/0306-4522(95)00248-h)
- Wolfer, D. P., Litvin, O., Morf, S., Nitsch, R. M., Lipp, H.-P., & Würbel, H. (2004). Laboratory animal welfare: Cage enrichment and mouse behaviour. *Nature*, 432(7019), 821–822. <https://doi.org/10.1038/432821a>
- Wolfe, T. L. (2005). Introduction: Environmental enrichment. *ILAR Journal*, 46(2), 79–82. <https://doi.org/10.1093/ilar.46.2.79>

- Woolverton, W. L. (1992). Cocaine self-administration: Pharmacology and behavior. *NIDA Research Monograph*, 124, 189–202.
- Woolverton, W. L., Cervo, L., & Johanson, C. E. (1984). Effects of repeated methamphetamine administration on methamphetamine self-administration in rhesus monkeys. *Pharmacology, Biochemistry, and Behavior*, 21(5), 737–741. [https://doi.org/10.1016/s0091-3057\(84\)80012-x](https://doi.org/10.1016/s0091-3057(84)80012-x)
- Würbel, H. (2007). Environmental enrichment does not disrupt standardisation of animal experiments. *ALTEX*, 24 Spec No, 70–73.
- Würbel, H., Freire, R., & Nicol, C. J. (1998). Prevention of stereotypic wire-gnawing in laboratory mice: Effects on behaviour and implications for stereotypy as a coping response. *Behavioural Processes*, 42(1), 61–72. [https://doi.org/10.1016/s0376-6357\(97\)00062-4](https://doi.org/10.1016/s0376-6357(97)00062-4)
- Würbel, H., & Garner, J. (2007). Refinement of rodent research through environmental enrichment and systematic randomization. *NC3Rs*, 9, 1–9.
- Xerri, C., Zennou-Azougui, Y., & Coq, J.-O. (2003). Neuroprotective effects on somatotopic maps resulting from piracetam treatment and environmental enrichment after focal cortical injury. *ILAR Journal*, 44(2), 110–124. <https://doi.org/10.1093/ilar.44.2.110>
- Xia, Y., & Haddad, G. G. (1992). Ontogeny and distribution of GABAA receptors in rat brainstem and rostral brain regions. *Neuroscience*, 49(4), 973–989. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(92\)90373-a](https://doi.org/10.1016/0306-4522(92)90373-a)
- Xu, J., Sun, J., Xue, Z., & Li, X. (2014). An enriched environment reduces the stress level and locomotor activity induced by acute morphine treatment and by saline after chronic morphine treatment in mice. *Neuroreport*, 25(9), 701–709. <https://doi.org/10.1097/WNR.000000000000164>
- Yanai, J., & Sze, P. Y. (1982). Accelerated acquisition of ethanol tolerance in isolated mice. *Neuropsychobiology*, 8(3), 135–139. <https://doi.org/10.1159/000117888>
- Yang, Y. C., Li, T., & Frenk, S. M. (2014). Social network ties and inflammation in U.S. adults with cancer. *Biodemography and Social Biology*, 60(1), 21–37. <https://doi.org/10.1080/19485565.2014.899452>

- Yen, C. Y., Stanger, R. L., & Millman, N. (1959). Ataractic suppression of isolation-induced aggressive behavior. *Archives Internationales De Pharmacodynamie Et De Therapie*, *123*, 179–185.
- Yoneyama, N., Crabbe, J. C., Ford, M. M., Murillo, A., & Finn, D. A. (2008). Voluntary ethanol consumption in 22 inbred mouse strains. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, *42*(3), 149–160. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2007.12.006>
- York, C. G. (2024). *Neurological Disorders Lesson 5.2 How do drugs alter synaptic transmission? Human Brain Rat Brain*. <https://slideplayer.com/slide/8133609/>
- Yost, D. A. (2002). Acute care for alcohol intoxication. Be prepared to consider clinical dilemmas. *Postgraduate Medicine*, *112*(6), 14–16, 21–22, 25–26. <https://doi.org/10.3810/pgm.2002.12.1361>
- Young, R. McD., Oei, T. P. S., & Knight, R. G. (1990). The Tension Reduction Hypothesis revisited: An alcohol expectancy perspective. *British Journal of Addiction*, *85*(1), 31–40. <https://doi.org/10.1111/j.1360-0443.1990.tb00621.x>
- Yunusoğlu, O. (2022). Rewarding effect of ethanol-induced conditioned place preference in mice: Effect of the monoterpenoid linalool. *Alcohol (Fayetteville, N.Y.)*, *98*, 55–63. <https://doi.org/10.1016/j.alcohol.2021.11.003>
- Zahr, N. M., Kaufman, K. L., & Harper, C. G. (2011). Clinical and pathological features of alcohol-related brain damage. *Nature Reviews. Neurology*, *7*(5), 284–294. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2011.42>
- Zajitschek, S. R., Zajitschek, F., Bonduriansky, R., Brooks, R. C., Cornwell, W., Falster, D. S., Lagisz, M., Mason, J., Senior, A. M., Noble, D. W., & Nakagawa, S. (2020). Sexual dimorphism in trait variability and its eco-evolutionary and statistical implications. *eLife*, *9*, e63170. <https://doi.org/10.7554/eLife.63170>
- Zaleski, M. J., Nunes Filho, J. R., Lemos, T., & Morato, G. S. (2001). GABA(B) receptors play a role in the development of tolerance to ethanol in mice. *Psychopharmacology*, *153*(4), 415–424. <https://doi.org/10.1007/s002130000581>
- Zapata, A., Gonzales, R. A., & Shippenberg, T. S. (2006). Repeated ethanol intoxication induces behavioral sensitization in the absence of a sensitized accumbens dopamine response in C57BL/6J and DBA/2J mice. *Neuropsychopharmacology: Official*

- Publication of the American College of Neuropsychopharmacology*, 31(2), 396–405.
<https://doi.org/10.1038/sj.npp.1300833>
- Zentall, T. R. (2021). Effect of Environmental Enrichment on the Brain and on Learning and Cognition by Animals. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 11(4), 973.
<https://doi.org/10.3390/ani11040973>
- Zgierska, A., Rabago, D., Chawla, N., Kushner, K., Koehler, R., & Marlatt, A. (2009). Mindfulness meditation for substance use disorders: A systematic review. *Substance Abuse*, 30(4), 266–294. <https://doi.org/10.1080/08897070903250019>
- Zhang, L., & Yuan, T.-F. (2019). Exercise and substance abuse. *International Review of Neurobiology*, 147, 269–280. <https://doi.org/10.1016/bs.irn.2019.07.007>
- Zheng, J.-J., Zou, R., Huang, S., Song, T.-J., & Yu, X. (2020). Enriched Environment Rearing from Birth Reduced Anxiety, Improved Learning and Memory, and Promoted Social Interactions in Adult Male Mice. *Neuroscience*, 442, 138–150.
<https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2020.07.004>
- Zimmermann, A., Stauffacher, M., Langhans, W., & Würbel, H. (2001). Enrichment-dependent differences in novelty exploration in rats can be explained by habituation. *Behavioural Brain Research*, 121(1–2), 11–20. [https://doi.org/10.1016/s0166-4328\(00\)00377-6](https://doi.org/10.1016/s0166-4328(00)00377-6)
- Zlebnik, N. E., Anker, J. J., Gliddon, L. A., & Carroll, M. E. (2010). Reduction of extinction and reinstatement of cocaine seeking by wheel running in female rats. *Psychopharmacology*, 209(1), Article 1. <https://doi.org/10.1007/s00213-010-1776-0>
- Zurlo, J., & Hutchinson, E. (2014). Refinement. *ALTEX*, 31(1), 4–10.
<https://doi.org/10.14573/altex.1312191>

ANNEXES

« Vous reprendrez bien un peu de statistiques ? »

Annexe A : coefficients de variations (article 1)

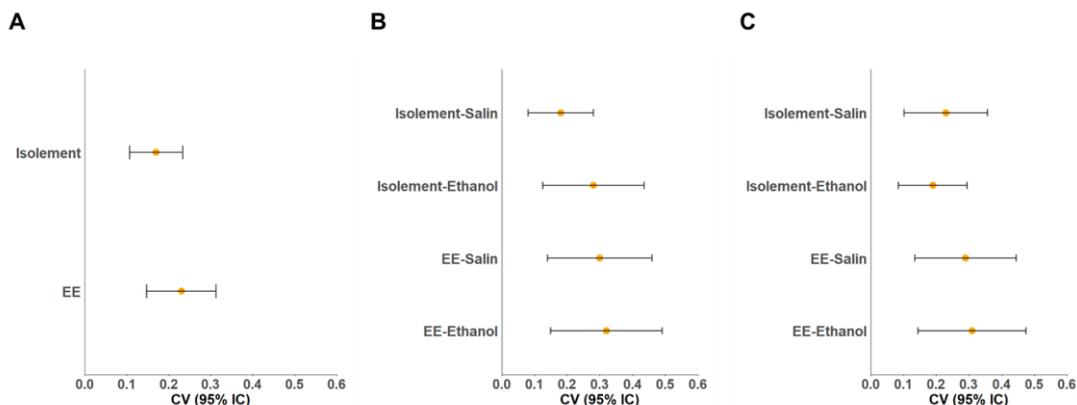


Figure 25.

EE : G8. Isolement : G1.

A. Habituation session

Isolement vs. EE : $F(29,31) = 0,79$ avec IC95% (0,39-1,65) ; $p=0,73$ ($> 0,05$)

B. Acute session

Isolement/Salin vs. EE/Salin : $F(14,15) = 0,59$ avec IC95% (0,20-1,76) ; $p=0,83$ ($> 0,05$)

Isolement/Ethanol vs. EE/Ethanol : $F(14,15) = 1,27$ avec IC95% (0,43-3,73) ; $p=0,33$ ($> 0,05$)

C. Sensitized levels

Isolement/Salin vs. EE/Salin : $F(13,15) = 0,83$ avec IC95% (0,28-5,51) ; $p=0,64$ ($> 0,05$)

Isolement/Ethanol vs. EE/Ethanol : $F(14,15) = 0,55$ avec IC95% (0,18-1,61) ; $p=0,86$ ($> 0,05$)

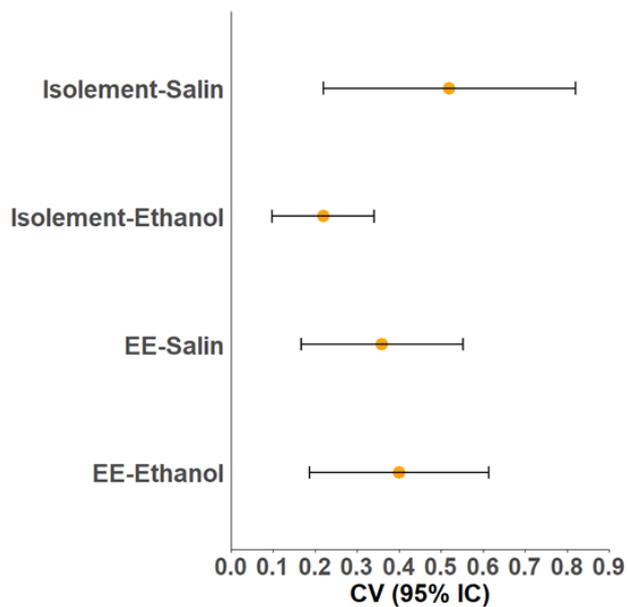


Figure 26.

EE : G8. Isolement : G1.

Sensitization test session

Isolement/Salin vs. EE/Salin : $F(13,14) = 2,12$ avec IC95% (0,70-6,50) ; $p=0,09$ ($> 0,05$)

Isolement/Ethanol vs. EE/Ethanol : $F(14,15) = 0,58$ avec IC95% (0,21-1,71) ; $p=0,85$ ($> 0,05$)

Annexe B : coefficients de variations (article 2)

Experiment 1: tolerance to ethanol-induced sedation

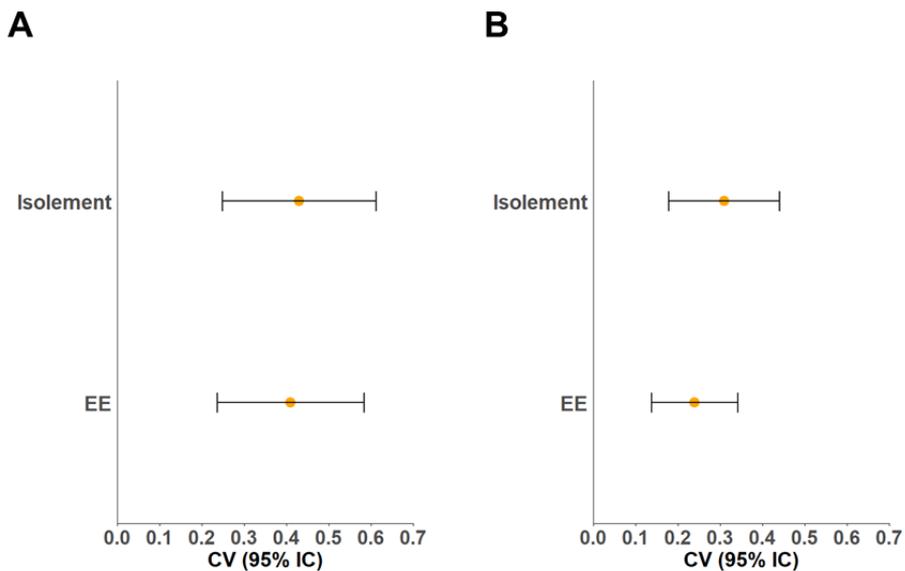


Figure 27.

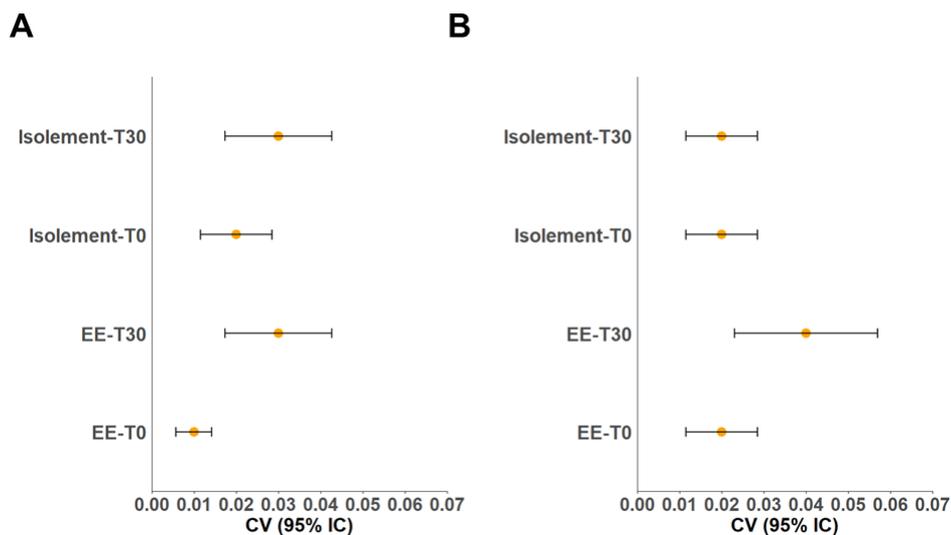
EE : G8. Isolement : G1.

A. Acute session

Isolement vs. EE : $F(23) = 0,93$ avec IC95% (0,40-2,16) ; $p=0,56$ ($> 0,05$)

B. Session 10

Isolement vs. EE : $F(23) = 0,88$ avec IC95% (0,37-2,03) ; $p=0,62$ ($> 0,05$)

Experiment 2: tolerance to ethanol-induced hypothermia**Figure 28.**

EE : G8. Isolement : G1. T0 : température rectale basale. T0 : température rectale 30 minutes après i.p. éthanol.

A. Acute session

T0-Isolement vs. EE : $F(23) = 1,15$ avec IC95% (0,49-2,66) ; $p=0,36$ ($> 0,05$)

T30-Isolement vs. EE : $F(23) = 0,82$ avec IC95% (0,36-1,90) ; $p=0,69$ ($> 0,05$)

B. Session 10

T0-Isolement vs. EE : $F(23) = 1,33$ avec IC95% (0,57-3,09) ; $p=0,25$ ($> 0,05$)

T30-Isolement vs. EE : $F(23) = 0,65$ avec IC95% (0,29-1,52) ; $p=0,85$ ($> 0,05$)

Annexe C : coefficients de variations (article 3)

Anxiety-related behaviors (EPM)

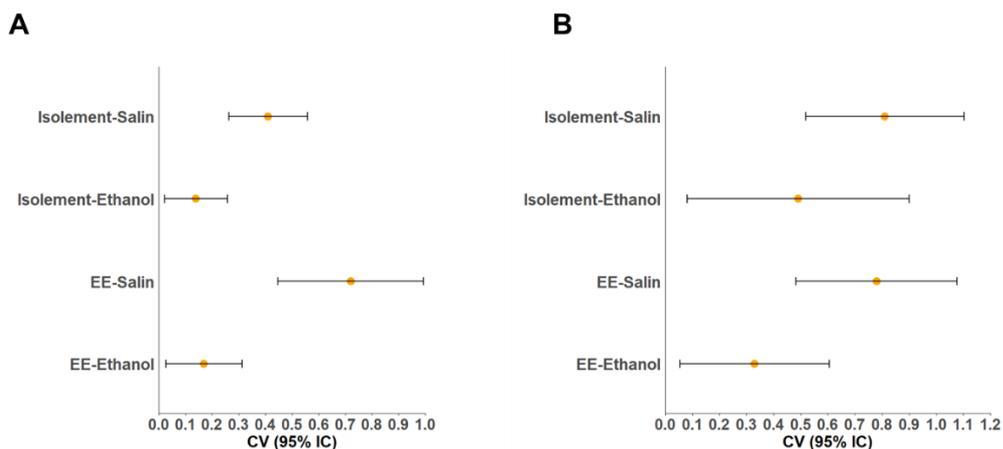


Figure 29.

EE : G8. Isolement : G1.

A. Percentage of time spent in the open arms

Isolement/Salin vs. EE/Salin : $F(31,28) = 0,98$ avec IC95% (0,46-2,05) ; $p=0,51$ ($> 0,05$)

Isolement/Ethanol vs. EE/Ethanol : $F(7) = 0,74$ avec IC95% (0,14-3,73) ; $p=0,65$ ($> 0,05$)

B. Number of head dips

Isolement/Salin vs. EE/Salin : $F(31,28) = 1,27$ avec IC95% (0,60-2,65) ; $p=0,25$ ($> 0,05$)

Isolement/Ethanol vs. EE/Ethanol : $F(7) = 1,33$ avec IC95% (0,26-4,60) ; $p=0,37$ ($> 0,05$)

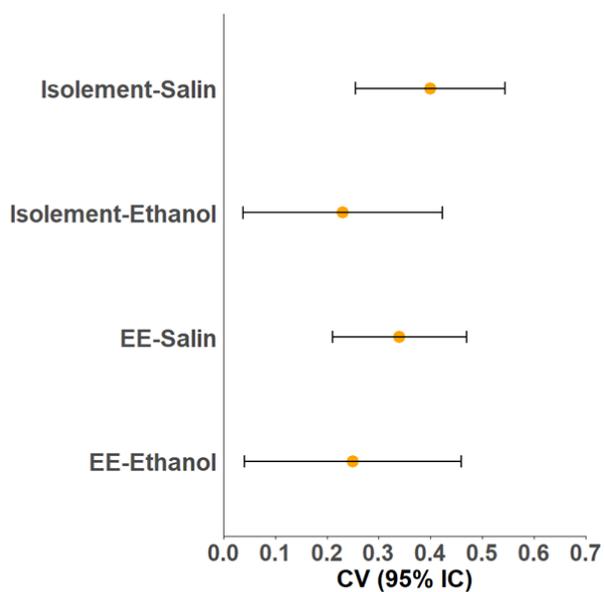


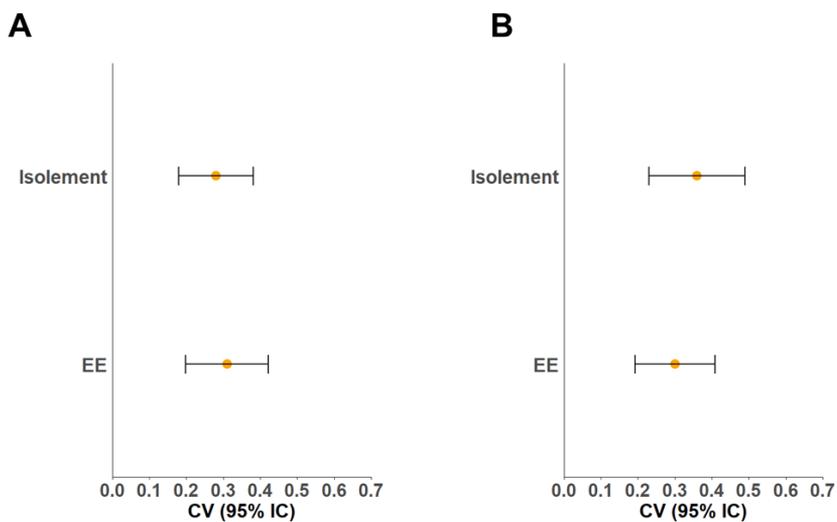
Figure 30.

EE : G8. Isolement : G1.

Total arm entries

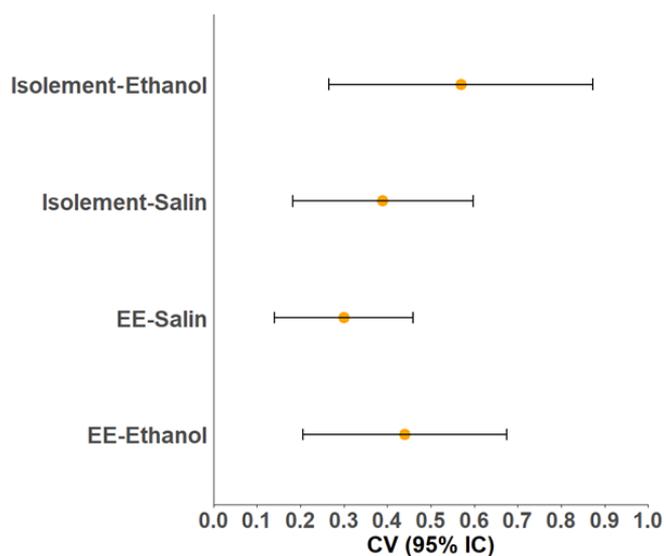
Isolement/Salin vs. EE/Salin : $F(31,28) = 1,72$ avec IC95% (0,81-3,55) ; $p=0,09$ ($> 0,05$)

Isolement/Ethanol vs. EE/Ethanol : $F(7) = 0,97$ avec IC95% (0,19-4,86) ; $p=0,51$ ($> 0,05$)

Novelty response and habituation**Figure 31.**

EE : G8. Isolement : G1.

A. First day of OF (novelty response)Isolement vs. EE : $F(31) = 1,05$ avec IC95% (0,51-2,13) ; $p=0,45$ ($> 0,05$)**B. Day 4 (habituation to novelty)**Isolement vs. EE : $F(31) = 1,69$ avec IC95% (0,82-3,46) ; $p=0,08$ ($> 0,05$)

Acute locomotor effects of ethanol**Figure 32.**

EE : G8. Isolement : G1.

Acute locomotor effects of ethanol

Isolement/Salin vs. EE/Salin : $F(15) = 1,37$ avec IC95% (0,47-3,92) ; $p=0,27$ ($> 0,05$)

Isolement/Ethanol vs. EE/Ethanol : $F(15) = 1,40$ avec IC95% (0,50-4,01) ; $p=0,25$ ($> 0,05$)

