



Effets comportementaux et neurogéniques des antidépresseurs dans un nouveau modèle d'anxiété/dépression chez la souris adulte

Quentin Rainer

► To cite this version:

Quentin Rainer. Effets comportementaux et neurogéniques des antidépresseurs dans un nouveau modèle d'anxiété/dépression chez la souris adulte. Médecine humaine et pathologie. Université Paris Sud - Paris XI, 2011. Français. NNT: 2011PA114805 . tel-00672775

HAL Id: tel-00672775

<https://theses.hal.science/tel-00672775>

Submitted on 22 Feb 2012

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

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

UNIVERSITÉ PARIS-SUD 11

ECOLE DOCTORALE :

INNOVATION THÉRAPEUTIQUE : DU FONDAMENTAL A L'APPLIQUÉ
PÔLE : PHARMACOLOGIE ET TOXICOLOGIE

DISCIPLINE :

Neuropharmacologie

ANNÉE 2010 - 2011

SÉRIE DOCTORAT N° 1102

THÈSE DE DOCTORAT

soutenue le 07/03/2011

par

Quentin RAINER

Effets comportementaux et neurogéniques des
antidépresseurs dans un nouveau modèle
d'anxiété/dépression chez la Souris adulte

Directeur de thèse : Mr Denis DAVID Université Paris Sud XI

Composition du jury :

Président du jury : Mr Pierre-Marie LLEDO Institut Pasteur

Rapporteurs : Mme Florence NOBLE Université Paris Descartes
Mr Etienne SIBILLE Université de Pittsburgh

Examineurs : Mme Elisabeth MOCAER Institut de Recherches Internationales Servier
Mr Alain GARDIER Université Paris Sud XI



UNIVERSITÉ PARIS-SUD 11

ECOLE DOCTORALE :

INNOVATION THÉRAPEUTIQUE : DU FONDAMENTAL A L'APPLIQUÉ

PÔLE : PHARMACOLOGIE ET TOXICOLOGIE

DISCIPLINE :

Neuropharmacologie

ANNÉE 2010 - 2011

SÉRIE DOCTORAT N° 1102

THÈSE DE DOCTORAT

soutenue le 07/03/2011

par

Quentin RAINER

**Effets comportementaux et neurogéniques des
antidépresseurs dans un nouveau modèle
d'anxiété/dépression chez la Souris adulte**

Directeur de thèse : Mr Denis DAVID Université Paris Sud XI

Composition du jury :

Président du jury : Mr Pierre-Marie LLEDO Institut Pasteur

Rapporteurs : Mme Florence NOBLE Université Paris Descartes
Mr Etienne SIBILLE Université de Pittsburgh

Examineurs : Mme Elisabeth MOCAER Institut de Recherches Internationales Servier
Mr Alain GARDIER Université Paris Sud XI

Remerciements

Cette section a toujours été ma favorite dans les différentes thèses que j'ai pu lire. Je ne peux exprimer en quelques mots la reconnaissance que je dois aux personnes qui ont permis la réalisation de ces trois années de travaux, tant sur le plan professionnel que personnel.

*A Monsieur le Professeur **Alain Gardier**,*

Je vous remercie de m'avoir accueilli au sein de votre laboratoire de Neuropharmacologie EA3544 « Sérotonine et dépression » de la Faculté de Pharmacie de Paris XI. Votre expérience et vos conseils en période de doutes m'ont toujours été bénéfiques. Je vous suis reconnaissant de m'avoir offert l'opportunité de travailler dans les meilleures conditions et de participer à plusieurs congrès internationaux. Il n'est pas donné à tous les doctorants d'avoir cette chance. Merci d'avoir supporté mes multiples salutations journalières... Enfin, je vous remercie de participer à ce jury de thèse. Trouvez ici le témoignage de ma reconnaissance la plus sincère.

*A mon directeur de thèse, Monsieur le Docteur **Denis David**,*

Je vous adresse ma sincère et profonde reconnaissance pour m'avoir encadré et parfois supporté pendant ces 3 années. J'ai énormément appris à vos côtés que cela soit sur les tests comportementaux ou les techniques d'immunohistochimie ou les différentes voies d'administration d'une molécule chez l'animal. A vos côtés j'ai pu apprendre ce que la persévérance et l'organisation peuvent apporter. Merci d'avoir toujours été disponible pour moi malgré un emploi du temps chargé et de m'avoir entraîné toujours vers l'avant. Je me souviendrai de nos discussions sans fin sur la Touraine et la Vendée, mais aussi de nos olympiades épiques pendant les perfusions intracardiaques, toujours très intenses. En dépit de nos discussions parfois animées et nécessaires, ou de ma difficulté à respecter les dates limites, je tiens à vous adresser tout mon respect, ma reconnaissance, et mon amitié.

* * * *

*A Monsieur le Docteur **Bruno Guiard**,*

J'ai eu beaucoup de plaisir à te côtoyer, plus particulièrement pendant cette dernière année de thèse. Merci pour toutes ces discussions scientifiques dans la salle d'électrophysio, toujours très enrichissantes. Le projet que nous avons mené ensemble m'a permis d'acquérir de l'expérience dans le domaine de la microdialyse chronique intracérébrale dans la bonne humeur. Merci pour tous tes conseils, qu'ils soient du domaine professionnel ou personnel. Ta disponibilité et ton œil moqueur ont toujours été d'un grand réconfort dans les moments difficiles. Merci pour ton aide précieuse et tes connaissances qui m'ont permis d'obtenir un stage postdoctoral au Canada, « ça fait plaisir ! ». J'espère t'y revoir très prochainement ! Trouve dans ces quelques lignes toute ma reconnaissance et mon amitié.

*A Monsieur le Docteur **Jean-Philippe Guilloux**,*

Je tenais à te remercier pour nos discussions scientifiques et tes conseils sur l'élevage des animaux double mutants, ainsi que sur la technique de PCR. Merci également pour ta disponibilité et ta sympathie. Je garderai en mémoire notre guerre du polystyrène, parmi d'autres taquineries.. Tu vois, nos discussions autour de l'informatique et des Macs m'ont finalement convaincu ! Trouve ici le témoignage de ma reconnaissance et de mon amitié.

*A Monsieur le Professeur **François Coudoré**,*

Je vous remercie pour vos salutations matinales et nos discussions dans une atmosphère toujours détendue. Trouvez ici toute ma sympathie.

*A Madame le Docteur **Isabelle Seif**,*

Je vous remercie pour ces longues discussions scientifiques, parfois tardives, me poussant à réfléchir toujours un peu plus. Merci pour vos conseils sur les souris mutantes.

*A Monsieur le Professeur **Marc Pallardy**, Directeur de l'Ecole Doctorale,*

Je vous remercie de m'avoir accueilli au sein de l'école doctorale ED425 de la Faculté de Pharmacie de Châtenay-Malabry.

* * * *

A mesdames et messieurs les membres du jury,

*Je remercie Madame le Docteur **Florence Noble**, Directeur de Recherche (UMR7157/U705) à l'Université Paris-Descartes ainsi que Monsieur le Docteur **Etienne Sibille**, Associate Professor à l'Université de Pittsburgh, de m'avoir fait l'honneur de passer du temps dans l'évaluation de mon travail de thèse en qualité de rapporteurs. Merci pour vos remarques pertinentes afin d'améliorer ce manuscrit de thèse.*

*Je remercie Madame le Docteur **Elisabeth Mocaër** (IRIS), pour son expertise sur l'agomélatine, et de me faire l'honneur de siéger à ce jury de thèse.*

*Je remercie Monsieur le Docteur **Pierre-Marie Lledo**, Directeur de Recherche (URA2182) à l'Institut Pasteur, pour son expertise sur les mécanismes de neurogenèse, et de me faire l'honneur de siéger à ce jury de thèse.*

* * * *

Aux chercheurs et docteurs avec lesquels j'ai pu collaborer,

*Je remercie l'équipe du Professeur **René Hen** à l'Université Columbia (New York) pour cette collaboration fructueuse à laquelle j'ai eu la chance de participer sous la tutelle de mon directeur de thèse.*

*Je remercie les Drs **Elisabeth Mocaër** et **Cecilia Gabriel** de l'Institut de Recherches Internationales Servier dans la réalisation de notre collaboration, pour leurs conseils et leurs commentaires pertinents, qui ont conduit à ma première publication en tant que premier auteur.*

* * * *

A Christelle Repérant,

Je te remercie pour ton aide pendant les manip épiques avec Denis. Ton arbitrage a toujours été indispensable. Merci également d'être toujours à l'écoute. Trouve ici le témoignage de ma reconnaissance et ma sympathie.

A Thanh Hai Ngyuen,

« Monsieur le Président », je te remercie pour ta bonne humeur quotidienne et ton aide et expérience sur la technique de microdialyse intracérébrale. Notre salut militaire chaque matin m'a toujours fait sourire. Je te souhaite de finir rapidement ta thèse pour revoir ta femme et la petite Vy. Trouve ici le témoignage de mon amitié.

A Lin Xia,

Je te remercie pour ton travail sur le génotypage des souris double mutantes, et de faire ainsi avancer le backcross. Merci d'avoir tenté de m'apprendre quelques mots de chinois pendant le congrès à Chicago et pour ta bonne humeur. Trouve ici le témoignage de mon amitié.

A Guillaume Hache,

Je te remercie d'avoir partagé le bureau avec moi. Notre course pour l'agrafeuse dans un premier temps et les périodes de « craquages » m'ont toujours fait du bien. Merci de m'avoir supporté pendant tous ces mois, je sais que ça n'a pas du être simple. En bon camarade de consommation abusive de caféine je te souhaite toute la réussite nécessaire pour terminer ton travail de thèse « go ninja go ! ». Trouve ici le témoignage de mon amitié.

A Sophie Orvoën,

Je te remercie de m'avoir fait sortir de ma tanière quelques fois, pour me faire découvrir un peu plus Paris. Je te souhaite bon courage pour la suite de ton travail en thèse. Trouve ici le témoignage de mon amitié.

A Gaël Quesseveur,

Je te remercie pour ton travail sur l'HPLC et d'être resté parfois tard pour passer les échantillons de dialyse. J'ai eu beaucoup de plaisir à t'encadrer pendant ton master. Merci pour ta disponibilité et d'être toujours prêt à aider les autres. « Papy », je te souhaite toute la réussite possible dans cette nouvelle aventure en thèse. Trouve ici le témoignage de mon amitié.

A Indira David,

Je te remercie pour ta bonne humeur contagieuse et ta gentillesse. Nous nous serons croisés au laboratoire mais cette manip d'immuno restera un très bon souvenir. Je te souhaite toute la réussite nécessaire dans ce nouveau travail de thèse. Trouve ici le témoignage de mon amitié.

A Juliane Zemdegs,

Je te remercie pour ta gentillesse et tes conseils. Merci de m'avoir tenu compagnie au laboratoire pendant l'été dernier. J'ai pu apprécier ta persévérance et ta passion pour la science autour d'un « petit café ». Merci de nous avoir fait partager ta culture brésilienne. Je te souhaite toute la réussite possible dans ton travail de thèse. Trouve ici le témoignage de mon amitié sincère.

A Madame le Professeur Catherine Belzung,

Je te remercie de m'avoir donné ma chance lorsque j'étais un jeune étudiant en Master à Tours. Ta confiance et ta gentillesse m'ont permis d'accéder à ce travail de thèse. Trouve ici le témoignage de ma reconnaissance et de mon amitié.

A Monsieur le Docteur Alexandre Surget,

Je te remercie pour le temps que tu m'as consacré pendant ton doctorat, de m'avoir encadré en répondant toujours à mes questions pendant mes stages de Master. J'ai essayé au cours de ma thèse, de donner autant d'intérêt à la Recherche aux stagiaires que j'ai pu encadrer, que celui que tu m'avais transmis. Bon courage en Suède !

A Yannick Le Dantec,

Nous nous serons croisé, mais je tenais à te souhaiter bon courage pour ton Master et la suite de tes projets.

A Louise Huchard et Nicole Périchou,

Je vous remercie pour votre gentillesse et les petites discussions au détour d'un couloir qui m'ont toujours fait du bien. Trouvez ici le témoignage de ma reconnaissance.

*Aux étudiants stagiaires que j'ai eu le plaisir d'encadrer, **Alexianne, Erika, Zeiha, Abel,***

Je vous remercie pour votre travail et votre aide pendant ce travail de thèse. Je vous souhaite toute la réussite nécessaire dans vos études.

Au personnel de la plateforme Animalerie,

*Je remercie particulièrement **Valérie, Ayma, Pauline et Yannick** pour leur gentillesse et leur travail au sein de l'animalerie. Merci d'avoir toujours pris du temps pour prendre de mes nouvelles et m'avertir en cas de problème. Trouvez ici le témoignage de ma reconnaissance.*

*Aux doctorant(e)s de **l'Association des Doctorants en Innovation Thérapeutique (ADIT),***

Je vous remercie pour votre soutien et votre convivialité. Nous avons partagé l'organisation des Journées de l'Ecole Doctorale dans la bonne humeur, tout en échangeant nos points de vue sur la vie en thèse. Bon courage pour cette année !

* * * *

*A ma mère **Catherine**,*

Je te remercie d'avoir toujours respecté mes choix en me soutenant sans retenue. Quand à 7 ans je t'ai dit que je voulais être biologiste, tu as tout fait pour que je suive ma voie. Je ne peux te dire à quel point je suis fier et chanceux de t'avoir pour mère. Je t'aime maman.

A ma grand-mère,

Je te remercie d'avoir toujours pris de mes nouvelles, pour tes petits mots qui m'ont soutenu pendant toutes ces années « sans vouloir me déranger ». Merci d'être une super-Mamy =)

*A ma tante **Caroline**,*

Je te remercie pour ton écoute, ton dévouement et ta gentillesse sans égale. Ton soutien et tes conseils m'ont toujours redonné du courage pendant mes années à Paris. Merci pour tes tentatives de me transmettre les arts culinaires. Il me faudra sûrement autant d'années de pratique que d'années de doctorat pour arriver à faire mieux que des pâtes !

*A mon oncle **Marcos**,*

Je te remercie pour ta gentillesse et toutes nos discussions quelqu'en soit le sujet. J'ai toujours beaucoup appris à tes côtés. Merci pour le soutien et les conseils que tu m'as prodigué.

*A mes cousines et cousin, **Sarah, Rachel** et **Nathan**,*

Je vous remercie pour votre gentillesse et votre joie de vivre. Nos réunions de famille ont toujours été pour moi de grands moments de bonheur et de partage. Bon courage à tous pour vos projets respectifs.

A Norbert,

Je te remercie de m'avoir accueilli à bras ouverts certains week-end à Bordeaux. J'ai toujours pu y reprendre des forces. Je te remercie pour ta gentillesse.

*A mes amis de (longues) dates, **Titi et Alex, Flo et Sabine, JuJu et Céline, Glen et Marthe, Valou, Virginie, et Tristan, François, Mathy, Didine, Céline, Raph, Julie, Julien, Bamby...** Merci pour votre fidélité sans faille durant ces années de thèse, présents en toutes circonstances, vous inquiétant parfois de ma santé (mentale) et de l'avancée de mes travaux. A très vite !*

* * * *

Publications

DAVID DJ, SAMUELS BA, **RAINER Q**, WANG JW, MARSTELLER D, MENDEZ I, DREW M, CRAIG DA, GUIARD BP, GUILLOUX JP, ARTYMYSHYN RP, GARDIER AM, GERALD C, ANTONIJEVIC IA, LEONARDO ED, HEN R. Neurogenesis-dependent and -independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. *Neuron* 2009, 62: 479-493. **ARTICLE 1.**

DAVID DJ, WANG JW, SAMUELS BA, **RAINER Q**, DAVID I, GARDIER AM, HEN R. Implications of the functional integration of adult-born hippocampal neurons in anxiety-depression disorders. *The Neuroscientist* 2010,16: 578-591.

RAINER Q, XIA L, GUILLOUX JP, GABRIEL C, MOCAER E, HEN R, ENHAMRE E, GARDIER AM, DAVID DJ. Beneficial behavioral and neurogenic effects of agomelatine in a model of anxiety/depression in mice. *The International Journal of Neuropsychopharmacology* 2011, XX (Accepté). **Article 2.**

GUILLOUX JP, DAVID DJ, XIA L, NGUYEN HT, **RAINER Q**, GUIARD BP, REPERANT C, DELTHEIL T, TOTH M, HEN R, GARDIER AM. Characterization of 5-HT_{1A/1B} -/- mice; a new animal model sensitive to anxiolytic treatment. *Neuropharmacology*, XX (Accepté).

RAINER Q, NGUYEN TH, QUESSEVEUR G, GARDIER AM, DAVID DJ, GUIARD BP. Functional state of 5-HT_{1A} autoreceptors in mice exposed to chronic corticosterone and/or fluoxetine. (En préparation). **Article 3.**

SURGET A, TANTI A, LEONARDO ED, LAUGERAY A, **RAINER Q**, TOUMA C, PALME R, GRIEBEL G, IBARGUEN-VARGAS Y, HEN R, BELZUNG C. Antidepressant recruit new neurons to improve stress response regulation. (Soumis).

TANTI A, **RAINER Q**, SURGET A, BELZUNG C. Differential regulation of neurogenesis along the septotemporal axis of the hippocampus. (Soumis).

AUTRE PUBLICATION

RAINER Q, GARDIER AM, HEN R, DAVID DJ. Neurogenesis-dependent and -independent effects of antidepressant drugs. *Medecine / Science* 2009, 25, 795-798.

Communications affichées

RAINER Q, GUILLOUX JP, GARDIER AM, TOTH M, HEN R, DAVID DJ. Effects of 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors disruption on adult hippocampal neurogenesis in mouse. **38th Annual Meeting Soc. Neurosci** 2008, Washington.

GARDIER AM, NICOLAS L, DELTHEIL T, AUREGAN G, **RAINER Q**, HANTRAYE P, DEGLON N, DAVID DJ. Neurochemical and behavioural consequences of lentiviral-mediated gene delivery of BDNF in dorsal hippocampus in mouse. **38th Annual Meeting Soc. Neurosci** 2008, Washington.

RAINER Q, GUILLOUX JP, GARDIER AM, TOTH M, HEN R, DAVID DJ (2009) Effects of 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors disruption on adult hippocampal neurogenesis in mouse. **39th Annual Meeting Soc. Neurosci**, Chicago.

DAVID DJ, SAMUELS BA, **RAINER Q**, ARTYMYSHYN RP, GARDIER AM, GERALD CP, ANTONIJEVIC IA, HEN R. Role of hippocampal adult neurogenesis in an animal model of altered HPA axis responsive to chronic antidepressants. **39th Annual Meeting Soc. Neurosci** 2009, Chicago.

RAINER Q, GABRIEL C, MOCAER E, XIA L, HEN R, ENHAMRE E, GUILLOUX JP, GARDIER AM, DAVID DJ (2010) Beneficial effects of chronic treatment with agomelatine on the anxiety- and depression-like state induced by corticosterone in C57BL/6Ntac mice. **18th Annual Meeting Europ. Cong. of Psych** 2010, Munich.

GUIARD BP, NGUYEN TH, XIA L, **RAINER Q**, DAVID DJ, GUILLOUX JP, GARDIER AM (2010) Evidence of the involvement of 5-HT₂ receptor on SSRI-induced inhibition of dorsal Raphe 5-HT neurons firing rate in double 5-HT_{1A/1B} receptor knockout mice. **27th Annual Meeting of International College of Neuro-Psychopharmacology** 2010, Hong-Kong.

RAINER Q, GUIARD BP, XIA L, DAVID DJ, GARDIER AM, GUILLOUX JP. Impact of serotonin _{1A/1B} receptor null mutation on physiology and behavior associated with serotonergic pathway function. **10th Annual Meeting Serotonin Club** 2010, Montréal.

RAINER Q, GABRIEL C, MOCAER E, XIA L, HEN R, ENHAMRE E, GUILLOUX JP, GARDIER AM, DAVID DJ. Beneficial effects of chronic treatment with agomelatine (S20098) on behaviour and adult hippocampal neurogenesis in a new model of anxiety/depression in mice. **40th Annual Meeting Soc. Neurosci** 2010, San Diego.

Sommaire

| | |
|--------------------------------|----|
| Remerciements | 5 |
| Publications | 13 |
| Communications affichées | 14 |
| Sommaire | 15 |
| Abréviations | 20 |
| Index des figures | 21 |
| Index des tableaux | 22 |
| Résumé | 24 |
| Préambule | 26 |

INTRODUCTION

| | |
|--|-----------|
| I. LE SYSTEME SEROTONINERGIQUE DANS LA DEPRESSION MAJEURE | 33 |
| A. LA DEPRESSION MAJEURE | 33 |
| B. HYPOTHESE NEUROBIOLOGIQUE DE LA DEPRESSION | 35 |
| 1. <i>Implication des facteurs génétiques et de l'environnement</i> | 35 |
| 2. <i>Altérations des systèmes monoaminergiques</i> | 36 |
| 3. <i>Dysfonctionnement de la réponse au stress et de l'axe HPA</i> | 39 |
| 4. <i>Altérations de la plasticité neuronale</i> | 39 |
| C. LES TRAITEMENTS DES TROUBLES DE L'HUMEUR | 41 |
| 1. <i>Classification des antidépresseurs</i> | 41 |
| 2. <i>Mécanismes d'action</i> | 43 |
| 3. <i>Cas d'un nouvel antidépresseur, l'Agomelatine</i> | 44 |
| D. LE SYSTEME SEROTONINERGIQUE | 46 |
| 1. <i>La sérotonine : synthèse, libération, inactivation et rôle physiologique</i> | 46 |
| 2. <i>Les récepteurs de la sérotonine : classification et implication</i> | 48 |
| a. Les récepteurs 5-HT _{1A} | 52 |
| 1) Distribution | 53 |
| 2) Couplage et propriétés électrophysiologiques des récepteurs 5-HT _{1A} | 54 |
| 3) Dichotomie des récepteurs 5-HT _{1A} pré- et post-synaptiques | 56 |
| 4) Les récepteurs 5-HT _{1A} et les troubles anxio/dépressifs | 56 |
| a) Etudes chez le patient déprimé | 56 |
| b) Outils génétiques | 57 |
| c) Traitements antidépresseurs | 58 |
| d) Polymorphisme du récepteur 5-HT _{1A} | 59 |
| b. Les récepteurs 5-HT _{1B} | 59 |
| 1) Distribution | 60 |
| 2) Couplage des récepteurs 5-HT _{1B} | 60 |
| 3) Dichotomie des récepteurs 5-HT _{1B} pré- et post-synaptiques | 61 |
| 4) Les récepteurs 5-HT _{1B} et les troubles anxio-dépressifs | 62 |
| a) Récepteurs 5-HT _{1B} et anxiété | 62 |
| b) Outils génétiques | 62 |
| c) Traitements antidépresseurs | 62 |
| d) Polymorphisme du récepteur 5-HT _{1B} | 64 |
| c. Les récepteurs 5-HT _{2C} | 64 |
| 1) Distribution | 65 |
| 2) Couplage du récepteur 5-HT _{2C} | 65 |
| 3) Les récepteurs 5-HT _{2C} dans les troubles anxio/dépressifs | 65 |
| a) Le récepteur 5-HT _{2C} et l'anxiété/dépression | 65 |
| b) Outils génétiques | 66 |
| c) Traitements antidépresseurs | 66 |
| d) Variations génétiques du récepteur 5-HT _{2C} | 67 |
| 3. <i>Le transport de la sérotonine</i> | 69 |
| a. Structure et fonctionnement du transporteur de la sérotonine | 69 |

| | | |
|-------------|--|------------|
| b. | Distribution dans le système nerveux central | 70 |
| c. | Pharmacologie du transporteur de la sérotonine | 70 |
| d. | Polymorphisme du SERT | 71 |
| II. | MODELISATION DE LA DEPRESSION CHEZ L'ANIMAL | 75 |
| A. | DEFINITION D'UN MODELE ANIMAL DE DEPRESSION | 75 |
| B. | MODELE DE COMPORTEMENTS INDUITS PAR DES SUBSTANCES PHARMACOLOGIQUES | 76 |
| C. | LES MODELES ANIMAUX DE LA DEPRESSION | 77 |
| 1. | <i>Les modèles fondés sur le stress.....</i> | <i>77</i> |
| a. | Résignation apprise..... | 77 |
| b. | Stress chronique modéré imprédictible..... | 77 |
| 2. | <i>Modèles fondés sur les interactions sociales.....</i> | <i>79</i> |
| a. | Défaite sociale..... | 79 |
| b. | Modèle de séparation maternelle | 80 |
| 3. | <i>Modèle d'injections chroniques de corticostérone</i> | <i>81</i> |
| III. | L'AXE HYPOTHALAMO-HYPOPHYSO-SURRENALIEN | 91 |
| A. | PHYSIOLOGIE DE L'AXE HPA | 91 |
| a. | En condition basale..... | 91 |
| b. | L'axe HPA et la réponse au stress..... | 92 |
| B. | LES REGIONS CEREBRALES INTERAGISSANT AVEC L'AXE HPA..... | 94 |
| 1. | <i>L'hippocampe</i> | <i>94</i> |
| 2. | <i>L'amygdale</i> | <i>96</i> |
| 3. | <i>Hypothalamus.....</i> | <i>98</i> |
| 4. | <i>Noyaux du raphé.....</i> | <i>99</i> |
| C. | LES BASES MOLECULAIRES DE L'AXE HPA | 100 |
| 1. | <i>Les glucocorticoïdes.....</i> | <i>100</i> |
| 2. | <i>Les récepteurs aux glucocorticoïdes.....</i> | <i>102</i> |
| a. | Les minéralocorticoïdes | 104 |
| 1) | Généralités..... | 104 |
| 2) | Fonctions | 106 |
| b. | Les récepteurs aux glucocorticoïdes (GR)..... | 107 |
| 1) | Généralités..... | 107 |
| 2) | Fonctions | 108 |
| D. | LES FONCTIONS DE L'AXE HPA | 110 |
| 1. | <i>Régulation circadienne de l'axe HPA et l'implication des GC dans les rythmes circadiens</i> <i>110</i> | <i>110</i> |
| a. | Régulation circadienne de l'axe HPA | 110 |
| b. | Implication des GC dans la synchronisation des rythmes circadiens..... | 112 |
| 2. | <i>Stress, axe HPA et système immunitaire.....</i> | <i>112</i> |
| a. | Effet anti-inflammatoire des GC..... | 113 |
| b. | Effet inflammatoire des GC dans le SNC | 113 |
| 3. | <i>Stress, axe HPA et mémoire.....</i> | <i>115</i> |
| E. | IMPLICATION DE L'AXE HPA DANS LA DEPRESSION MAJEURE..... | 117 |
| 1. | <i>Interactions entre l'axe HPA, l'hippocampe, l'amygdale et le cortex préfrontal dans la</i> <i>dépression</i> | <i>117</i> |
| a. | L'hippocampe..... | 117 |
| b. | L'amygdale | 117 |
| c. | Le cortex préfrontal | 118 |
| 2. | <i>L'axe HPA dans la dépression.....</i> | <i>118</i> |
| a. | Implication du CRF dans la dépression majeure. | 119 |
| b. | Implication de la vasopressine dans la dépression majeure..... | 120 |
| c. | Implication des glucocorticoïdes dans la dépression majeure | 121 |
| 3) | Cas de la dépression atypique..... | 122 |
| IV. | LA NEUROGENESE ADULTE | 127 |
| A. | PRODUCTION DE NOUVEAUX NEURONES DANS LA ZSV | 127 |
| 1. | <i>La prolifération cellulaire.....</i> | <i>129</i> |
| 2. | <i>La migration cellulaire.....</i> | <i>129</i> |
| 3. | <i>La différenciation et l'intégration des nouveaux neurones.....</i> | <i>130</i> |

| | | |
|----|---|-----|
| a. | Les nouveaux neurones granulaires | 130 |
| b. | Les nouveaux neurones périglomérulaires | 130 |
| 4. | <i>Mort et survie des nouveaux neurones</i> | 131 |
| 5. | <i>Fonctionnalité des nouveaux neurones</i> | 131 |
| B. | PRODUCTION DE NOUVEAUX NEURONES DANS LA SGZ | 132 |
| 1. | <i>Niche neurogénique</i> | 133 |
| 2. | <i>Les stades cellulaires de la neurogenèse hippocampique</i> | 134 |
| a. | Le stade de cellule précurseur | 135 |
| b. | La première phase de survie | 136 |
| c. | Le stade de maturation post mitotique | 136 |
| d. | Le stade de maturation tardive | 137 |
| C. | REGULATION DE LA NEUROGENESE HIPPOCAMPIQUE | 138 |
| 1. | <i>Les neurotransmetteurs</i> | 138 |
| a. | Implication des systèmes monoaminergiques | 138 |
| 1) | Le système sérotoninergique | 138 |
| a) | La sérotonine | 138 |
| b) | Les récepteurs de la sérotonine | 138 |
| 2) | Le système noradrénergique | 140 |
| 3) | Le système dopaminergique | 141 |
| | <i>Molécules</i> | 143 |
| | <i>Manipulation</i> | 143 |
| | <i>N-(2-Chloroethyl)-N-ethyl-2-bromobenzylamine) (DSP-4)</i> | 143 |
| b. | Le système glutamatergique | 144 |
| c. | Le système GABAergique | 145 |
| 2. | <i>Les neurotrophines et facteurs de croissance</i> | 148 |
| a. | Le BDNF et son implication dans la neurogenèse | 148 |
| b. | Les facteurs de croissance | 149 |
| 3. | <i>Le stress et les glucocorticoïdes</i> | 150 |
| D. | LA NEUROGENESE ET LA DEPRESSION MAJEURE ET SES TRAITEMENTS | 154 |
| 1. | <i>Les états anxio/dépressifs et la neurogenèse hippocampique</i> | 154 |
| 2. | <i>Les antidépresseurs et la neurogenèse hippocampique adulte</i> | 156 |
| a. | En conditions physiologiques | 156 |
| 1) | Effets des antidépresseurs sur la prolifération et la survie cellulaire | 159 |
| 2) | Effets des antidépresseurs sur la maturation | 159 |
| 3) | Effets des antidépresseurs sur la différenciation | 160 |
| 4) | Influence de la souche chez la souris, dans l'effet des antidépresseurs sur la neurogenèse hippocampique adulte | 161 |
| b. | Effets neurogéniques dépendants et indépendants dans l'action des antidépresseurs | 161 |
| a) | En conditions physiologiques | 162 |
| b) | En conditions pathologiques | 162 |

TRAVAIL EXPERIMENTAL

| | | |
|-----|---|-----|
| I. | ETUDES COMPORTEMENTALES CHEZ LA SOURIS | 167 |
| A. | MESURES DE L'ACTIVITE DANS UN ENVIRONNEMENT FAMILIER | 167 |
| B. | TESTS PREDICTIFS D'UN PHENOTYPE OU D'UNE ACTIVITE DE TYPE ANXIOLYTIQUE | 168 |
| 1. | <i>Le test du champ ouvert ou test de l'« open field »</i> | 168 |
| 2. | <i>Le labyrinthe en croix surélevée</i> | 169 |
| 3. | <i>Le test d'alimentation supprimée par la nouveauté ou « novelty suppressed feeding »</i> .. | 169 |
| C. | TESTS PREDICTIFS D'UN PHENOTYPE OU D'UNE ACTIVITE DE TYPE ANTIDEPRESSIVE | 170 |
| 1. | <i>Index d'état dépressif : quantification de l'état du pelage</i> | 170 |
| 2. | <i>Le splash test</i> | 171 |
| 3. | <i>Cas particuliers</i> | 171 |
| a. | Le test de la nage forcée ou test de Porsolt | 172 |
| b. | Le test de la suspension par la queue | 173 |
| II. | ETUDES DE LA NEUROGENESE HIPPOCAMPIQUE CHEZ LA SOURIS ADULTE | 173 |
| A. | PREPARATION DES TISSUS | 173 |

| | |
|--|------------|
| 1. Perfusion intra cardiaque | 173 |
| 2. Préparation des cerveaux | 174 |
| B. PROLIFERATION ET SURVIE DES CELLULES PROGENITRICES..... | 175 |
| C. ETUDE DE LA MATURATION NEURONALE | 176 |
| III. ETUDES NEUROCHIMIQUES PAR MICRODIALYSE INTRACEREBRALE <i>IN VIVO</i> CHEZ LA SOURIS EVEILLEE, LIBRE DE SES MOUVEMENTS..... | 177 |
| A. CHIRURGIE | 177 |
| B. MICRODIALYSE | 180 |
| C. DOSAGE DE LA SEROTONINE PAR CHROMATOGRAPHIE LIQUIDE A HAUTE PERFORMANCE | 181 |
| IV. ETUDES DU STATUT FONCTIONNEL DES NEURONES SEROTONINERGIQUES..... | 183 |
| A. TEST DE L'HYPOTHERMIE INDUITE PAR UNE INJECTION DE 8-OH-DPAT | 183 |
| B. ELECTROPHYSIOLOGIE CHEZ LA SOURIS ANESTHESIEE..... | 184 |
| V. GENOTYPAGE DES SOURIS MUTANTES..... | 184 |
| A. DIGESTION DES QUEUES..... | 184 |
| B. PURIFICATION DE L'ADN | 184 |
| C. AMPLIFICATION PAR « POLYMERASE CHAIN REACTION »..... | 185 |
| D. ELECTROPHORESE | 186 |

RESULTATS EXPERIMENTAUX

| | |
|---|------------|
| ARTICLE 1..... | 189 |
| Effets neurogène dépendants et indépendants de la fluoxétine dans un modèle animal d'anxiété/dépression David DJ, Samuels BA, Rainer Q, Wang JW, Marsteller D, Mendez I, Drew M, Craig DA, Guiard BP, Guilloux JP, Artymyshyn RP, Gardier AM, Gerald C, Antonijevic IA, Leonardo ED, Hen R..... | 189 |
| ARTICLE 2..... | 211 |
| Effets Bénéfiques Comportementaux et Neurogéniques de l'Agomélatine dans un Modèle d'Anxiété/Dépression Q Rainer, L Xia, JP Guilloux, C Gabriel, E. Mocaer, R Hen, E Enhamre, A.M Gardier, DJ David..... | 211 |
| ARTICLE 3..... | 239 |
| Statut Fonctionnel des Autorécepteurs Somatodendritiques 5-HT _{1A} après un Traitement Chronique à la Fluoxétine dans un Modèle Animal d'Anxiété/Dépression Rainer Q, Nguyen TH, Quesseveur G, Gardier AM, David DJ, Guiard BP..... | 239 |
| RESULTATS COMPLEMENTAIRES..... | 259 |
| Effets de la délétion des récepteurs 5-HT _{1A} et/ou 5-HT _{1B} sur la neurogénèse hippocampique chez la souris adulte..... | 259 |

DISCUSSION

| | |
|--|------------|
| DISCUSSION GENERALE..... | 271 |
| I. RAPPEL DES PRINCIPAUX RESULTATS OBTENUS | 271 |
| II. IMPORTANCE DES MODELES ANIMAUX D'ANXIETE/DEPRESSION QUANT AUX EFFETS NEUROGENIQUES DES ANTIDEPRESSEURS : IMPLICATION DES RECEPTEURS SEROTONINERGIQUES SUR LA NEUROGENESE HIPPOCAMPIQUE..... | 274 |
| A. APPORT D'UN NOUVEAU MODELE D'ANXIETE/DEPRESSION PAR RAPPORT AUX MODELES DEJA EXISTANT. | 274 |
| B. LES EFFETS NEUROGENIQUES DEPENDANTS DES ANTIDEPRESSEURS..... | 276 |
| C. IMPLICATION DE LA TRANSMISSION SEROTONINERGIQUE ET DE SES RECEPTEURS SUR LES 4 ETAPES DE LA NEUROGENESE HIPPOCAMPIQUE ADULTE. | 280 |
| Perspectives | 283 |
| Conclusion..... | 284 |

| | |
|---------------------|-----|
| BIBLIOGRAPHIE | 285 |
|---------------------|-----|

ANNEXES

| | |
|---|-----|
| Annexe 1 | 329 |
| Implications of the Functional Integration of Adult-Born Hippocampal Neurons in Anxiety-Depression Disorders | |
| Annexe 2 | 341 |
| Mécanismes des effets comportementaux de type anxiolytique/ antidépresseur de la fluoxétine(Prozac®) Implication de la neurogenèse hippocampique | |

Abréviations

5-HT : sérotonine

5-HT1A,1B,2C : récepteurs de la sérotonine 1A, 1B, 2C

5-HTT/SERT : transporteur de la sérotonine

ADN : acide désoxyribonucléique

ARN/ARNm : acide ribonucléique/acide ribonucléique messenger

ACTH : hormone adrénocorticotrope

AVP : vasopressine

BDNF : Brain derived neurotrophic factor

CA : corne d'Ammon

CMS : stress chronique modéré

CORT : corticostérone exogène

CRF-CRH : hormone corticotrope

DA : dopamine

DCX : doublecortine

DG : gyrus dentelé de l'hippocampe

EPM : elevated plus maze, labyrinthe en croix surélevée

FST : forced swim test, test de la nage forcée

GC : glucocorticoïdes

HPA : hypothalamo-hypophyso-surrénalien

IP : intrapéritonéale

ISRN : inhibiteur sélectif de recapture de la noradrénaline

ISRS : inhibiteur sélectif de recapture de la sérotonine

KO : Knock out

NA : noradrénaline

NSF : novelty suppressed feeding

OF : open field, test du champ ouvert

TPH : Tryptophane hydroxylase

TST : Tail suspension test, test de suspension caudale

Index des figures

| | |
|--|-----|
| FIGURE 1 - SCHEMA REPRESENTANT LES INTERRELATIONS ENTRE LES HYPOTHESES DE LA DEPRESSION ET LEUR ETUDE. | 28 |
| FIGURE 2 – REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES SYMPTOMES DE LA DEPRESSION. | 34 |
| FIGURE 3 – MODELE D’INTERACTIONS ENTRE GENES ET ENVIRONNEMENT DANS LE DEVELOPPEMENT D’UN EPISODE DEPRESSIF. | 36 |
| FIGURE 4 - L’HYPOTHESE MONOAMINERGIQUE DE LA DEPRESSION. | 38 |
| FIGURE 5 – REPRESENTATION SCHEMATIQUE DU MECANISME D’ACTION DE L’AGOMELATINE. | 45 |
| FIGURE 6 - VOIE DE BIOSYNTHESE ET D’INACTIVATION DE LA SEROTONINE. | 47 |
| FIGURE 7 - REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES DIFFERENTS RECEPTEURS A LA SEROTONINE, DE LEUR LOCALISATION CELLULAIRE AINSI QUE DE LEUR VOIE DE SIGNALISATION. | 52 |
| FIGURE 8 - RECEPTEUR 5-HT _{1A} ET VOIES DE TRANSDUCTIONS DU SIGNAL. | 55 |
| FIGURE 9 – MODELISATION DES EFFETS DES AUTORECEPTEURS 5-HT _{1A} DANS LES NOYAUX DU RAPHE. | 58 |
| FIGURE 10 – STRUCTURE ET EDITION DE L’ARN DU RECEPTEUR 5-HT _{2C} | 68 |
| FIGURE 11 - EFFET DE LA PRESENCE DE L’ALLELE DE VULNERABILITE S DU SERT. | 71 |
| FIGURE 12 - FONCTIONNEMENT DE L’AXE HYPOTHALAMO-HYPOPHYSO-SURRENALIEN. | 92 |
| FIGURE 13 – REPRESENTATION DU RESEAU DE L’HIPPOCAMPE. | 95 |
| FIGURE 14 – REPRESENTATION DU RESEAU DE L’AMYGDALE, VOIES AFFERENTES ET EFFERENTES. | 97 |
| FIGURE 15 - SCHEMA REPRESENTANT LES VOIES DE REGULATION DE LA SIGNALISATION DES GC. | 102 |
| FIGURE 16 – SCHEMA DES RECEPTEURS AUX GC DITS MEMBRANAIRES. | 104 |
| FIGURE 17 - SCHEMA REPRESENTANT LA REPARTITION DES RECEPTEURS GR ET MR DANS LES CERVEAU DE RONGEUR. | 105 |
| FIGURE 18 - SCHEMA REPRESENTANT LES ACTIONS DES RECEPTEURS GR. | 108 |
| FIGURE 19 - SCHEMA REPRESENTANT LA HIERARCHIE DE LA REGULATION DU RYTHME CIRCADIEN. | 111 |
| FIGURE 20 – COUPE SAGITTALE SCHEMATIQUE D’UN CERVEAU DE RONGEUR INDIQUANT LES ETAPES DE LA NEUROGENESE DANS LA ZONE SUBVENTRICULAIRE. | 128 |
| FIGURE 21- ETAPES DE LA VIE D’UN NOUVEAU NEURONE DANS LA ZONE SUBGRANULAIRE DU GYRUS DENTELE DE L’HIPPOCAMPE. | 133 |
| FIGURE 22 – REPRESENTATION SCHEMATIQUE DES STADES CELLULAIRES DE LA NEUROGENESE ADULTE DANS L’HIPPOCAMPE. | 135 |
| FIGURE 23 - INTEGRATION SYNAPTIQUE DES NOUVELLES CELLULES DANS LE GYRUS DENTELE DE L’HIPPOCAMPE ADULTE DE SOURIS. | 145 |
| FIGURE 24 - IMPLICATION LA TRANSMISSION GABAERGIQUE DANS LE MECANISME D’ACTION DES ANTIDEPRESSEURS DANS LES NEURONES IMMATURES DU GYRUS DENTELE. | 147 |
| FIGURE 25 – DISPOSITIF D’ACQUISITION DE L’ACTIVITE DANS LA CAGE DE VIE CHEZ LA SOURIS. | 167 |
| FIGURE 26 - TEST DE CHAMP OUVERT CHEZ LA SOURIS. | 168 |
| FIGURE 27 – TEST DU LABYRINTHE EN CROIX SURELEVEE. | 169 |
| FIGURE 28 - TEST DU NOVELTY SUPPRESSED FEEDING. | 170 |
| FIGURE 29- DEGRADATION DE L’ETAT DU PELAGE. | 171 |
| FIGURE 30 – DISPOSITIF D’ENREGISTREMENT DU TEST DE LA NAGE FORCEE CHEZ LA SOURIS. | 172 |
| FIGURE 31 – DISPOSITIF D’ENREGISTREMENT DU TEST DE SUSPENSION PAR LA QUEUE. | 173 |
| FIGURE 32 – SECTION CORONALE DE L’HIPPOCAMPE CHEZ LA SOURIS ADULTE. | 175 |
| FIGURE 33 – CATEGORIE DES JEUNES NEURONES EXPRIMANT LA DOUBLECORTINE. | 177 |
| FIGURE 34 - DESCRIPTION DES REPERES ANATOMIQUES NECESSAIRES A L’IMPLANTATION CORRECTE DES SONDES DE MICRODIALYSE. | 178 |
| FIGURE 35- COUPES CORONALES DE L’ATLAS STEREOTAXIQUE DE SOURIS CORRESPONDANT AUX DIFFERENTES REGIONS SEROTONINERGIQUES IMPLANTEES AVEC UNE SONDE DE MICRODIALYSE. | 179 |
| FIGURE 36 - SCHEMA REPRESENTANT UNE EXPERIENCE DE MICRODIALYSE INTRACEREBRALE IN VIVO. | 180 |
| FIGURE 37 - SUPERPOSITION DE DEUX CHROMATOGRAMMES. | 183 |
| FIGURE 38 - GENOTYPAGE DES SOURIS 5-HT _{1A} -/-, 5-HT _{1B} -/- ET 5-HT _{1A/1B} -/- | 186 |
| FIGURE 39 - SCHEMA REPRESENTANT LE COMPORTEMENT POSSIBLE DES CELLULES SOUCHES DU GYRUS DENTELE DE L’HIPPOCAMPE EN FONCTION DES CONDITIONS EXPERIMENTALES. | 278 |
| FIGURE 40 – LA FLUOXETINE AGIT SUR LA VOIE DES B -ARRESTINE, CONDUISANT VERS DES EFFETS COMPORTEMENTAUX DEPENDANTS OU NON DE LA NEUROGENESE HIPPOCAMPIQUE. | 280 |

Index des tableaux

| | |
|--|-----|
| TABEAU 1 - EXEMPLES D'ANTIDEPRESSEURS AVEC LEUR FORMULE CHIMIQUE | 43 |
| TABEAU 2 – CLASSIFICATION DES RECEPTEURS 5-HT ₁ | 50 |
| TABEAU 3 – CLASSIFICATION DES RECEPTEURS 5-HT _{2, 3} ET 4..... | 50 |
| TABEAU 4 – CLASSIFICATION DES RECEPTEURS 5-HT _{5, 6} ET 7..... | 51 |
| TABEAU 5 – DIFFERENTES APPROCHES DANS LA CONSTRUCTION D'UN MODELE ANIMAL EN NEUROPSYCHIATRIE..... | 75 |
| TABEAU 6 – EFFETS COMPORTEMENTAUX ET NEUROENDOCRINIENS DE DIFFERENTS MODELES DE STRESS SOCIAUX..... | 79 |
| TABEAU 7 – SIMILARITES DES CONSEQUENCES ENTRE L'ADMINISTRATION DE CORT ET LES MANIFESTATIONS HUMAINES DE LA DEPRESSION. | 84 |
| TABEAU 8 – CONSEQUENCE DE LA MODULATION DES SYSTEMES MONOAMINERGIQUES SUR LA NEUROGENESE HIPPOCAMPIQUE ADULTE..... | 143 |
| TABEAU 9 – PRINCIPAUX FACTEURS DE CROISSANCES NEUROTROPHIQUES ET LEURS EFFETS SUR LA NEUROGENESE HIPPOCAMPIQUE. | 148 |
| TABEAU 10 – EFFET DE DIFFERENTS MODELES DE STRESS SUR LES ETAPES DE LA NEUROGENESE HIPPOCAMPIQUE ADULTE. | 152 |
| TABEAU 11 – PRINCIPAUX EFFETS D'UN TRAITEMENT ANTIDEPRESSEURS SUR LA NEUROGENESE HIPPOCAMPIQUE CHEZ LE RONGEUR. | 158 |
| TABEAU 12 - COORDONNEES STEREOTAXIQUES DES REGIONS SEROTONINERGIQUES CENTRALES ETUDIEES CHEZ LA SOURIS. | 179 |
| TABEAU 13 - COMPOSITION DU LIQUIDE CEPHALO-RACHIDIEN DE SYNTHESE..... | 181 |
| TABEAU 14 - COMPOSITION DE LA PHASE MOBILE PERMETTANT LE DOSAGE DE LA SEROTONINE PAR CHLP. | 182 |
| TABEAU 15 - DESCRIPTIF DES AMORCES UTILISEES EN PCR POUR LE GENOTYPAGE DES SOURIS MUTEES. | 185 |
| TABEAU 16 – EFFETS DES TRAITEMENTS ANTIDEPRESSEURS SUR LES ALTERATIONS COMPORTEMENTALES ET NEUROGENIQUES INDUITES PAR UNE ADMINISTRATION CHRONIQUE DE CORTICOSTERONE..... | 276 |
| TABEAU 17 – COMPARAISON DES ETUDES EVOQUANT LE ROLE DES RECEPTEURS 5-HT _{2C} SUR LA PROLIFERATION CELLULAIRE DANS L'HIPPOCAMPE DE RONGEURS ADULTES..... | 281 |

Résumé

Les pathologies dépressives se caractérisent par des symptômes hétérogènes impliquant de nombreuses régions cérébrales. L'une d'entre elles, l'hippocampe, est le siège d'un processus physiologique, appelé neurogenèse, qui, chez l'adulte, serait impliqué dans l'étiologie de la dépression et la réponse au traitement antidépresseur. L'objectif de ce travail a été d'étudier le rôle des 4 étapes du processus de neurogenèse hippocampique dans l'action des antidépresseurs dans un modèle physiopathologique de la dépression, chez la Souris adulte.

Nous avons modélisé chez la souris un état anxio-dépressif induit par l'administration chronique de corticostérone (modèle CORT). Ce traitement provoque diverses altérations cellulaires, moléculaires, neurochimiques et comportementales chez la Souris. Ce modèle est pertinent puisque ces altérations sont presque toutes corrigées par un traitement chronique avec un inhibiteur sélectif de recapture de la sérotonine (ISRS), la fluoxétine, ou un agoniste des récepteurs mélatoninergique/antagoniste des récepteurs 5-HT_{2C} de la sérotonine, l'agomélatine. De plus, ce modèle a permis de dessiner un nouveau concept, en montrant que les effets de types anxiolytiques/antidépresseurs d'un seul et même médicament, la fluoxétine, s'expliquent à la fois par des mécanismes neurogenèse-dépendants et indépendants. Ainsi, la neurogenèse hippocampique adulte est nécessaire, mais pas suffisante pour expliquer tous les effets comportementaux d'un traitement antidépresseur chronique. Nous avons ensuite poursuivi la caractérisation du modèle CORT en nous intéressant au phénotype neurochimique des animaux traités par de la corticostérone. Nous avons pu établir que l'augmentation de la transmission sérotoninergique centrale induite par la fluoxétine, est potentialisée dans le modèle CORT, grâce à une plus forte désensibilisation des autorécepteurs 5-HT_{1A}. Enfin, par leur rôle sur la régulation de la transmission sérotoninergique, l'étude de la contribution des récepteurs 5-HT_{1A} et 5-HT_{1B} sur le processus de neurogenèse hippocampique chez la Souris adulte montre que l'activation du récepteur 5-HT_{1B} limite la prolifération cellulaire dans le gyrus dentelé de l'hippocampe, et que la double délétion des récepteurs 5-HT_{1A} et 5-HT_{1B} favorise une accélération de la maturation dendritique des jeunes neurones.

L'ensemble de nos travaux fait ressortir l'importance primordiale de l'utilisation d'un modèle animal d'anxiété/dépression dans la compréhension des mécanismes physiopathologiques des troubles anxio/dépressifs et de la réponse médicamenteuse. Il ressort

aussi que les effets comportementaux des antidépresseurs ne peuvent se réduire à une seule région cérébrale ou un seul récepteur.

Préambule

Chez l'animal de laboratoire, les monoamines (sérotonine, noradrénaline et dopamine) sont des neurotransmetteurs impliqués dans la régulation des émotions. Depuis une quarantaine d'années, on sait que les antidépresseurs actuellement disponibles sur le marché, exercent leur activité thérapeutique en augmentant la neurotransmission monoaminergique. Ceci a permis de proposer l'hypothèse monoaminergique de la dépression : la dépression serait liée à un déficit en monoamines et les antidépresseurs viendraient combler ce déficit en augmentant les concentrations intra-synaptiques de monoamines en bloquant de façon sélective le transporteur de la sérotonine (5-HT) et/ou de la noradrénaline (NA). Pourtant peu d'arguments cliniques sont venus étayer cette théorie, en partie parce que le dosage des neurotransmetteurs dans le cerveau de sujets dépressifs est effectué *post mortem* (Delgado et al., 1990).

Les Inhibiteurs Sélectifs de la Recapture de Sérotonine ou « IRSS » font partis des traitements les plus utilisés en Psychiatrie pour lutter contre les troubles de l'humeur avec, comme chefs de file en France, le Prozac® (fluoxétine) et le Deroxat® (paroxétine). Comme leur nom l'indique, l'activité des ISRS consiste à bloquer de façon sélective la recapture de la sérotonine (5-HT) par les neurones sérotoninergiques centraux entraînant ainsi une augmentation de sa concentration extracellulaire, dans la fente synaptique. Les ISRS ont une efficacité démontrée dans les troubles de l'humeur mais ils présentent un certain nombre d'inconvénients, notamment le fait qu'un tiers des patients soit résistant au traitement, et qu'un long délai d'action (2 à 4 semaines) est nécessaire pour que les symptômes de la maladie commencent à être corrigés. Ce dernier point est préoccupant car le risque de suicide des patients est élevé, entre le début du traitement et l'apparition des premiers effets thérapeutiques.

Ces dernières années ont été marquées par une recherche active des mécanismes plus lents, correspondant à l'apparition des effets thérapeutiques des antidépresseurs. Ainsi, l'étude de la neurogenèse hippocampique fait actuellement l'objet d'une attention particulière. Elle est maintenant très étudiée dans les modèles animaux génétiques, pharmacologiques et socio-environnementaux de la dépression, et a pris une place centrale dans l'étude des antidépresseurs déjà sur le marché, ou en développement.

Dans la première partie de cette revue bibliographique, nous allons voir que la première hypothèse concernant la dépression est toujours d'actualité à la vue des implications

de la sérotonine et des ces récepteurs dans les troubles associés à la dépression et dans l'action des antidépresseurs. Seront abordés plus en détails les récepteurs 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} et 5-HT_{2C} et le transporteur de la sérotonine, qui possèdent un rôle central dans ces mécanismes.

En Psychiatrie, la nécessité de développer des modèles animaux pertinents pour l'étude des mécanismes qui sous-tendent la dépression est devenue indispensable. Dans une seconde partie seront développés les divers modèles animaux comportementaux ou pharmacologiques les plus utilisés dans la modélisation de la pathologie. Bien qu'il n'existe pas à l'heure actuelle de modèle parfait de la pathologie, certains modèles ont permis de révéler des mécanismes essentiels dans la compréhension de l'étiologie de la dépression.

Les observations cliniques ont permis d'isoler un axe majeur dans la réponse au stress. Dans une troisième partie nous étudierons les fonctions de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (axe HPA), qui est le sujet de nombreux travaux. Son dysfonctionnement est très étroitement lié à la pathologie chez les patients, et est devenu naturellement un point majeur dans l'étude des troubles de l'humeur.

L'identification de nouvelles pistes cellulaires aux cours des dernières années, a pu mettre au devant de la scène un mécanisme cellulaire de production de nouvelles cellules dans le cerveau. La production de nouveaux neurones dans l'hippocampe chez les mammifères adultes s'est retrouvée au centre de nombreux débats depuis que les effets antidépresseurs engendrent une augmentation de ce phénomène, en conditions pathologiques.

L'ensemble de ces considérations autour des hypothèses de la dépression nous a conduit à étudier ces hypothèses et leurs interactions dans les effets des antidépresseurs.

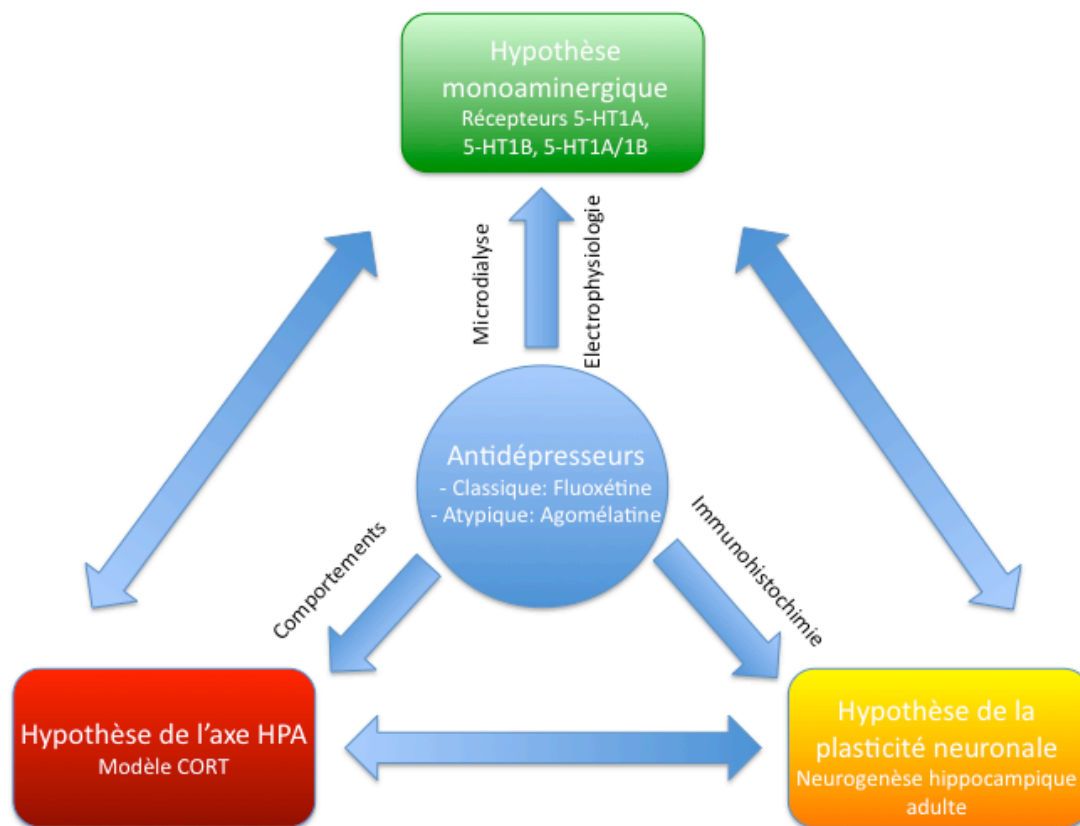


Figure 1 - Schéma représentant les interrelations entre les hypothèses de la dépression et leur étude.

Partant d'un modèle animal établi sur l'hypothèse de la dysfonction de l'axe HPA, nous avons étudié les effets comportementaux et neurogéniques des antidépresseurs de classes différentes. Suite à cette étude, nous nous sommes intéressés à l'état du système sérotoninergique et les effets des antidépresseurs par une approche neurochimique et électrophysiologique. Enfin nous avons étudiés l'impact du système sérotoninergique sur la neurogenèse hippocampique.

La première étape de ce travail a été de caractériser un nouveau modèle d'anxiété/dépression chez la Souris. Ce modèle est établi à partir de l'hypothèse de la dysfonction de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien dans la dépression ou suite à un stress chronique chez l'Homme. Par l'administration chronique de corticostérone via l'eau de boisson, nous avons induit un phénotype comportemental anxio/dépressif. Pour ce faire, nous avons utilisé des tests déjà existants au laboratoire. Nous avons complété nos observations par la mise en place d'autres tests d'évaluation de l'état anxio/dépressif chez la Souris (évaluation de l'état du pelage, évaluation de l'activité de toilettage). En outre, nous avons mis en place un dispositif d'enregistrement qui nous a permis d'étudier l'activité de la Souris sur une journée, révélant des altérations. Nous avons ensuite étudié les effets induits par ce modèle

sur la plasticité neuronale, et en particulier sur le processus de neurogenèse hippocampique. Un traitement à la fluoxétine nous a permis de contrer les effets comportementaux et cellulaires induits par l'administration chronique de corticostérone, et d'isoler des effets antidépresseurs dépendants ou indépendants de la neurogenèse hippocampique adulte.

Une fois la caractérisation de ce modèle effectuée, nous nous sommes penchés sur les effets potentiels et bénéfiques d'un nouvel antidépresseur, possédant des propriétés distinctes de la fluoxétine : l'agomélatine. L'agomélatine a démontré des effets comportementaux bénéfiques, également sur la resynchronisation du rythme circadien, absente après un traitement à la fluoxétine. Ce nouvel antidépresseur a également démontré un potentiel neurogénique dans le modèle.

Afin de mieux comprendre les effets de la fluoxétine dans notre modèle, nous nous sommes intéressés au statut fonctionnel des autorécepteurs 5-HT_{1A}, en utilisant des approches neurochimique et électrophysiologique. Ce travail a mis en évidence que la désensibilisation observée en présence de fluoxétine seule, est potentialisée dans le modèle. Ainsi, une désensibilisation importante des autorécepteurs somatodendritiques 5-HT_{1A} devrait participer aux effets bénéfiques comportementaux et neurogéniques des antidépresseurs.

Puisque les récepteurs 5-HT_{1A} semblent impliqués dans la réponse neurogéniques et comportementales en conditions pathologiques, nous avons voulu tester les effets de l'absence de ce récepteur chez des animaux génétiquement modifiés. Nous avons également étudié les effets de la délétion du gène codant pour un autre récepteur sérotoninergique, le récepteur 5-HT_{1B}. Finalement, nous avons profité de la présence au laboratoire de souris double mutantes, n'exprimant ni le récepteur 5-HT_{1A}, ni le récepteur 5-HT_{1B}, sur la neurogenèse hippocampique.

L'ensemble de ce travail a été rendu possible grâce à des collaborations avec d'autres équipes :

- L'Université de Columbia (Pr René Hen, Columbia University, New York, USA)
- L'Institut de Recherches Internationales Servier (Drs Elisabeth Mocaër, Cécilia Gabriel, Courbevoie, France)

Ces travaux s'inscrivent donc dans une perspective générale de la recherche effectuée au laboratoire de Neuropharmacologie EA3544, visant à préciser le mécanisme d'action des médicaments antidépresseurs classiques ou nouveaux, et de mettre en œuvre des stratégies pharmacologiques combinées (polythérapie) susceptibles d'améliorer leurs effets thérapeutiques.

INTRODUCTION

Chapitre I – Le système sérotoninergique dans la
dépression majeure

I. Le système sérotoninergique dans la dépression majeure

A. La dépression majeure

La dépression majeure affecte entre 8% et 12% des hommes et entre 15% et 28% des femmes (Hamilton, 1960; Kessler, 2003; Kessler et al., 1994). Cette pathologie se distribue selon plusieurs niveaux, de la dépression légère aux épisodes dépressifs modérés et majeurs. Le diagnostic de cette maladie grave et sévère suit une accumulation de symptômes décrits par plusieurs ouvrages de médecine. La Classification Internationale des Maladies (CIM-10^{ème} édition) établie en 1996 par l'Organisation Mondiale pour la Santé ainsi que le Manuel diagnostique et statistique des troubles mentaux (Diagnostic and Statistical Manual, dans sa version modifiée DSM IV TR) décrivent les signes observables d'un épisode dépressif majeur selon leur nature, intensité et durée. De ce fait, le diagnostic de la dépression demeure à l'appréciation des médecins et des psychiatres. L'utilisation des échelles de Hamilton (Hamilton, 1960) ou de Montgomery et Asberg (Guelfi, 1993; Montgomery and Asberg, 1979) permet d'affiner l'évaluation de l'intensité de la dépression majeure chez un patient. L'échelle d'Hamilton est à ce jour la plus couramment utilisée (Guelfi, 1993). Cette échelle comporte 17 ou 21 items selon les versions. Plus le score est élevé, plus la sévérité de la dépression est importante. En effet, un score compris entre 10 et 13 caractérise des symptômes dépressifs légers, alors qu'un score supérieur à 18 indique des symptômes dépressifs modérés à sévères. Quelque soit la méthode d'observation les troubles de la dépression comprennent les aspects présentés à la Figure 2.

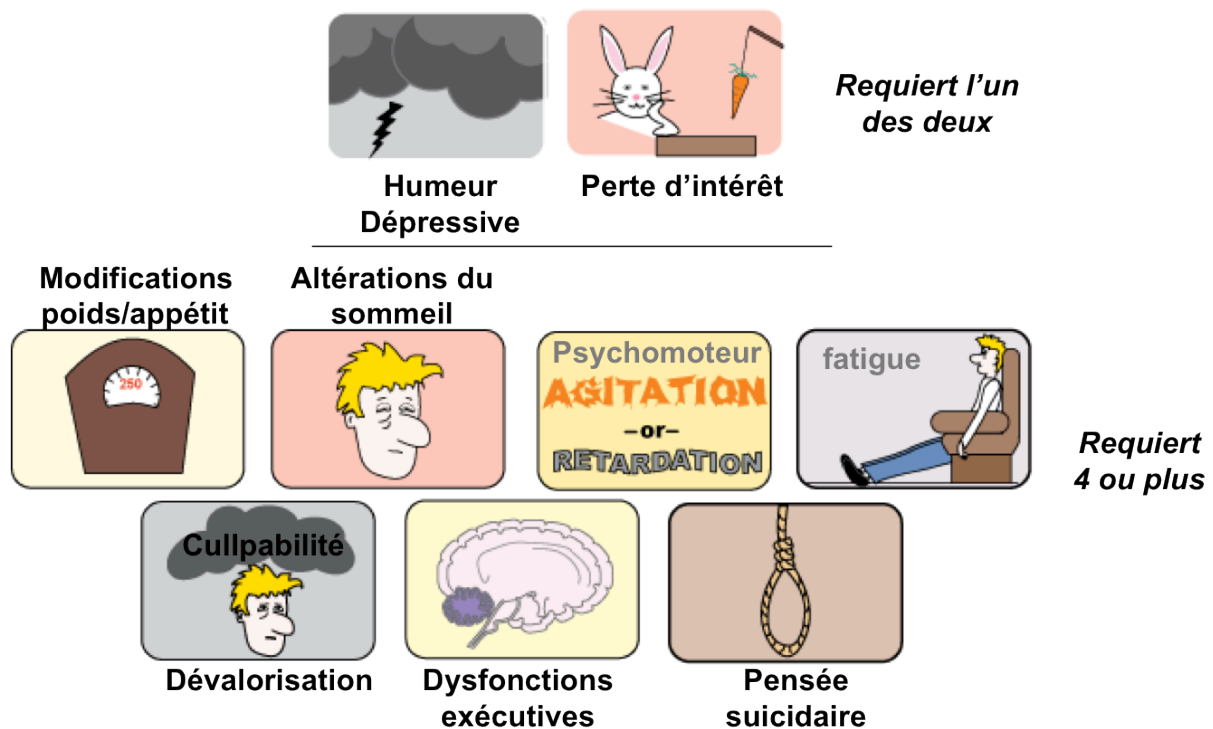


Figure 2 – Représentation schématique des symptômes de la dépression.

D'après (Stahl et al., 2008).

Environ 75% des patients atteints de dépression vont alterner entre des phases de remissions puis de rechutes au cours de leur vie (Frank and Thase, 1999). Les patients rétablis à la suite d'un premier épisode dépressif présentent un risque de récurrence dans les 6 mois évalué à 50% en cas d'arrêt du traitement (Frank et al., 1990). Plus grave, il a été établi qu'en l'absence de traitement 15% des patients succombent à la suite d'un suicide et qu'entre 60% et 80% des suicides sont le fait d'individus fortement dépressifs (Mann, 2003).

La dépression est également responsable d'altérations de diverses fonctions : le sommeil, l'appétit, le métabolisme, le système nerveux autonome et le système neuroendocrinien (Frank and Thase, 1999; Gold et al., 1988a; Gold et al., 1988b). La dépression peut être associée à différentes co-morbidités. Ainsi, il a été observé des symptômes dépressifs chez des patients atteints d'autres troubles psychiatriques, anxiété, schizophrénie, troubles obsessionnels compulsifs, stress post-traumatique, mais aussi de pathologies neurologiques comme la maladie de Parkinson (Kanner, 2004). Par ailleurs, la dépression majeure engendre une augmentation de la mortalité chez les dépressifs, ce qui la place comme l'une des pathologies les plus invalidantes de notre époque.

B. Hypothèse neurobiologique de la dépression

1. Implication des facteurs génétiques et de l'environnement

Des études de comparaisons entre jumeaux monozygotes et dizygotes suggèrent une prévalence de l'héritage génétique d'environ 35% (Fava and Kendler, 2000). Certains aspects associés à la dépression partagent également une part d'héritabilité (Bouchard, 1994). Suite aux études sur des familles présentant de nombreux individus dépressifs, il est admis que cette maladie n'est pas la conséquence du dysfonctionnement d'un seul gène, mais bien d'une association complexe de facteurs génétiques (Kendler et al., 1999). Il est également intéressant de noter que les dépressions précoces, sévères et récurrentes (Fava and Kendler, 2000; Gilbertson et al., 2002) mais aussi les formes mélancoliques et atypiques ont une héritabilité plus importante que des syndromes mixtes ou moins sévères (Kendler, 1996). La part de l'héritabilité serait plus importante dans les formes sévères ou survenant précocement (Kendler, 1999).

A ce jour, plusieurs gènes semblent avoir une pertinence plus élevée que les autres et ressortent de la littérature. Parmi eux, la présence d'un polymorphisme du transporteur de la sérotonine (5-HT) (Kuzelova et al., 2010), du récepteur 5-HT_{1A} (Invernizzi, 2007; Le Francois et al., 2008), de la tryptophane hydroxylase 2 (TPH-2) (Invernizzi, 2007), du « brain derived neurotrophic factor » (BDNF) (Chen et al., 2008), serait associée à la survenue d'une dépression relative au stress, ou d'une modulation des états dépressifs et de la réponse aux antidépresseurs.

Les études portant sur l'interaction gène-environnement cherchent à décrire comment les facteurs génétiques et environnementaux modulent conjointement le risque de développer une pathologie donnée. La vulnérabilité génétique peut être évaluée par l'histoire familiale ou donnée par une analyse directe de la séquence d'acide désoxyribonucléique (ADN). Les facteurs environnementaux sont mesurés par les études épidémiologiques à partir d'informations rapportées par le sujet ou repérées systématiquement par des enquêteurs. Différents modèles rendent compte de ces interactions selon la manière dont les facteurs environnementaux modifient l'expression de la vulnérabilité génétique, selon l'intensité de l'exposition à ces facteurs environnementaux, et enfin selon le mode de transmission supposé des facteurs génétiques (Gorwood, 2009) (Figure 3).

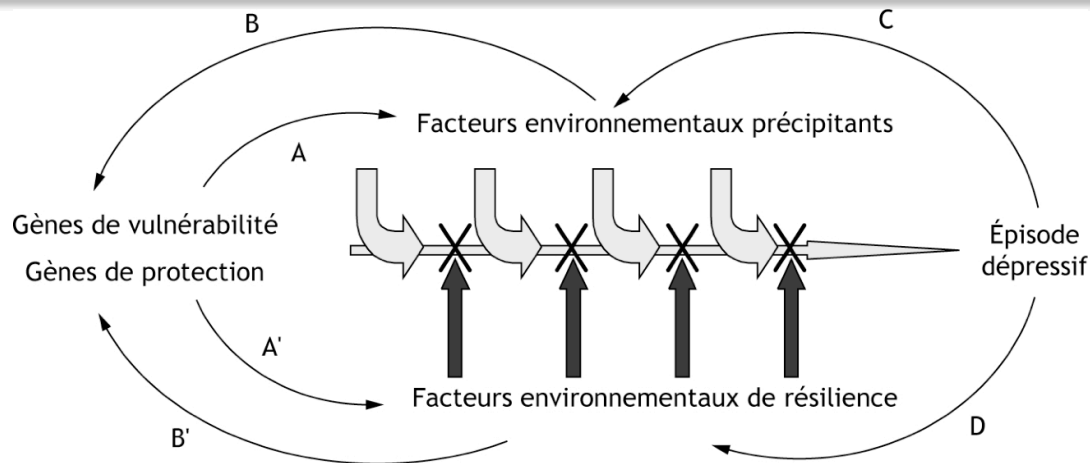


Figure 3 – Modèle d'interactions entre gènes et environnement dans le développement d'un épisode dépressif.

*A = Les facteurs de susceptibilité génétique peuvent surexposer des individus à des facteurs de risque environnementaux (corrélacion gène*environnement). B = Des facteurs de risque précoce peuvent modifier l'accès à des gènes de vulnérabilité (épigénétique). A' & B' = Le même type d'interaction peut se retrouver pour des facteurs de protection et de résilience. C&D = Une partie non négligeable de la vulnérabilité est acquise du fait même de la présence du trouble (neurotoxicité de la dépression), mais ce handicap peut se révéler une nouvelle source de renforcement pour d'autres (D). D'après (Gorwood, 2009).*

L'étude faisant référence dans l'interaction entre les facteurs génétiques et environnementaux pour expliquer un épisode dépressif est probablement celle de Caspi *et collaborateurs* (2003). Dans cette étude, il est fait l'hypothèse qu'un polymorphisme fonctionnel situé dans le promoteur du gène codant pour le transporteur de la sérotonine (5-HTTLPR) pouvait moduler l'impact des événements de vie stressants sur la vulnérabilité à la dépression (Caspi *et al.*, 2003).

L'existence d'une interaction entre les différents facteurs de risque, comme les gènes de vulnérabilité et les événements stressants, montre de manière heuristique qu'il est important d'appréhender tous les facteurs de risque potentiellement impliqués, quelle que soit leur origine, afin de comprendre l'émergence d'un épisode, sa répétition ou son type de présentation, ou son niveau de sévérité (pour revue voir, (Caspi *et al.*, 2010)).

2. Altérations des systèmes monoaminergiques

La théorie majeure de la dépression, l'hypothèse monoaminergique, propose que cette maladie soit due en particulier à une déficience en 5-hydroxytryptamine, sérotonine (5-HT) ou en noradrénaline (NA) au niveau du cerveau (Beskow *et al.*, 1976; Bunney and Davis, 1965; Coppen, 1967; Schildkraut, 1965). Historiquement, c'est la théorie la plus ancienne. En effet, au début du XXème siècle, l'utilisation de la réserpine, connue pour diminuer les stocks

de monoamines, chez les patients souffrant d'hypertension, entraînait chez 15% d'entre eux des épisodes dépressifs majeurs. Depuis, de faibles concentrations en NA, 5-HT et son métabolite majeur, le 5-HIAA, ont été retrouvées dans le liquide céphalo-rachidien de patients déprimés suicidés (Beskow et al., 1976; Bourne et al., 1968).

Les enzymes responsables de la synthèse et de la dégradation des neurotransmetteurs ont été une des pistes à explorer. En effet, la diminution de l'activité de la tryptophane hydroxylase de type 2 observée chez des patients dépressifs est corrélée à une diminution de la synthèse et donc de la concentration intracellulaire de 5-HT (Zhang et al., 2004; Zhang et al., 2005). En outre, une étude par tomographie par émission de positrons utilisant un ligand pour la monoamine oxydase de type A, a révélé une augmentation de l'activité de cette enzyme chez les malades (Meyer et al., 2006). Historiquement, l'isoniazide, utilisé comme antituberculeux a montré des propriétés antidépressives, conduisant au développement d'une classe d'antidépresseurs, les inhibiteurs de la monoamine oxydase (IMAO).

Des études chez l'Homme, ont permis de mettre en évidence qu'une diminution d'apport en tryptophane, précurseur de la 5-HT, entraîne une rechute chez des patients traités avec succès par inhibiteur sélectif de recapture de la sérotonine (ISRS) (Ruhe et al., 2007). De façon analogue, la lésion des neurones noradrénergiques et dopaminergiques par la 6-hydroxydopamine (6-OHDA), entraîne la rechute chez des patients soignés par un inhibiteur sélectif de recapture de la noradrénaline (ISRN) (Brunello et al., 2002).

Les altérations monoaminergiques dans la dépression majeure se répercutent également sur le système des seconds messagers, provoquant des altérations sur le phosphatidylinositol, l'AMP, l'inositol en passant par le facteur de transcription CREB (Blendy, 2006; Coupland et al., 2005; Shimon et al., 1997; Valdizan et al., 2003) (Figure 4).

Plus récemment, de nouvelles hypothèses permettant de rendre compte de l'étiopathologie et la pathophysiologie de la dépression ont été proposées, en particulier l'hypothèse de la dérégulation de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien.

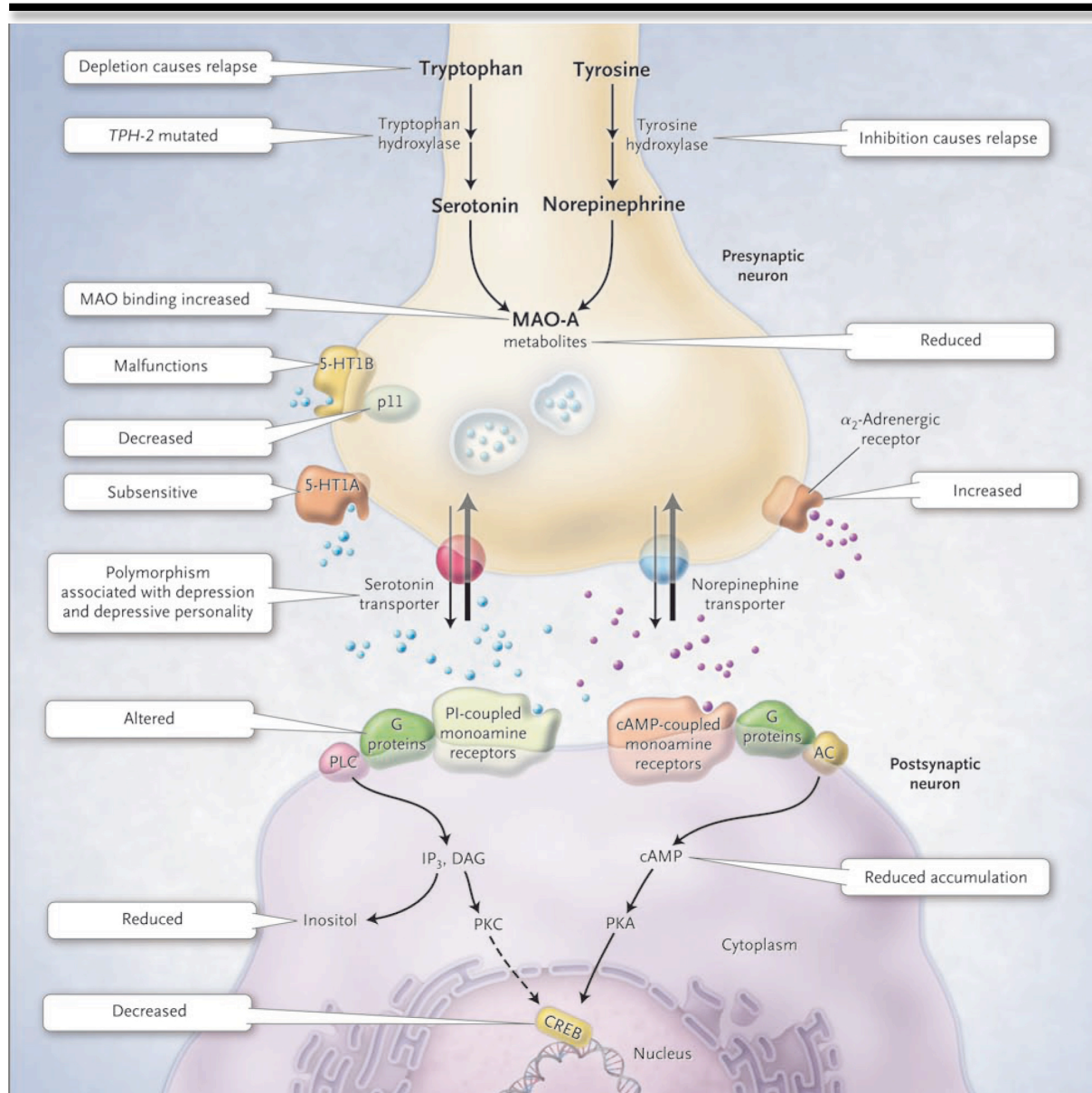


Figure 4 - L'hypothèse monoaminergique de la dépression.

Cette hypothèse postule une déficience de la sérotonine et de la noradrénaline, provoquant des altérations de la synthèse, dégradation, fonctionnalité des récepteurs et seconds messagers. La partie gauche de la synapse représente les modifications du système sérotoninergique pendant un épisode dépressif. La partie droite schématise les altérations du système noradrénergique. D'après (Belmaker and Agam, 2008).

3. Dysfonctionnement de la réponse au stress et de l'axe HPA

La relation entre le stress et la dépression sera traitée en détails dans la 3ème partie. Seule l'hypothèse est présentée ici.

Les structures neuro-anatomiques sensibles à l'action du stress sont regroupées sous le nom d'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (« hypothalamus-pituitary-adrenal », HPA) ou encore “axe du stress”. Cet axe serait l'acteur principal de la réponse au stress. Des études cliniques chez l'Homme mettent en évidence des concentrations élevées de glucocorticoïdes plasmatiques chez des patients souffrant de troubles dépressifs (Rubin et al., 1987). En parallèle, les concentrations d'hormone corticotrope (« cortico-releasing hormone », CRH) dans le liquide céphalo-rachidien sont également élevées, ainsi que sa sécrétion vers le système limbique (Nemeroff et al., 1984; Raadsheer et al., 1994). L'administration d'un glucocorticoïde de synthèse, la dexaméthasone, permet de mettre en évidence une altération du rétrocontrôle négatif de l'axe HPA chez ces patients dépressifs: en effet, chez un sujet sain ce glucocorticoïde de synthèse produit une diminution des hormones du stress (CRH, l'adrénocorticotrophine ACTH, vasopressine), un effet qui est absent chez les patients dépressifs (Carroll, 1982). Il a été remarqué que le retour à l'état normal est une condition nécessaire à la rémission clinique (De Bellis et al., 1993; Holsboer et al., 1982). Par conséquent, il semblerait que la perturbation de l'axe HPA soit un élément clef dans l'établissement de l'état dépressif. De plus, chez l'animal, un protocole de stress chronique provoque une diminution de ce rétrocontrôle, liée à une altération des fonctions inhibitrices de l'hippocampe et du cortex préfrontal sur cet axe (Mizoguchi et al., 2003; Mizoguchi et al., 2001). En effet, ces structures possèdent de nombreux récepteurs aux corticostéroïdes et participent fortement à cette boucle de rétroaction négative. Il a été proposé qu'un stress suffisamment important conduit à une dérégulation de l'axe HPA entraînant une forte sécrétion de CRF et d'ACTH, et donc de glucocorticoïdes. L'excès de glucocorticoïdes est neurotoxique, provoquant des dommages dans l'hippocampe et le cortex préfrontal, d'où une altération du contrôle que ces régions exerçaient sur l'axe HPA (Sapolsky, 2000).

4. Altérations de la plasticité neuronale

Depuis une décennie, une grande partie des hypothèses expliquant l'étiopathologie de la dépression postulent une altération de la plasticité neuronale. La neuroplasticité correspond à un processus impliquant la production de nouvelles cellules (neurogenèse et gliogenèse), le

développement de l'arborisation dendritique neuronale, et accompagnée de connexions synaptiques.

Cette hypothèse propose que la dépression majeure est due à une diminution de la neuroplasticité et notamment la neurogenèse hippocampique adulte (développée dans le chapitre IV), qui engendrerait des modifications morphologiques et structurales de certaines régions cérébrales (Duman and Newton, 2007; Jacobs et al., 2000; Sapolsky, 2000). En effet, des études cliniques ont pu mettre en évidence une diminution du volume de l'hippocampe pendant un épisode dépressif (Bremner et al., 2000; Sheline et al., 1999; Steffens et al., 2000). Ces résultats sont corrélés à d'autres études d'imageries et d'examens *post mortem* indiquant des atrophies ou des pertes de neurones dans l'hippocampe et le cortex préfrontal chez les patients déprimés (Duman and Charney, 1999; Rajkowska et al., 1999; Shah et al., 1998; Sheline et al., 1996). En outre, les antidépresseurs, administrés de manière chronique, contrecarrent certaines de ces altérations (Czeh et al., 2001; Drevets, 2003; Drevets et al., 2002; Fales et al., 2009; Neumeister et al., 2005; Sheline et al., 2003). Cette hypothèse neurodégénérative de la dépression a été suggérée avec comme acteur principal un facteur neurotrophique, le « brain derived neurotrophic factor » (BDNF) (Duman et al., 1997; Duman et al., 2001) chargé d'augmenter la survie et la croissance des neurones hippocampiques (Sklair-Tavron and Nestler, 1995). En effet le stress, via une augmentation des concentrations plasmatiques de glucocorticoïdes, reconnus pour être des acteurs majeurs de la dépression, provoquent aussi bien une atrophie, une augmentation de la mort neuronale, une diminution de l'arborisation dendritique et de la neurogenèse chez le rongeur ou le primate (Gould et al., 1998; Magarinos et al., 1996; McEwen, 1999; Pittenger and Duman, 2008; Sapolsky, 2000; Sapolsky, 2003; Smith et al., 1995). Par ailleurs, une diminution des facteurs neurotrophiques, comme le BDNF, dans l'hippocampe et le cortex préfrontal est rapportée (McEwen, 1999).

En réponse à ces changements, l'administration chronique d'antidépresseurs diminue les changements morphologiques et fonctionnels dans plusieurs régions corticolimbiques (Dupin et al., 2006; Mailliet et al., 2008; Malberg and Duman, 2003; Moore et al., 2000; Rocher et al., 2004).

Le point fort de cette hypothèse est de corréler le temps nécessaire aux remodelages des structures corticolimbiques, et celui pour observer l'apparition des bénéfices comportementaux d'un traitement chronique aux antidépresseurs (2 à 3 semaines).

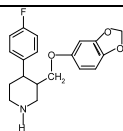
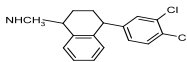
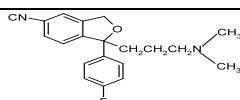
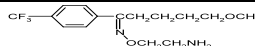
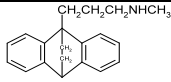
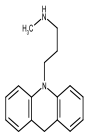
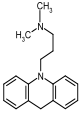
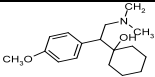
C. Les traitements des troubles de l'humeur

La découverte des antidépresseurs imipraminiques et leurs dérivés et celle des IMAOs voilà plus de trente ans, a été une révolution dans le traitement de la dépression. Selon les études cliniques, les antidépresseurs imipraminiques ont prouvé leur efficacité dans le traitement de la dépression endogène aussi bien que réactionnelle chez 70 à 80% des patients. Il convient de signaler d'ailleurs que la plupart des études modernes ont été réalisées en tenant compte des critères diagnostiques du DSM III voire du DSM III R qui ne font plus appel à la notion de dépression endogène ou réactionnelle. De nombreux essais cliniques ont montré que l'effet placebo, dans la dépression, pouvait être voisin, voire supérieur à 40 %. Une molécule dont il est prouvé qu'elle exerce un effet d'au moins 20% supérieur à celui du placebo est dès lors considérée comme un nouvel antidépresseur, ce qui revient à dire que les antidépresseurs améliorent le tableau clinique initial, i.e. les symptômes, d'au moins 60%.

1. Classification des antidépresseurs

Nous pouvons dégager trois classifications selon que l'on souhaite regrouper les antidépresseurs selon leur structure chimique, selon leur activité thérapeutique ou selon leur mécanisme d'action central, classification la plus pertinente, je ne parlerai donc que de celle-ci (Tableau 1). La classification mécanistique, que nous avons retenue, a l'avantage de regrouper les antidépresseurs en grandes classes selon les mécanismes d'action des molécules. On peut ainsi classer les médicaments antidépresseurs en différentes catégories selon la modulation de la transmission monoaminergique impliquée et leur affinité spécifique pour un des transporteurs de monoamines (Frazer, 2001). Cette classification permet en cas d'échec thérapeutique de changer de famille d'antidépresseurs bien que le mécanisme d'action des molécules ne résume pas leur pouvoir thérapeutique. La première catégorie comprend les antidépresseurs qui augmentent sélectivement la transmission sérotoninergique, on y retrouve tous les inhibiteurs sélectifs de la recapture de la sérotonine (ISRS). La seconde catégorie regroupe les antidépresseurs qui augmentent sélectivement la transmission noradrénergique, dans laquelle on classe les inhibiteurs sélectifs du recapture de la noradrénaline (IRN). La troisième regroupe les antidépresseurs d'action mixte qui augmentent simultanément les transmissions sérotoninergique et noradrénergique (IRSN). Du fait d'un mécanisme d'action différent, les IMAOs qui augmentent eux aussi la transmission monoaminergique, ont été classés dans une catégorie à part entière. Enfin, des molécules comme le bupropion qui inhibe

principalement la recapture de la dopamine ou la trazodone (antidépresseur dit « atypique »), ont été regroupées dans une quatrième classe (IRD).

| | Dénomination commune internationale | Formule | Dénomination chimique |
|--|-------------------------------------|--|---|
| Augmentation sélective de la transmission sérotoninergique | paroxétine |  | (3S-trans)-3-[(1,3-benzodioxol-5-yloxy)méthyl]-4-(4-fluorophényl)pipéridine) |
| | sertraline |  | (+)-cis (1S,4s)-4-(3,4dichlorophényl)-1,2,3,4-tétrahydro-N-méthyl- 1-naphtylamine |
| | citalopram |  | 1-[3-(diméthylamino)propyl]-1-(p-fluoirophényl)-1, 3-dihydro- isobenzofuran- 5-carbonitrile |
| | fluvoxamine |  | (E)-5-méthoxy-4'-(trifluorométhyl)valerophénone 0-(2-amino-éthyl)oxime |
| Augmentation sélective de la transmission noradrénergique | maprotiline |  | N-méthyl-9,10-éthanoanthracène-9(10H)-propylamine |
| | desipramine |  | 5-[3-(méthylamino)propyl]-10.11-dihydro-5H-dibenz[b,f]azépine |
| Augmentation mixte de la transmission sérotoninergiques et noradrénergique | imipramine |  | 5-[3-(diméthylamino)propyl]-10.11-dihydro-5H-dibenz[b,f]azépine |
| | venlafaxine |  | (+/-)-1-[2-(diméthylamino)-1-(p-méthoxyphényl)éthyl]cyclohexan-1-ol |

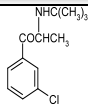
| | | | |
|--|-----------|---|--|
| Augmentation de la transmission dopaminergique | bupropion |  | (+)-2-(tert-butylamino)-3'-chloropropiophénone |
|--|-----------|---|--|

Tableau 1 - Exemples d'antidépresseurs avec leur formule chimique

La paroxétine, la sertraline, le citalopram et la fluvoxamine sont des ISRS. La désipramine et l'imipramine sont des tricycliques. La maprotiline est un tétracyclique. La venlafaxine est un inhibiteur mixte de la 5-HT et de la NA (extrait de la thèse de Denis David 2003).

2. Mécanismes d'action

Afin de restaurer les concentrations en monoamines dans le SNC, les antidépresseurs utilisent trois principaux mécanismes d'action basés sur l'inhibition de la MAO, l'inhibition de la recapture et enfin le blocage d'un récepteur (Artigas et al., 2002). Après la mise sur le marché des premiers inhibiteurs de la MAO, non sélectifs d'une monoamine, la découverte des deux formes A et B de la monoamine oxydase, différenciant l'une de l'autre par l'affinité préférentielle de la forme A pour la NA et la 5-HT et de la forme B pour la DA, a conduit à la commercialisation d'IMAOs réversibles et sélectifs de la monoamine oxydase A ou B. L'action de la molécule sur une cible thérapeutique autre que l'enzyme de dégradation, le transporteur monoaminergique, a permis de commercialiser de nouvelles classes innovantes de médicaments antidépresseurs. Ces molécules dont le mécanisme d'action est fondé sur l'inhibition de la recapture des monoamines qu'il s'agisse de la NA, de la 5-HT ou de la DA reste le plus fréquemment retrouvé. On a d'abord proposé l'inhibition de la recapture de la sérotonine et de la noradrénaline "induite" par les imipraminiques. Plus tard, est apparue la notion de sélectivité, avec des molécules "plus spécifiques" n'agissant que sur la recapture de la noradrénaline, telles que la désipramine ou la maprotiline. Puis, la génération des inhibiteurs de la recapture de la sérotonine a fait son apparition. Il existe enfin des molécules qui agissent essentiellement sur l'inhibition de la recapture de la dopamine, telle que le bupropion, ce dernier étant commercialisé comme antidépresseur seulement aux États-Unis. L'effet thérapeutique des derniers antidépresseurs développés résulte d'une action simultanée sur plusieurs grands systèmes de neurotransmission. Ainsi, sont apparues sur le marché des molécules agissant à la fois sur les voies noradrénergiques et sérotoninergiques en inhibant aussi bien la recapture de la NA et de la 5-HT. Enfin, il existe un mécanisme d'action des antidépresseurs distinct des deux précédents, fondé sur le blocage de certains sous-types de récepteurs sérotoninergiques ou noradrénergiques.

3. Cas d'un nouvel antidépresseur, l'Agomelatine

Les premiers antidépresseurs développés dans les années 1960-1970 s'orientaient vers la suppression de la recapture des monoamines ou de leur dégradation (tricyclique et inhibiteurs de la monoamine oxydase). Malgré certains effets sur les symptômes de la dépression, l'apparition d'effets secondaires a largement été décrite (Mathew, 2008; Millan, 2006; Papakostas, 2008; Sartorius et al., 2007). L'introduction de molécules plus sélectives dans les années 1980-1990 ; les inhibiteurs sélectifs de recapture de la sérotonine et de la noradrénaline ; a permis de diminuer certains effets secondaires sans pour autant améliorer efficacement les bénéfices thérapeutiques de leurs prédécesseurs (Mathew, 2008; Millan, 2006; Montgomery et al., 2007; Papakostas, 2008; Papakostas et al., 2008; Sartorius et al., 2007). Dans l'optique d'améliorer le traitement de la dépression majeure, de nouvelles stratégies ont été mises en place. Le développement de molécules capables d'agir sur plusieurs systèmes à la fois semble une piste intéressante (Guiard et al., 2009). En effet, il a été montré que la co-administration d'un ISRS avec du lithium améliore les bénéfices thérapeutiques (McIntyre and Moral, 2006; Millan, 2006; Wong et al., 2008).

Dans ce sens, l'agomélatine (Valdoxan, S20098) a été développée par les laboratoires Servier. Cette molécule propose un mécanisme d'action original en agissant sur les systèmes mélatoninergique et sérotoninergique. Il s'avère que le rythme circadien régulé par la mélatonine est perturbé pendant un épisode dépressif (Arendt, 1998; Duncan, 1996; Germain and Kupfer, 2008; Morgan et al., 1994; Souetre et al., 1989). L'agomélatine est une molécule possédant des propriétés agonistes des récepteurs de la mélatonine 1 et 2 (Audinot et al., 2003), associées à des propriétés antagonistes des récepteurs 5-HT_{2C} (Millan et al., 2003a; Millan et al., 2010). Cette propriété est un point majeur dans le contrôle des troubles de l'humeur et de la réponse au stress (Giorgetti and Tecott, 2004; Millan et al., 2005).

Il est à noter que l'agomélatine possède des propriétés antidépressives et anxiolytiques dans plusieurs paradigmes comportementaux (Barden et al., 2005; Bertaina-Anglade et al., 2006; Bourin et al., 2004; Millan et al., 2005; Papp et al., 2003; Papp et al., 2006; Tuma et al., 2005). Chez l'Homme, les études cliniques ont démontré une efficacité chez des patients dépressifs (Kennedy and Emsley, 2006; Kennedy and Rizvi, 2010; Loo et al., 2002; Olie and Kasper, 2007) (**Figure 5**).

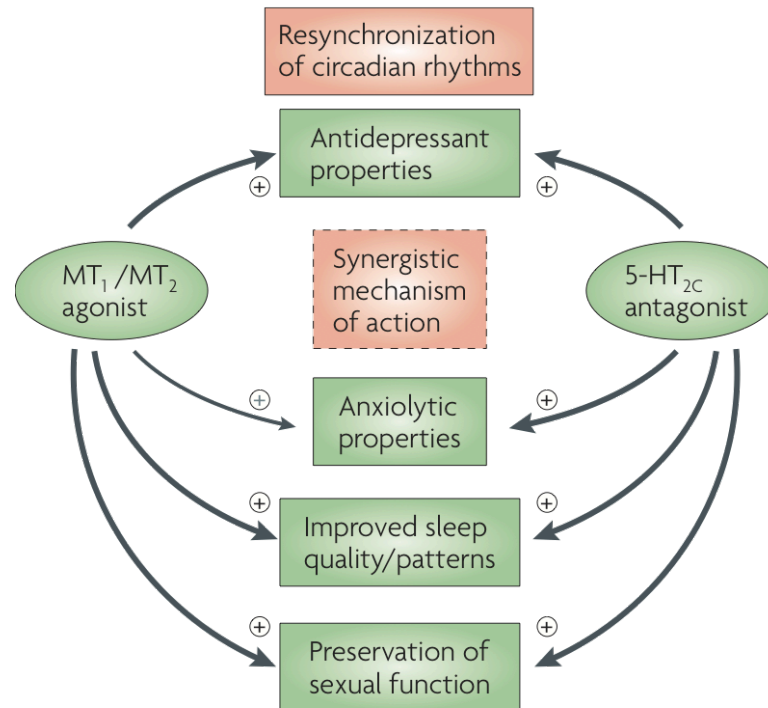


Figure 5 – Représentation schématique du mécanisme d'action de l'agomélatine.

Les propriétés pharmacologiques de l'agomélatine agissent en synergie afin d'améliorer les états dépressifs, en resynchronisant les rythmes circadiens, en augmentant les connexions dopaminergiques et adrénergiques vers le cortex frontal, en améliorant la neurogenèse hippocampe et enfin sur les comportements anxieux, sexuels et de sommeil. D'après (de Bodinat et al., 2010).

Au niveau cellulaire, l'agomélatine semble jouer un rôle similaire aux ISRS et tricycliques, en augmentant la prolifération cellulaire dans le gyrus dentelé de l'hippocampe chez des rats adultes non stressés (Banasr et al., 2006; Dagyte et al., 2011; Dagyte et al., 2010; Soumier et al., 2009). Un effet majeur a été décrit dans la région ventrale de l'hippocampe (Banasr et al., 2004) mais également contre la diminution de neurogenèse chez des souris n'exprimant pas le récepteur aux glucocorticoïdes (souris GR-i) (Paizanis et al., 2010).

Cette spécificité d'action sur la neurogenèse dans l'hippocampe ventral est particulièrement intéressante puisque cette structure, par sa localisation anatomique, est liée au cortex préfrontal et à l'amygdale, l'impliquant dans les circuits émotionnels et les états anxio/dépressifs (Bannerman et al., 2004; Engin and Treit, 2007; Fanselow and Dong, 2010; Moser and Moser, 1998).

D. *Le système sérotoninergique***1. La sérotonine : synthèse, libération, inactivation et rôle physiologique**

La sérotonine (5-hydroxy-tryptamine, 5-HT) est une indolamine synthétisée au niveau périphérique par les cellules entérochromaffines, mais aussi au niveau central puisqu'elle ne franchit pas la barrière hémato-encéphalique (BHE).

La biosynthèse de la 5-HT s'effectue par des enzymes à partir d'un acide aminé précurseur, le L-tryptophane, présent dans l'alimentation et véhiculé du sang vers le système nerveux central (SNC) par un transporteur commun à d'autres acides aminés neutres à longue chaîne (Fernstrom and Wurtman, 1972; Kuhn et al., 1986; Young et al., 1977) (Figure 6).

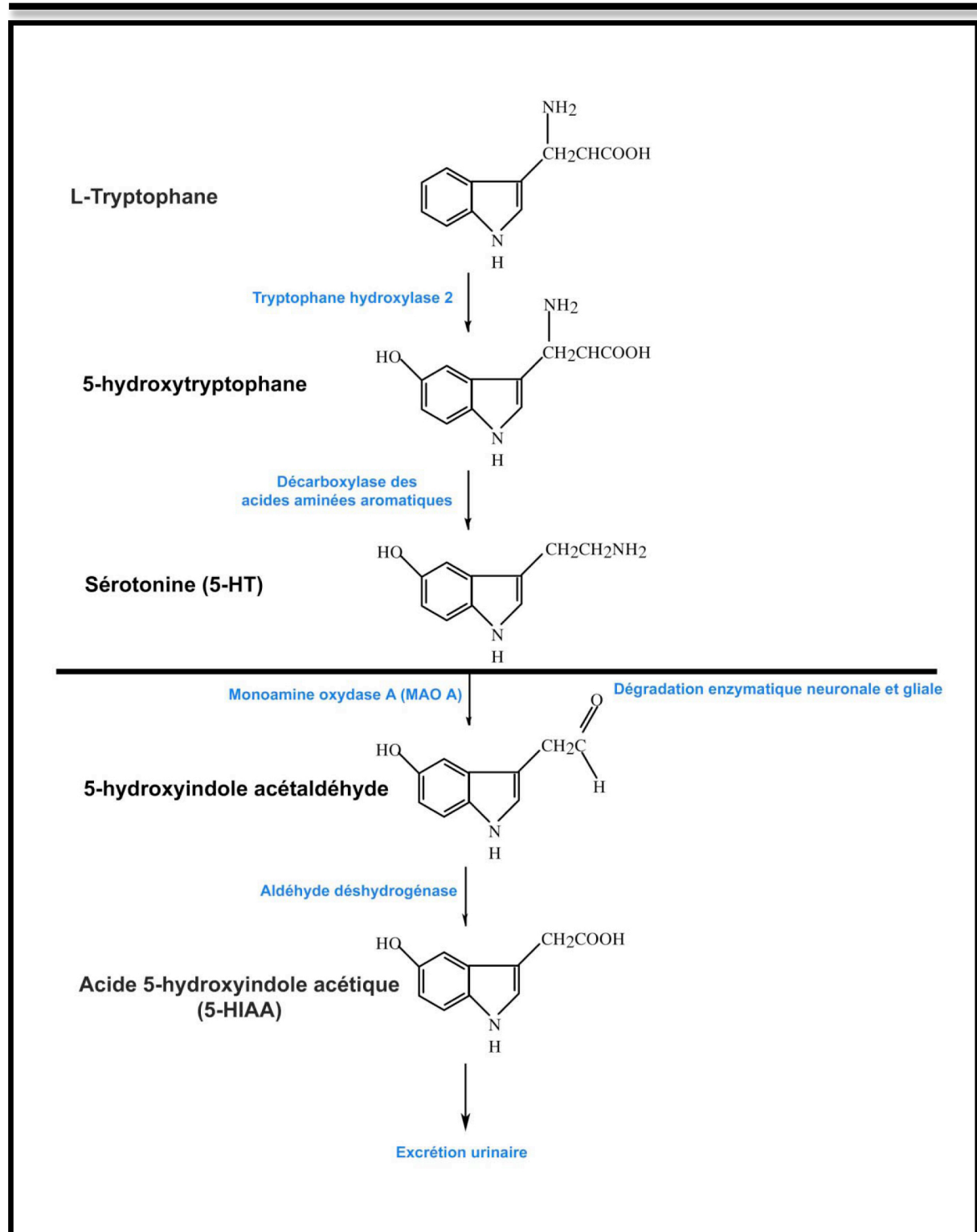


Figure 6 - Voie de biosynthèse et d'inactivation de la sérotonine.

L'étape limitante dans la voie de biosynthèse de la sérotonine est catalysée par une enzyme, la tryptophane hydroxylase. Dans le système nerveux, cette enzyme est exclusivement localisée dans les neurones sérotoninergiques. D'après (Hamon, 1995).

L'étape limitante de la synthèse de sérotonine est catalysée par la tryptophane hydroxylase (TPH). Il existe deux isoformes de cette enzyme. La TPH-2 est exprimée dans le SNC tandis que la TPH-1 est exprimée à la périphérie (Walther et al., 2003). En réalité, l'expression de ces deux enzymes ne serait pas aussi compartimentée car des travaux récents suggèrent que la TPH-1 serait présente également dans le SNC (Gundlach et al., 2005). La réaction catalysée par cette enzyme est une réaction d'hydroxylation du L-Tryptophane. Le produit de cette réaction est le 5-hydroxytryptophane (5-HTP) qui est ensuite décarboxylé par la décarboxylase des acides aminés aromatiques pour donner la sérotonine. Une fois synthétisée, la sérotonine est encapsulée dans des vésicules au moyen d'un transporteur spécifique appelé VMAT-2. La libération fait intervenir deux modes physiologiques opposés, l'un calcium (Ca^{2+})-dépendant (exocytose) et l'autre Ca^{2+} -indépendant. Le premier des modes cités entraîne une libération « quantique » de 5-HT selon un processus d'exocytose et tétrodotoxine (TTX) sensible (Sharp et al., 1990). Le second mode de libération, Ca^{2+} -indépendant et TTX insensible (Rudnick and Wall, 1992a; Rudnick and Wall, 1992b), mobilise le transporteur selon un mode « inverse », du milieu intraneuronal vers le milieu extraneuronal.

La quantité extracellulaire de sérotonine est modulée par le transporteur de la sérotonine. La dégradation de la 5-HT est assurée par la Monoamine Oxydase de type B, intramitochondriale dans les neurones sérotoninergiques (Shih, 2004) en 5-HIAA, qui est ensuite excrété dans le LCR puis dans les urines.

2. Les récepteurs de la sérotonine : classification et implication

Je limiterai la présentation des récepteurs de la sérotonine à certains sous-types davantage en accord avec la thématique de ce travail : les récepteurs 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} et 5-HT_{2C}.

Brièvement, la classification actuelle des récepteurs sérotoninergiques s'avère être très hétérogène (Filip and Bader, 2009; Fink and Gothert, 2007). Hormis le récepteur 5-HT₃ qui appartient à la superfamille des récepteurs ionotropiques, tous les autres récepteurs font majoritairement partie de la superfamille des récepteurs métabotropiques formés de 7 domaines transmembranaires et couplés aux protéines G. Cette nomenclature classe les seize sous-types de récepteurs sérotoninergiques en sept familles : 5-HT₁ (1A, 1B/1D, 1E, 1F) ; 5-HT₂ (2A, 2B, 2C) ; 5-HT₃ (3A, 3B, 3C), 5-HT₄, 5-HT₅ (5A, 5B), 5-HT₆ et 5-HT₇ (Tableau 2, Tableau 3, Tableau 4). Pour certains d'entre eux, comme les récepteurs 5-HT_{1E}, 5-HT_{1F}, 5-HT_{5B}, leur rôle

physiologique reste à définir, et la nomenclature internationale nomme actuellement ces récepteurs sous forme « minuscule » : « 5-HT ». Notons enfin que les sous-types 5-HT_{1A} et 5-HT_{1B/1D} sont situés non seulement sur les neurones post-synaptiques mais également sur la membrane des corps cellulaires des neurones sérotoninergiques présynaptiques, où ils jouent un rôle majeur de rétrocontrôle inhibiteur de l'activité électrique des neurones sérotoninergiques, sur la synthèse et la libération de 5-HT (Figure 7).

| | 5-HT _{1A} | 5-HT _{1B} | 5-HT _{1D} | 5-HT _{1E} | 5-HT _{1F} |
|---|--|--|--|---------------------------|--|
| Ancien nom | - | 5-HT _{1DB} | 5-HT _{1DB} | - | 5-HT _{1EB} , 5-HT ₆ |
| Agonistes sélectifs | 8-OH-DPAT | sumatriptan (rat) L694247 | sumatriptan (rat) PNU 109291 | - | LY 334370 |
| Antagonistes sélectifs (pK _B) | (±) WAY 100635 (8,7) | GR 55562 (7,4) SB224289 (8,5) SB 236057 (8,,9) | BRL 15572 (7,9) | | |
| Marqueurs radioactifs | [³ H]WAY 100635 [³ H]-8-OH-DPAT | [¹²⁵ I]GTI [¹²⁵ I]CYP (rat) [³ H]-sumatriptan [³ H]-GR 125743 | [¹²⁵ I]GTI [³ H]-sumatriptan [³ H]-GR 125743 | [³ H]5-HT | [¹²⁵ I]LSD [³ H]LY 334370 |
| Couplage | G _{i/o} - ↓ AMPc Canal K ⁺ | G _{i/o} - ↓ AMPc | G _{i/o} - ↓ AMPc | G _{i/o} - ↓ AMPc | G _{i/o} - ↓ AMPc |
| Gène | 5q11.2 – q13 | 6q13 | 1p34.3 – 36.3 | 6q14 – 15 | 3p11 – p14.1 |
| Information structurale | 7TM | 7TM | 7TM | 7TM | 7TM |
| Protéine (acides aminés) | <i>h</i> 421 <i>s</i> 421 <i>r</i> 422 | <i>h</i> 390 <i>s</i> 386 <i>r</i> 386 | <i>h</i> 377 <i>s</i> 374 <i>r</i> 374 | <i>h</i> 365 | <i>h</i> 366 <i>s</i> 366 <i>r</i> 366 |

Tableau 2 – Classification des récepteurs 5-HT₁.

Notons l'absence d'agonistes ou d'antagonistes sélectifs des récepteurs 5-HT_{1E}, 5-HT_{1F}. A l'heure actuelle les isoformes issues de l'épissage ne pouvant être discriminées pharmacologiquement, elles ne sont pas représentées. h : humain ; s : souris ; r : rat (d'après (Hoyer et al., 2002)).

| | 5-HT _{2A} | 5-HT _{2B} | 5-HT _{2C} ^b | 5-HT _{3A} | 5-HT ₄ |
|---|---|---|---|---|--|
| Ancien nom | D/5-HT ₂ | 5-HT _{2F} | 5-HT _{1C} | M | - |
| Agonistes sélectifs | DOI ^a | BW 723C86 | Ro 600175 | SR 57227 m-chlorophenyl-biguanide | BIMU 8 RS 67506 ML 10302 |
| Antagonistes sélectifs (pK _B) | kétansérine (8,5 - 9) MDL 100907 (9,4) SR 46349B (8,8) | SB 200646 (7,5) ^c SB 204741 (7,8) | mésulergine (9,1) SB 206553 (8,4) ^c SB 242084 (9,0) RS 102221 (8,4) | [³ H]granisetron [³ H]tropisetron [³ H]GR 65630 | [³ H]GR 113808 [³ H]RS57639 |
| Marqueurs radioactifs | [³ H]DOI [³ H]kétansérine [³ H]MDL 100907 | [³ H]-5-HT | [³ H] mésulergine | | |
| Couplage | G _{q/11} – IP ₃ /DAG | G _{q/11} – IP ₃ /DAG | G _{q/11} – IP ₃ /DAG | Canal cationique ^d | G _s - ↑ AMPc |
| Gène | 13q14 – q21 | 2q36.3 – q37.1 | Xq24 | 44q23 – q23.2 multiples sous-unités ^e | 5q31 - 33 |
| Information structurale | 7TM | 7TM | 7TM | | 7TM |
| Protéine (acides aminés) | <i>h</i> 357 <i>s</i> 357 <i>r</i> 357 | <i>h</i> 481 <i>s</i> 504 <i>r</i> 479 | <i>h</i> 458 <i>s</i> 459 <i>r</i> 460 | 5-HT _{3A} , 5-HT _{3B} , 5-HT _{3C} | <i>h</i> 387 <i>s</i> 387 <i>r</i> 387 |

Tableau 3 – Classification des récepteurs 5-HT₂, 3 et 4.

a. Active également les récepteurs 5-HT_{2C}, b. De multiples isoformes du récepteur 5-HT_{2C} sont produites par le mécanisme d'édition post-transcriptionnelle. c. Blocage non sélectif, d.

Le récepteur 5-HT₃ est un récepteur canal cationique qui existe sous la forme d'un pentamère dont chacune des sous-unités présente 4 séquences protéiques transmembranaires (ou TM), e. Un gène codant pour une seconde sous-unité du récepteur 5-HT₃ (baptisée 5-HT_{3B}) vient récemment d'être cloné (Davies et al., 1999). L'existence d'une troisième sous-unité (5-HT_{3C}) reste encore incertaine (d'après (Hoyer et al., 2002)).

| | 5-HT _{5A} | 5-HT _{5B} | 5-HT ₆ | 5-HT ₇ |
|---|---|---|---|--|
| Ancien nom | 5-HT _{5α} | 5-HT _{5β} | - | 5-HT _x 5-HT _{1-like} |
| Agonistes sélectifs | - | - | - | SB 258719 (7,9) |
| Antagonistes sélectifs (pK _B) | - | - | Ro 630563 SB 271046 (7,8) SB 357134 (8,5) | SB 269970 (9,0) |
| Marqueurs radioactifs | [¹²⁵ I]LSD [³ H]5-CT | [¹²⁵ I]LSD [³ H]5-CT | [¹²⁵ I]SB 258585 [¹²⁵ I]LSD [³ H]5-HT | [¹²⁵ I]LSD [³ H]SB 269970 [³ H]5-CT [³ H]5-HT |
| Couplage | G _{i/o} - ↓ AMPc | non identifié | G _s - ↑ AMPc | G _s - ↑ AMPc |
| Gène | HTR5A/7q36.1 | htr5b/2q11 – q13 | HTR6/1p35-36 | HTR7/10q23.3 – 24.3 |
| Information structurale | 7 TM | 7TM | 7TM | 7TM |
| Protéine (acides aminés) | h357 s357 r357 | h370 s370 | h440 s440 r438 | h445 s448 r448 |

Tableau 4 – Classification des récepteurs 5-HT₅, 6 et 7.

Notons l'absence d'agonistes ou d'antagonistes sélectifs des récepteurs 5-HT₅ et 5-HT₇ (d'après (Hoyer et al., 2002)).

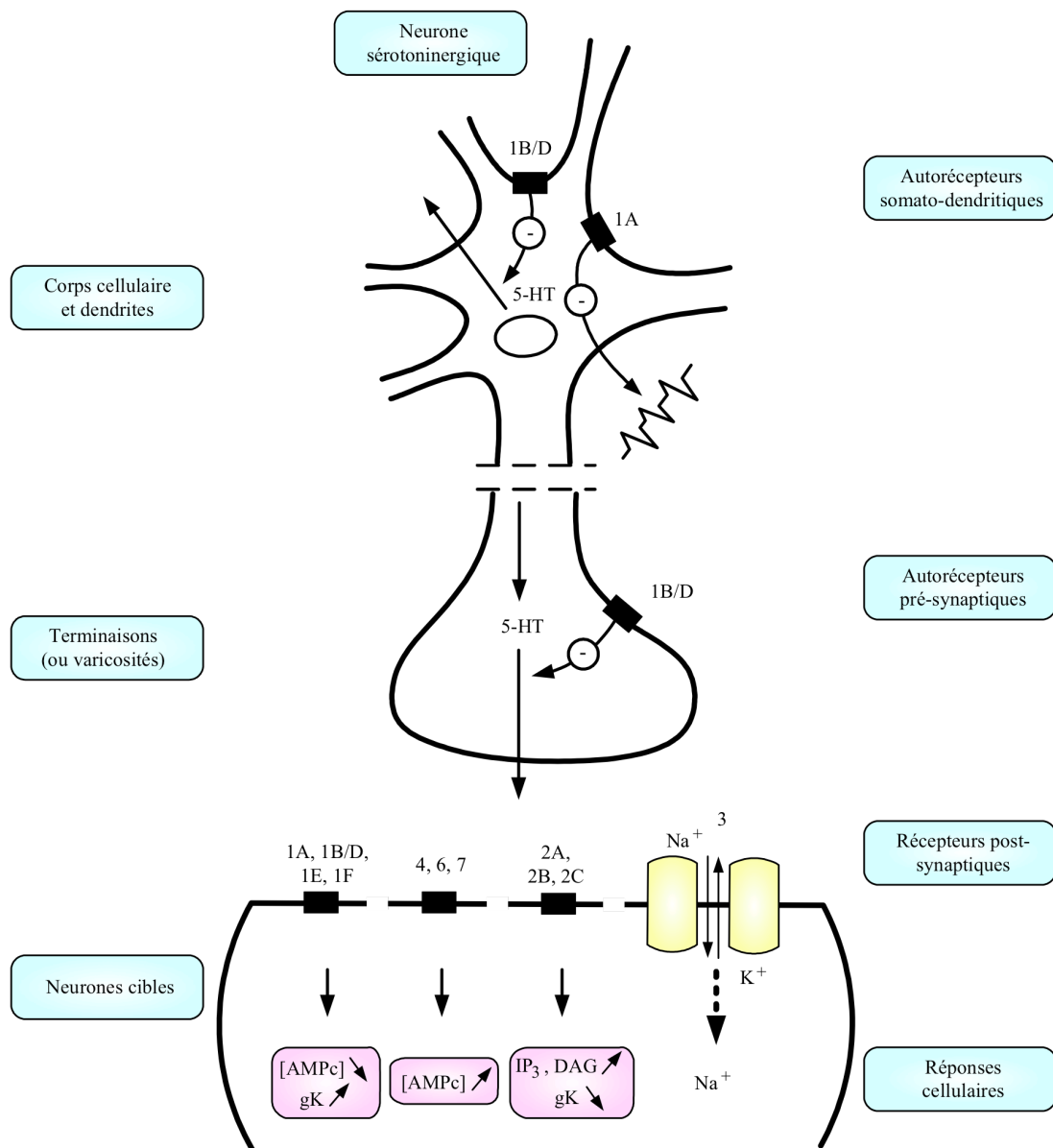


Figure 7 - Représentation schématique des différents récepteurs à la sérotonine, de leur localisation cellulaire ainsi que de leur voie de signalisation.

D'après (Hamon, 1995).

a. Les récepteurs 5-HT_{1A}

Le récepteur 5-HT_{1A} a été le premier récepteur sérotoninergique entièrement séquencé (Kobilka et al., 1987). Les gènes codant pour le récepteur 5-HT_{1A} humain et celui de Rat, ont été isolés par le criblage de banques génomiques humaines avec des séquences ADN homologues des α_2 -adrénorécepteurs puis identifiés chez l'Homme et le Rat (Albert et al., 1990; Fargin et al., 1988). Le récepteur 5-HT_{1A} humain conserve 89% d'homologie avec celui du Rat.

1) Distribution

La distribution du récepteur 5-HT_{1A} dans le cerveau de Rat a été étudiée par autoradiographie en utilisant des ligands marqués comme la [³H]-5-HT, [³H]-8-OHDPAT, [³H]-ipsapirone et plus récemment avec le [³H]-WAY100635 (Hoyer et al., 1986; Khawaja, 1995; Pazos and Palacios, 1985). Ce dernier ligand a aussi été utilisé pour la localisation *in vivo* chez la Souris des récepteurs 5-HT_{1A} centraux (Laporte et al., 1994). Les études d'imageries cérébrales (tomographie à émission de positrons) utilisant l'injection [¹¹C]-WAY100635 ont permis de localiser le récepteur 5-HT_{1A} dans le cerveau de l'Homme vivant (Lundberg et al., 2007).

Les études de liaison utilisant des ligands marqués montrent que le récepteur 5-HT_{1A} est largement distribué dans le SNC. Il est présent sous forme d'autorécepteur somatodendritique (Figure 8), régulant négativement l'activité neuronale sérotoninergique en inhibant l'activité électrique, puis la synthèse et la libération de la 5-HT (Blier and de Montigny, 1983; Hjorth and Sharp, 1991; Sprouse and Aghajanian, 1987) dans les noyaux du raphé du mésencéphale (noyaux du raphé B8 médian et du raphé B7 dorsal). Le récepteur 5-HT_{1A} est aussi présent en tant que récepteur post-synaptique dans les structures limbiques et notamment l'hippocampe, le septum latéral, les aires corticales (pour revues (Filip and Bader, 2009; Fink and Gothert, 2007), tandis qu'on le retrouve en faible densité dans les ganglions de la base et le cervelet. La distribution des ARNm codant pour le récepteur 5-HT_{1A} selon la technique d'hybridation *in situ*, est en tous points superposable à celle obtenue par des techniques de liaisons des différents ligands radioactifs cités ci-dessus et sélectifs des récepteurs 5-HT_{1A} (Burnet et al., 1995; Chalmers and Watson, 1991; Miquel et al., 1991; Pompeiano et al., 1992). La distribution du récepteur 5-HT_{1A} est en règle générale similaire selon les espèces étudiées même si des différences d'organisation entre les Rongeurs et l'Homme apparaissent dans les différentes couches corticales et de l'hippocampe (El Mestikawy et al., 1990). La localisation régionale du marquage immunoautoradiographique correspond exactement à celle des sites 5-HT_{1A} visualisée par la liaison spécifique du [³H]8-OH-DPAT (Riad et al., 2000). De plus, ces études immunohistochimiques ont permis de démontrer directement la présence des récepteurs 5-HT_{1A} sur les corps cellulaires et les dendrites des neurones sérotoninergiques dans les noyaux dorsal et médian du raphé. Enfin, l'utilisation d'anticorps dirigés contre la troisième boucle intracellulaire du récepteur 5-HT_{1A} de Rat confirme la localisation du récepteur 5-HT_{1A} obtenue par les deux autres techniques (El Mestikawy et al., 1990; Miquel et al., 1991).

2) Couplage et propriétés électrophysiologiques des récepteurs 5-HT_{1A}

Les récepteurs 5-HT_{1A} sont couplés, selon le tissu étudié, à différents systèmes effecteurs (inhibition) : un effecteur enzymatique produisant une inhibition de l'adénylate cyclase (AC) et deux effecteurs ioniques, l'un activateur d'un canal potassique et l'autre inhibiteur d'un canal calcique (Chen and Penington, 1996; Haj-Dahmane et al., 1991; Oleskevich, 1995) (Figure 8). La stimulation de ces récepteurs provoque une baisse de l'activité de l'adénylate cyclase stimulée par la forskoline dans l'hippocampe de rat et de cobaye (Adrien et al., 1989; Bockaert et al., 1987; Schoeffter and Hoyer, 1989; Varrault et al., 1992; Zgombick et al., 1993). Concernant les effecteurs ioniques, le couplage du récepteur à une protéine G_i/G_o activant un canal potassique a été mis en évidence dans l'hippocampe et le raphé de Rat (Katayama et al., 1997; Oleskevich, 1995) tandis que l'inhibition du canal calcique a uniquement été mise en évidence dans le raphé (Chen and Penington, 1996). Les deux types d'effecteurs sont couplés au récepteur via une protéine G_i/G_o puisque l'activation du récepteur est bloquée par la toxine pertussique. De nombreuses études utilisant divers systèmes d'expression (*Escherichia Coli*, cellules de mammifères) montrent que lorsque le récepteur 5-HT_{1A} est stimulé par la 5-HT ou le 8-OH-DPAT, il fixe les protéines G_i dans l'ordre suivant G_{ia3}>G_{ia2}≥G_{ia1}≥G_{0a}>G_{za} (Raymond et al., 2001; Raymond et al., 1993). De manière intéressante, le récepteur 5-HT_{1A} pré-synaptique présente des caractéristiques de couplage et de réponses fonctionnelles différentes de celles de son homologue post-synaptique (Clarke et al., 1996) bien qu'un seul gène codant pour ce récepteur ait été identifié à ce jour. Enfin, il est à noter que les récepteurs 5-HT_{1A} possèdent une pharmacologie proche de celle du récepteur 5-HT₇ : ce dernier possède une bonne affinité pour certains agonistes des récepteurs 5-HT_{1A}, dont le 8-OH-DPAT (K_i = 35 nM) et est positivement couplé à l'adénylate cyclase, dans l'hippocampe (Hoyer et al., 1994; Ruat et al., 1993).

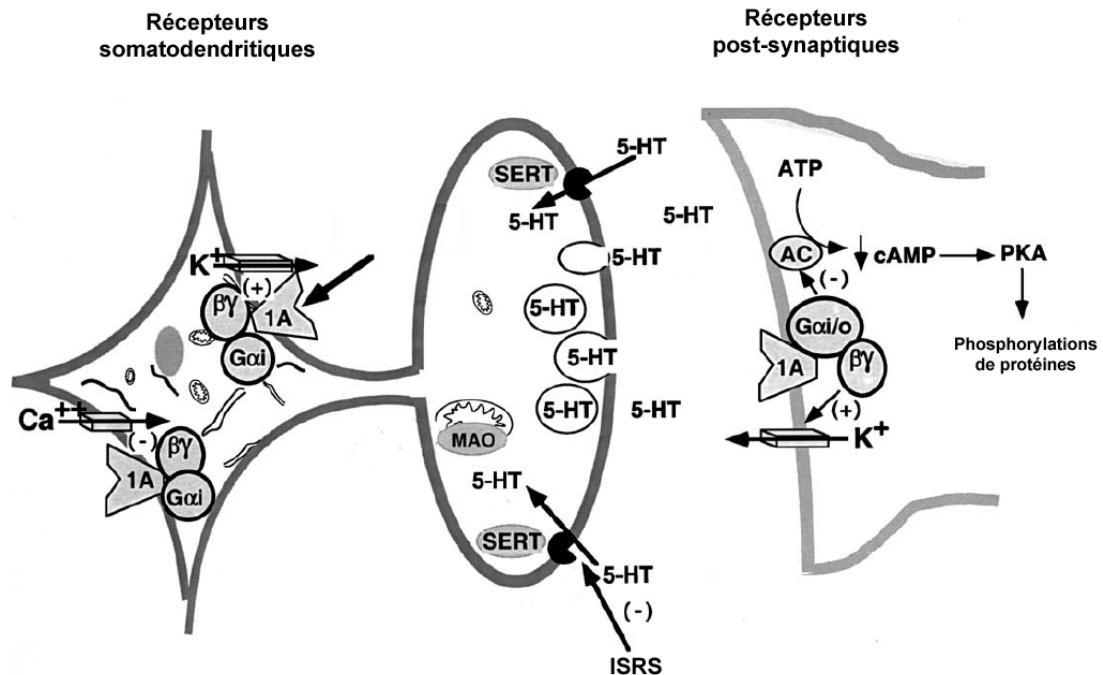


Figure 8 - Récepteur 5-HT_{1A} et voies de transductions du signal.

D'après (Hensler, 2003).

L'utilisation de souris mutées n'exprimant pas le récepteur 5-HT_{1A}, dites « knock-out » constitutives obtenues par recombinaison homologue (KO 5-HT_{1A}) issues de trois fonds génétiques différents, le fond 129/Sv (Ramboz et al., 1998), le fond C57Bl/6J (Heisler et al., 1998) et le fond Swiss Webster (Parks et al., 1998) a permis de confirmer que le récepteur 5-HT_{1A} pouvait moduler les comportements de type anxieux. L'activité électrique (ou « firing ») basale des neurones sérotoninergiques des noyaux du raphé mesurée chez ces souris anesthésiées n'est pas modifiée (Ramboz et al., 1998). Ceci suggère que le récepteur 5-HT_{1A} n'exerce pas un contrôle tonique sur l'activité électrique basale des neurones 5-HT du raphé. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus lors de l'administration d'un antagoniste de ces récepteurs, le WAY 100635 (Forster et al., 1995). Des études de microdialyse intracérébrale *in vivo* réalisées chez les souris KO 5-HT_{1A} issues du fond 129/Sv ou Swiss Webster sont venues confortées les résultats d'électrophysiologie (He et al., 2001; Knobelman et al., 2001). En effet, aucune différence de concentration extracellulaire basale de 5-HT n'a été retrouvée entre les souris contrôles dites « Wild-Type » (WT) et les souris mutées dans le striatum (He et al., 2001; Knobelman et al., 2001) ou dans l'hippocampe (Knobelman et al., 2001). Cependant Parsons et collaborateurs (2001) (Parsons et al., 2001) ont montré dans l'hippocampe et le cortex frontal chez ces souris KO 5-HT_{1A} (fond génétique

C57Bl/6J), une augmentation tonique des concentrations extracellulaires basales de 5-HT par rapport à leurs congénères WT non mutées. Enfin, les travaux d'Haddjeri et coll. (2004) menés chez le Rat anesthésié montrent qu'en absence de régulation du NRD par les afférences noradrénergiques du Locus Coeruleus, les récepteurs 5-HT_{1A} exercent un contrôle tonique de l'activité électrique des neurones sérotoninergiques (Haddjeri et al., 2004).

3) Dichotomie des récepteurs 5-HT_{1A} pré- et post-synaptiques

Des différences entre les niveaux pré- (i.e. les autorécepteurs) et post-synaptiques ont été observées dans la régulation des récepteurs 5-HT_{1A}. Ainsi, dans certaines conditions pharmacologiques, les capacités d'adaptation fonctionnelle des autorécepteurs somatodendritiques du NRD et des hétérorécepteurs post-synaptiques dans les structures limbiques (hippocampe en particulier) présentent des différences notables.

En effet, l'administration chronique d'inhibiteurs de recapture de la sérotonine (de Montigny et al., 1981; Le Poul et al., 2000) ou d'agonistes des récepteurs 5-HT_{1A} (Blier and de Montigny, 1987; Jolas et al., 1993; Schechter et al., 1990) induit une désensibilisation fonctionnelle des autorécepteurs 5-HT_{1A} dans le NRD sans affecter la fonctionnalité des récepteurs post-synaptiques dans l'hippocampe. A l'inverse, après 2 à 3 semaines de traitement avec un antidépresseur tricyclique, seule la sensibilité des récepteurs 5-HT_{1A} post-synaptiques de l'hippocampe est augmentée (de Montigny and Aghajanian, 1978; Gravel and de Montigny, 1987). Ces différences fonctionnelles ont été corrélées à des différences dans le couplage des récepteurs 5-HT_{1A} aux protéines G: des protéines de type G_O seraient couplées aux récepteurs 5-HT_{1A} dans l'hippocampe, alors qu'il s'agirait de protéines de type Gα₁₃ dans le NRD (Mannoury la Cour et al., 2001).

4) Les récepteurs 5-HT_{1A} et les troubles anxio/dépressifs

Etant donné le rôle central du récepteur 5-HT_{1A} dans la régulation du système sérotoninergique, de nombreuses études ont examiné le rôle de ce récepteur dans l'étiologie de l'anxiété/dépression.

a) *Etudes chez le patient déprimé*

Des études *post mortem* chez des patients dépressifs suicidés ont souligné une importante augmentation des autorécepteurs 5-HT_{1A}, en particulier dans le noyau du raphé dorsal, qui projette vers le cortex préfrontal (Boldrini et al., 2008; Stockmeier et al., 1998). D'autres études de tomographie par émission de positrons (PET) ont révélé que la capacité de liaison

de ces récepteurs est diminuée chez des patients dépressifs (Drevets et al., 2007; Meltzer et al., 2004). Cependant, chez ces patients, de nombreux éléments peuvent diminuer l'expression du récepteur, notamment la diminution du nombre de neurones sérotoninergiques, un traitement antidépresseurs ou une élévation chronique de cortisol. En outre chez les individus dépressifs suicidés, une diminution du nombre de neurones sérotoninergiques exprimant le transporteur de la sérotonine dans le noyau du raphé dorsal (Arango et al., 2001) est accompagnée d'une diminution du nombre de projections sérotoninergiques vers le cortex (Austin et al., 2002). Du côté post-synaptique, une diminution de l'expression d'ARNm de ce récepteur a été observée dans l'hippocampe des patients (Lopez-Figueroa et al., 2004). La diminution des récepteurs 5-HT_{1A} a également été révélée dans le cortex préfrontal par PET chez des patients souffrant d'épisodes dépressifs (Drevets et al., 2000; Drevets et al., 2007; Hasler et al., 2007; Moses-Kolko et al., 2008; Sargent et al., 2000), ou chez des patients atteints de troubles de panique (Neumeister et al., 2004). Ces résultats suggèrent que l'altération des niveaux de 5-HT_{1A} est présente dans la dépression majeure, les troubles bipolaires et d'anxiété.

b) Outils génétiques

Chez le rongeur, le récepteur 5-HT_{1A} semble également impliqué dans le développement de phénotypes anxio/dépressifs (Gordon and Hen, 2004). En effet, chez des souris n'exprimant pas le gène pour ce récepteur (souris « Knock-out », KO), les animaux présentent dans les tests de comportement, ces phénotypes particuliers (Heisler et al., 1998; Parks et al., 1998; Ramboz et al., 1998). En revanche, les animaux surexprimant ce récepteur pendant la période postnatal, affichent des comportements anxieux réduits (Kusserow et al., 2004). Il semble que l'expression du récepteur 5-HT_{1A} dans l'hippocampe et cortex soit essentielle pour établir un phénotype comportemental normal (Alexandre et al., 2006; Deng et al., 2007; Gross et al., 2002; Mehta et al., 2007).

Plus récemment, Richardson-Jones et collaborateurs (2010) ont développé des souris qui expriment un taux élevé de récepteurs 5-HT_{1A} (souris _{1A}-High) ou des taux plus faibles (souris _{1A}-Low) uniquement dans les noyaux du raphé (Figure 9). Les résultats suggèrent qu'un niveau élevé d'autorécepteurs 5-HT_{1A} induit une vulnérabilité au stress, et diminue l'efficacité de la fluoxétine (Richardson-Jones et al., 2010). Cette étude met en avant un facteur de risque pour un allèle du récepteur 5-HT_{1A} dans le développement d'un épisode dépressif chez l'Homme.

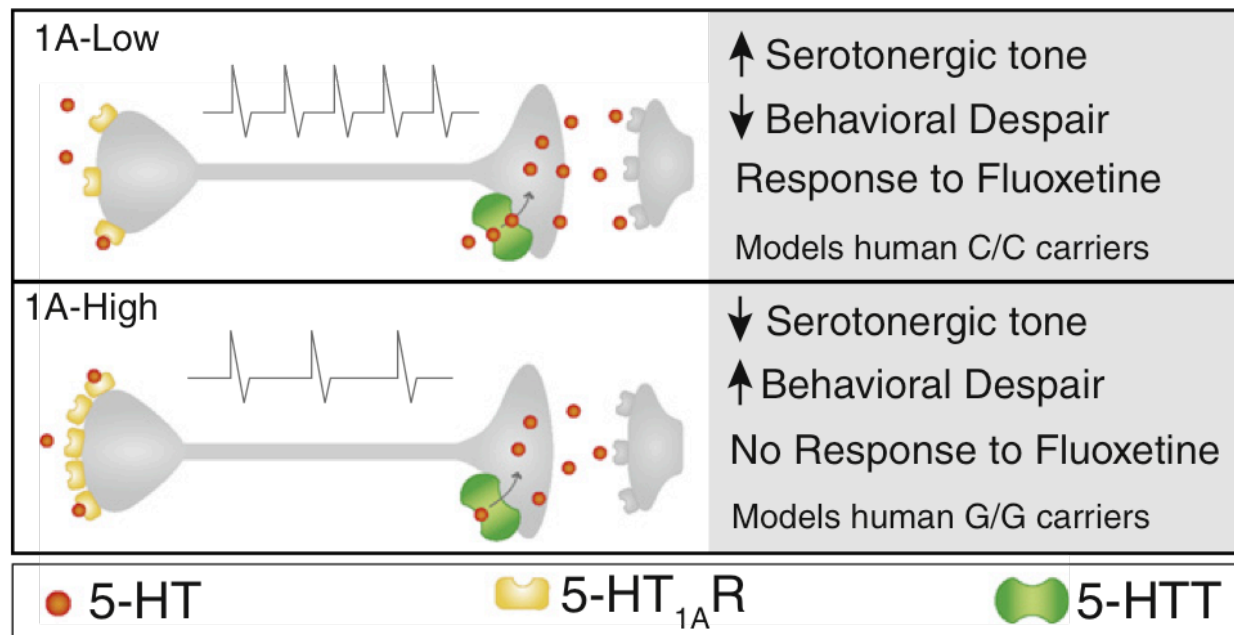


Figure 9 – Modélisation des effets des autorécepteurs 5-HT_{1A} dans les noyaux du raphé.

Les souris « 1A High » ont une activité électrique plus faible et des niveaux d'autorécepteurs somatodendritiques 5-HT_{1A} élevés, qui inhibent l'activité électrique du raphé. La conséquence est l'augmentation du comportement de désespoir en réponse au stress, comparée aux souris « 1A Low ». Ces dernières ont une activité électrique élevée et de faibles niveaux d'autorécepteurs somatodendritiques 5-HT_{1A}, provoquant une inhibition plus faible sur l'activité du raphé. Ces effets résultent en la diminution du comportement de désespoir en réponse à un stress par rapport aux animaux « 1A High ». Alors que les animaux « 1A High » ne répondent pas aux effets comportementaux de la fluoxétine, les animaux « 1A Low » expriment une forte réponse. Ces deux lignées proposent un modèle pour les porteurs humains des allèles G/G et C/C du polymorphisme Htr_{1A} C(109)G. D'après (Richardson-Jones et al., 2010).

c) Traitements antidépresseurs

Dans les modèles animaux d'anxiété/dépression, un traitement chronique aux ISRS induit une amélioration comportementale, qui est corrélée à une augmentation de la neurogenèse hippocampique qui sera développée dans la partie IV (Malberg et al., 2000). Brièvement, l'ablation de la genèse de nouveaux neurones dans l'hippocampe par irradiation aux rayons X a permis de supprimer les effets comportementaux d'un traitement chronique ISRS (Santarelli et al., 2003). En effet, un traitement chronique de fluoxétine permet d'induire un mécanisme de prolifération des cellules progénitrices du gyrus dentelé de l'hippocampe, mais aussi accélère la maturation des nouveaux neurones qui intègrent la circuiterie neuronale (Encinas et al., 2006; Wang et al., 2008). L'augmentation de la neurogenèse par les ISRS est bloquée chez les souris KO 5-HT_{1A} (Santarelli et al., 2003). En revanche, chez une autre souche de souris, BALB/cJ, il a été montré que la neurogenèse hippocampique ou le récepteur 5-HT_{1A},

ne sont pas nécessaires pour obtenir les effets comportementaux de la fluoxétine (Holick et al., 2008). Cette dernière étude suggère que les effets neurogéniques des antidépresseurs sont souches dépendants.

d) Polymorphisme du récepteur 5-HT_{1A}

D'après les études sur l'implication de la délétion du gène codant pour le récepteur 5-HT_{1A}, Albert et collaborateurs ont mis en évidence des régulations transcriptionnelles de ce récepteur (Albert et al., 1996; Albert and Lemonde, 2004). Le gène codant pour le récepteur 5-HT_{1A} est sous le contrôle d'un promoteur riche en séquences cytosine/guanine. Les régulateurs Deaf1 et Hes1/Hes5 du polymorphisme C(-1019)G du récepteur 5-HT_{1A} répriment la transcription des autorécepteurs pour l'allèle C mais pas pour l'allèle G (Lemonde et al., 2003). Le génotype G/G est associé à une augmentation du potentiel de liaison des autorécepteurs chez les patients déprimés (Parsey et al., 2006). Deaf1 est colocalisé avec les récepteurs 5-HT_{1A} dans le raphé et les neurones post-synaptiques, et est exprimé du développement de l'individu, à l'âge adulte. En revanche les protéines Hes sont elles présentent uniquement dans les précurseurs neuronaux et neurones immatures. Chez les souris KO Hes1, l'expression de l'ARN du récepteur 5-HT_{1A} augmentée dans le cerveau des embryons (Jacobsen et al., 2008) suggérant que l'allèle G(-1019) peut entraîner une altération des niveaux de récepteurs 5-HT_{1A} pendant la période embryonnaire. L'allèle G serait donc responsable d'une augmentation du niveau des autorécepteurs, réduisant l'activité des neurones sérotoninergiques, et diminuant l'expression des récepteurs post-synaptiques.

b. Les récepteurs 5-HT_{1B}

L'actuelle classification des récepteurs sérotoninergiques distingue le récepteur 5-HT_{1B} de Rat du récepteur humain, anciennement 5-HT_{1Db}, par les préfixes « r » pour Rat et « h » pour Homme (pour revue voir (Hoyer et al., 2002)). Ce récepteur a été isolé chez le Rat (Voigt et al., 1991) à partir d'une banque d'ADNc de cerveau antérieur et cloné chez la Souris à partir d'une banque génomique (Maroteaux et al., 1992). Le récepteur 5-HT_{1B} humain est caractérisé par une homologie de 96% avec le récepteur 5-HT_{1B} de Rat (Jin et al., 1992). Les différences pharmacologiques entre ces deux homologues résident dans la mutation d'un seul acide aminé, l'acide aspartique (Asp¹²³) en arginine (Arg¹²³). Chez le Rat, ces récepteurs ont pu être distingués des sites 5-HT_{1D} par leur affinité élevée pour certains antagonistes des récepteurs β-adrénergiques (pindolol, cyanopindolol) ou encore pour un agoniste, le CP 93129 (Barnes and Sharp, 1999).

1) Distribution

Les études d'autoradiographie, utilisant des molécules marquées telle que la [^3H]-5-HT en présence de 8-OH-DPAT, ou le [^{125}I]-cyanopindolol en présence d'isoprénaline, démontrent que le sous-type de récepteur sérotoninergique 5-HT_{1B} est retrouvé, chez le Rat, dans les ganglions de la base et particulièrement dans la substance noire, le globus pallidus, le pallidum ventral et les noyaux entopédunculaires (Bruinvels et al., 1993; Pazos and Palacios, 1985; Verge et al., 1986). Les études d'hybridation *in situ* ont permis de localiser l'ARNm codant pour les récepteurs 5-HT_{1B} dans le raphé médian et dorsal (Boschert et al., 1994; Doucet et al., 1995), ARNm qui est largement réduit par la lésion des fibres 5-HT par une neurotoxine, la 5,7-DHT (Doucet et al., 1995). Chez l'Homme, une étude post mortem utilisant la technique d'hybridation *in situ* a permis de retrouver de l'ARNm codant pour le récepteur 5-HT_{1B} dans le noyau du raphé dorsal (Bidmon et al., 2001). Certaines aires du cerveau antérieur de Rat, comme le striatum, contenant une grande quantité de sites de liaison expriment aussi l'ARNm du récepteur. Cependant, la distribution régionale du récepteur 5-HT_{1B} chez le Rat ne semble pas correspondre à celle de son ARNm suggérant que les récepteurs 5-HT_{1B} sont exprimés à distance de leur lieu de synthèse. Des aires cérébrales comme la substance noire, le globus pallidus ou le noyau entopédunculaire qui présentent elles aussi une densité importante de récepteurs, ont de faibles quantités d'ARNm. Dans l'hippocampe, l'ARNm du récepteur 5-HT_{1B} est localisé dans les corps cellulaires des cellules pyramidales de la région CA1, tandis que la protéine est présente dans la zone de projection des neurones CA1 pyramidaux (Boschert et al., 1994). La même étude montre que l'ARNm est exprimé dans les cellules de Purkinje, dans lesquelles aucun site de liaison 5-HT_{1B} n'est retrouvé.

2) Couplage des récepteurs 5-HT_{1B}

Les études effectuées sur des cellules transfectées (COS-7), exprimant soit le récepteur 5-HT_{1B} humain soit celui de rongeur, ont permis d'établir que ce sous-type de récepteur sérotoninergique est couplé négativement à l'adénylate cyclase (Adham et al., 1992). Chez les mammifères, le récepteur 5-HT_{1B} est couplé à la protéine G_{i/o} puisque la voie de couplage est sensible à la toxine pertussique (Hamblin and Metcalf, 1991; Maroteaux et al., 1992). Lorsqu'un agoniste se fixe sur le récepteur 5-HT_{1B}, il stimule les protéines G_{i/o} dans l'ordre suivant G_{ia3}>G_{ia1}≥G_{ia2}≥G_{0a} (Clawges et al., 1997).

3) Dichotomie des récepteurs 5-HT_{1B} pré- et post-synaptiques

Le rôle d'autorécepteur (inhibiteur) du type 5-HT_{1B}, a été confirmé en comparant *in vitro* (Pineyro et al., 1995) et *in vivo* (Trillat et al., 1997) les effets d'un antagoniste, le CP 93129 sur la libération de 5-HT chez des souris naïves WT et KO 5-HT_{1B} dans l'hippocampe et le cortex frontal. Une étude d'électrophysiologie montre que chez ces souris, l'activité électrique des neurones du raphé dorsal (Pineyro et al., 1995) et les concentrations extracellulaires basales de 5-HT des différentes régions riches en terminaisons neuronales sérotoninergiques sont normales, c'est-à-dire sont comparables à celles des souris non mutées (Trillat et al., 1997). Ces résultats suggèrent que, en conditions basales, l'autorécepteur 5-HT_{1B} n'exerce pas de contrôle tonique sur la libération de 5-HT par les terminaisons neuronales.

Il a été montré que les récepteurs 5-HT_{1B} sont localisés sur les neurones sérotoninergiques et qu'ils diminuent les niveaux de 5-HT quand ils sont activés par un agonistes (CP93129 ; CP94253 ; RU24969) (Chenu et al., 2008; Filip and Bader, 2009; Sari, 2004), alors que les antagonistes (SB224289 ; GR127935) augmentent ou potentialisent la libération de 5-HT (Filip and Bader, 2009; Fink and Gothert, 2007; Ruf and Bhagwagar, 2009). Les autotécepteurs sont localisés pré-synaptiquement sur les neurones sérotoninergiques (Boschert et al., 1994; Buhlen et al., 1996; Riad et al., 2000; Sari et al., 1999) et sont impliqués dans le contrôle de l'inhibition de l'activité neuronale et de la libération de 5-HT (Olivier and van Oorschot, 2005). En effet, l'administration d'un agoniste, le CP-93129 (Macor et al., 1990) diminue chez le Rat, les concentrations de 5-HT dans le cortex préfrontal, les noyaux du raphé et une partie des ganglions de la base, mais aussi dans l'hippocampe de souris, le striatum, et le cortex préfrontal (Adell et al., 2001; de Groote et al., 2002; De Groote et al., 2003).

Les hétérorécepteurs sont situés et ont une fonction inhibitrice sur les neurones dopaminergiques (Alex and Pehek, 2007; Ase et al., 2008; Ase et al., 2000; Benloucif et al., 1993; Yan and Yan, 2001), GABAergiques (Ase et al., 2008; Bramley et al., 2005; Hashimoto and Kita, 2008; Lee et al., 2008; Peruzzi and Dut, 2004; Shen and Johnson, 2008), glutamatergiques (Boeijinga and Boddeke, 1996; Hashimoto and Kita, 2008; Shen and Johnson, 2008), et cholinergiques (Cassel et al., 1995; Hu et al., 2007; Rutz et al., 2006).

4) Les récepteurs 5-HT_{1B} et les troubles anxio-dépressifs

Les récepteurs 5-HT_{1B} semblent impliqués dans la médiation des comportements et fonctions physiologiques impliqués dans les troubles de l'humeur (Bouwknicht et al., 2001; Millan et al., 2003b; Ramboz et al., 1996; Tatarczynska et al., 2002; Tatarczynska et al., 2004), agitation ou ralentissement psychomoteur, le sommeil (Boutrel et al., 1999), le comportement sexuel (Hillegaart and Ahlenius, 1998), la cognition et l'apprentissage spatial (Buhot et al., 1995; Malleret et al., 1999; Meneses, 2001).

Les récepteurs 5-HT_{1B} ont également un rôle dans des pathologies liées aux troubles dépressifs, dont la toxicomanie (Ramboz et al., 1996; Rocha et al., 1998; Saudou et al., 1994), l'anxiété (Chojnacka-Wojcik et al., 2005; Dawson et al., 2006; Hoplight et al., 2005; Tatarczynska et al., 2004), les troubles obsessionnels compulsifs (Camarena et al., 2004; Gross-Isseroff et al., 2004; Mundo et al., 2001).

a) Récepteurs 5-HT_{1B} et anxiété

Des études pharmacologiques chez l'animal ont suggéré que les récepteurs 5-HT_{1B} peuvent jouer un rôle dans la médiation des états d'anxiété. Après l'activation du récepteur 5-HT_{1B} par un agoniste sélectif le CP94253, les animaux présentent une augmentation de l'anxiété dans le paradigme comportemental de labyrinthe en croix surélevé (Lin and Parsons, 2002). La présence des hétérorécepteurs sur les neurones cholinergiques de la voie septo-hippocampique peut aussi être liée à l'anxiété (Sari, 2004).

b) Outils génétiques

L'étude des souris KO pour le récepteur 5-HT_{1B} présente une augmentation de l'agressivité (Saudou et al., 1994; Zhuang et al., 1999), du comportement exploratoire (Malleret et al., 1999; Zhuang et al., 1999), de l'impulsivité motrice (Brunner and Hen, 1997), de la consommation d'alcool, de la vulnérabilité à la cocaïne (Rocha et al., 1998), et de l'apprentissage spatial (Malleret et al., 1999). L'administration de 3,4- méthylène-dioxyméthamphétamine provoque chez ces animaux une diminution du phénotype anxieux (Malleret et al., 1999). Des altérations du sommeil sont également observées (Boutrel et al., 1999). Sibille et collaborateurs ont montré que ces animaux présentent des troubles moteurs liés à l'âge, ainsi qu'un vieillissement moléculaire précoce du cerveau (Sibille et al., 2007).

c) Traitements antidépresseurs

Chez le Rat, une administration chronique d'un ISRS, la fluoxétine, présente :

- Une désensibilisation des autorécepteurs sérotoninergiques (Blier et al.,

1998)

- Une désensibilisation des autorécepteurs 5-HT_{1B} dans le cortex frontal (Lifschytz et al., 2004).
- Une diminution de l'expression des récepteurs 5-HT_{1B} dans le noyau suprachiasmatique chez le Rat (Jensen et al., 2009).

Un traitement chronique avec de la fluoxétine (Anthony et al., 2000; Neumaier et al., 1996) ou de la paroxétine (Anthony et al., 2000) conduit à une diminution de l'expression d'ARNm dans les noyaux du raphé, mais pas dans l'hippocampe chez le rats. De plus, ces effets semblent être spécifiques des autorécepteurs puisqu'aucun changement n'a été observé sur les hétérorécepteurs des neurones non sérotoninergiques (Neumaier et al., 1996).

Contrairement aux récepteurs 5-HT_{1A}, les récepteurs 5-HT_{1B} ne semblent pas être désensibilisés après une administration de citalopram (Jongsma et al., 2005). De plus, le blocage ou la délétion du récepteur 5-HT_{1B} atténue la diminution de l'activité électrique après un traitement au citalopram des neurones du noyau du raphé dorsal chez la Souris (Evrard et al., 1999).

Il a donc été proposé que l'effet thérapeutique des ISRS pourrait être potentialisé par le blocage des récepteurs 5-HT_{1B}, empêchant ainsi l'inhibition de la libération de 5-HT par les autorécepteurs. En effet, l'administration chronique d'ISRS chez des souris KO pour le récepteur 5-HT_{1B} révèle une augmentation des niveaux extracellulaires de 5-HT, ainsi qu'une augmentation des effets des antidépresseurs (pour revue, (Ruf and Bhagwagar, 2009)).

Le récepteur 5-HT_{1B} est colocalisé et interagit avec la protéine p11. Cette protéine augmente la localisation du récepteur 5-HT_{1B} à la surface de la cellule. Une augmentation de p11 est observée chez le rongeur après une exposition à un traitement chronique antidépresseur, mais diminuée dans des modèles animaux de dépression, ainsi que chez les patients souffrant de dépression. Il a été montré que la surexpression de cette protéine augmente la fonction des récepteurs 5-HT_{1B} et induit des comportements observés généralement après un traitement antidépresseur. En outre, les animaux privés du gène codant pour cette protéine expriment un phénotype anxio/dépressif, une réponse réduite aux agonistes et aux effets comportementaux des antidépresseurs suggérant que la capacité de p11 à moduler la fonction du récepteur 5-HT_{1B} est impliquée dans les dysfonctions des états dépressifs et la réponse aux antidépresseurs (Svenningsson et al., 2006).

d) Polymorphisme du récepteur 5-HT_{1B}

Les variations génétiques des récepteurs 5-HT_{1B} ont été observées et se traduisent par leurs fonctions (Olivier and van Oorschot, 2005). Phe-124-Cys (T371G), un variant du gène humain du récepteur, possède un lien disulfure avec une cystéine extracellulaire (Nothen et al., 1994), ce qui s'exprime par une diminution de 70% avec le ligand radiomarqué [3H]5-CT des capacités de liaison du récepteur (Bruss et al., 1999).

Sanders et collaborateurs ont isolé 5 polymorphismes (C129T, G276A, et G861C dans les régions codantes, 182INS/DEL-181 dans la région 5' non codante, et A1180G dans la région 3' non codante) (Sanders et al., 2001).

Des travaux sur le variant Phe-142-Cys n'ont pas conclu à l'implication de ce polymorphisme sur la physiopathologie des troubles bipolaires (Bruss et al., 1999; Mundo et al., 2001) ou de la schizophrénie.

Certains polymorphismes de nucléotides simples ont pu être identifiés comme des facteurs de risques. En particulier, les polymorphismes G861C et C129T (substitutions silencieuses) sont reconnus pour leur lien avec des troubles psychiatriques tels que l'alcoolisme, les troubles de la personnalité, ainsi que dans les troubles dépressifs majeurs (Huang et al., 2003; Lowther et al., 1997).

Malgré la découverte d'un polymorphisme des récepteurs 5-HT_{1B} dans les populations de patients, des études de comparaisons impliquant les gènes variants en psychopathologie ont donné des résultats mitigés. Les différences dans les comportements agressifs observés chez les souris KO par rapport aux témoins ont conduit certains à spéculer que les altérations du gène du récepteur 5-HT_{1B} peuvent augmenter la susceptibilité d'un individu à un suicide violent (Bondy et al., 2006). L'allèle G861 a depuis été associé à des tentatives de suicide dans les troubles de la personnalité (New et al., 2001), bien que Arango et collaborateurs n'ont pas réussi à trouver un lien entre le polymorphisme G861C et le suicide (Arango et al., 2003).

c. Les récepteurs 5-HT_{2C}

Le gène codant pour le récepteur 5-HT_{2C} est localisé sur le chromosome Xq24 et comprend 458 acides aminés chez l'Homme, 459 chez la Souris, et 460 chez le Rat (Baxter et al., 1995; Berg et al., 2008; Leysen, 2004). Au moins 14 isoformes fonctionnelles du récepteur 5-HT_{2C} chez les mammifères ont été identifiées : elles sont le produit de

modifications post-translationnelles de l'ARNm du récepteur par l'adénine déaminase (Berg et al., 2008; Leysen, 2004).

1) Distribution

Les densités les plus élevées du récepteur 5-HT_{2C} chez l'Homme et le Rongeur sont retrouvées au niveau du plexus choroïde, alors qu'une distribution plus faible se retrouve dans le cortex cérébral, l'hippocampe, l'amygdale, le striatum et la substance noire (Baxter et al., 1995; Leysen, 2004; Lucas and Spampinato, 2000). Ces récepteurs sont localisés au niveau des neurones GABA, glutamates et dopaminergiques, où ils agissent comme hétérorécepteurs somatodendritiques (Baxter et al., 1995; Hoyer et al., 2002; Leysen, 2004). L'activation des récepteurs 5-HT_{2C} provoque une dépolarisation des neurones dans plusieurs régions cérébrales.

2) Couplage du récepteur 5-HT_{2C}

Le récepteur 5-HT_{2C} est couplé à une protéine G_q (Burns et al., 1997; Fitzgerald et al., 1999) qui stimule la cascade de la phospholipase C (PLC).

Chez le Rat, des études neurochimiques ont montré des effets inhibiteurs de la stimulation du récepteur 5-HT_{2C} sur la libération de dopamine et noradrénaline dans le striatum et le noyau accumbens (De Deurwaerdere and Spampinato, 1999; Fink and Gothert, 2007; Leysen, 2004; Lucas and Spampinato, 2000). D'autres études physiologiques et comportementales ont identifié que la stimulation du récepteur 5-HT_{2C} chez le Rongeur favorise la libération neuroendocrinienne (prolactine et ACTH), l'hyperthermie, l'hypophagie, les comportements locomoteurs (hypolocomotion et dyskinésie verbale), les comportements sexuels (Giorgetti and Tecott, 2004; Hoyer et al., 2002; Leysen, 2004). Ils contrôlent également certains comportements émotionnels (anxiogénèse) (Giorgetti and Tecott, 2004; Leysen, 2004) et de perception de la douleur (Kayser et al., 2007).

3) Les récepteurs 5-HT_{2C} dans les troubles anxio/dépressifs

a) *Le récepteur 5-HT_{2C} et l'anxiété/dépression*

Plusieurs études ont montré l'influence des récepteurs 5-HT_{2C} sur l'anxiété (Graeff et al., 1996; Iwamoto et al., 2009; Millan et al., 2003a). En effet, des agonistes tels que le RO600175, le WAY-163909, le méta-chlorophenylpiperazine (mCPP) induisent un phénotype anxieux (Griebel et al., 1997; Millan et al., 2003a). De plus, un effet anxiolytique est observé pour plusieurs antagonistes comme le SB206553 et le SB247853 (Griebel et al.,

1997; Martin et al., 2002; Millan et al., 2003a; Wood et al., 2001).

La localisation du récepteur 5-HT_{2C} dans les structures limbiques en fait une cible privilégiée dans l'étiologie et le traitement de la dépression. Il est intéressant de noter que le 5-HT_{2C} possède une densité et une fonction augmentées dans divers modèles animaux de dépression, mais également chez le patient (Fone et al., 1996; Heslop and Curzon, 1999; Iwamoto and Kato, 2003; Yang et al., 2004).

b) Outils génétiques

Les souris mutantes qui n'expriment pas le gène codant pour le récepteur 5-HT_{2C} (souris « Knock-out ») sont obèses et présentent des troubles du comportement alimentaire d'obésité, de cognition (Tecott et al., 1995), et une réponse comportementale élevée à la cocaïne (Rocha et al., 2002) avec une augmentation de l'activité locomotrice. Ces animaux sont sujets à des crises spontanées pouvant engendrer la mort, suggérant que ce type de récepteur est impliqué dans la médiation de l'inhibition tonique de l'excitabilité des réseaux neuronaux. L'hyperphagie observée chez ces animaux est très certainement une adaptation à la délétion constitutive du récepteur puisque les antagonistes ne reproduisent pas ces effets (Leysen, 2004; Tecott et al., 1995).

Il semblerait en outre que ces animaux expriment un phénotype comportemental peu anxieux. De plus, les souris KO pour le récepteur 5-HT_{2C} présentent une sensibilité élevée à la privation de sommeil, impliquant une participation active de ces récepteurs dans le rôle de la sérotonine sur le sommeil (Frank et al., 2002).

c) Traitements antidépresseurs

Il a été montré qu'en général, un traitement chronique d'ISRS (fluoxétine, clomipramine, paroxétine), diminue l'activité fonctionnelle des récepteurs 5-HT_{2C} chez le Rat et l'Homme (Bristow et al., 2000; Cowen, 1998; Kennett et al., 1994; Maes et al., 1997; Quested et al., 1997; Van Oekelen et al., 2003).

Par l'activation des interneurons GABAergiques (Millan et al., 2000; Stanford and Lacey, 1996), les récepteurs 5-HT_{2C} exercent une inhibition tonique sur l'activité du locus coeruleus qui innerve les structures corticolimbiques: ils inhibent également les neurones dopaminergiques innervant le cortex frontal (Di Giovanni et al., 1999; Di Giovanni et al., 2000; Gobert et al., 2000; Millan et al., 2000). Ces voies, qui exercent une influence favorable sur l'humeur et les fonctions cognitives, peuvent être déficientes dans les états dépressifs et leur activation est associée à des propriétés antidépresseurs (Andreoli et al., 2002; Goodwin, 1997; Payne et al., 2002). L'activation des projections dopaminergiques et adrénergiques

offre une piste intéressante pour les propriétés antidépressives des antagonistes des récepteurs 5-HT_{2C}.

d) Variations génétiques du récepteur 5-HT_{2C}

L'édition de l'ARN est un processus post-transcriptionnel dans lequel certaines des séquences de nucléotides de l'ARN sont modifiées par rapport à celles initialement encodées dans le génome, souvent avec des conséquences fonctionnelles importantes (Benne, 1996; Smith and Sowden, 1996). Le récepteur 5-HT_{2C} subit une édition pré-ARNm par des enzymes déaminases avec la possibilité de produire 14 isoformes différentes du récepteur (Burns et al., 1997; Fitzgerald et al., 1999). Cette réaction est catalysée par deux enzymes: l'adénosine désaminase ARN-dépendante 1 et 2 (ADAR1 et ADAR2) dans des sites désignés A, B, C', E, C et D, qui peuvent altérer la capacité du récepteur pour activer la PLC. Cette édition peut changer jusqu'à trois triplets de codons et a le potentiel de générer 24 isoformes de protéines différentes. Les modifications peuvent survenir sur 5 sites d'acides aminés 156, 158 et 160 de la forme non éditée « INI » (5-HT_{2C}-INI) à la forme appelée « VGV » (5-HT_{2C}-VGV) dans la région N-terminale de la deuxième boucle intracellulaire. Cette région est une sous région hautement conservée (motif « DRY ») présente dans de nombreux récepteurs couplés aux protéines G (Berg et al., 2001; Herrick-Davis et al., 1999) (Figure 10).

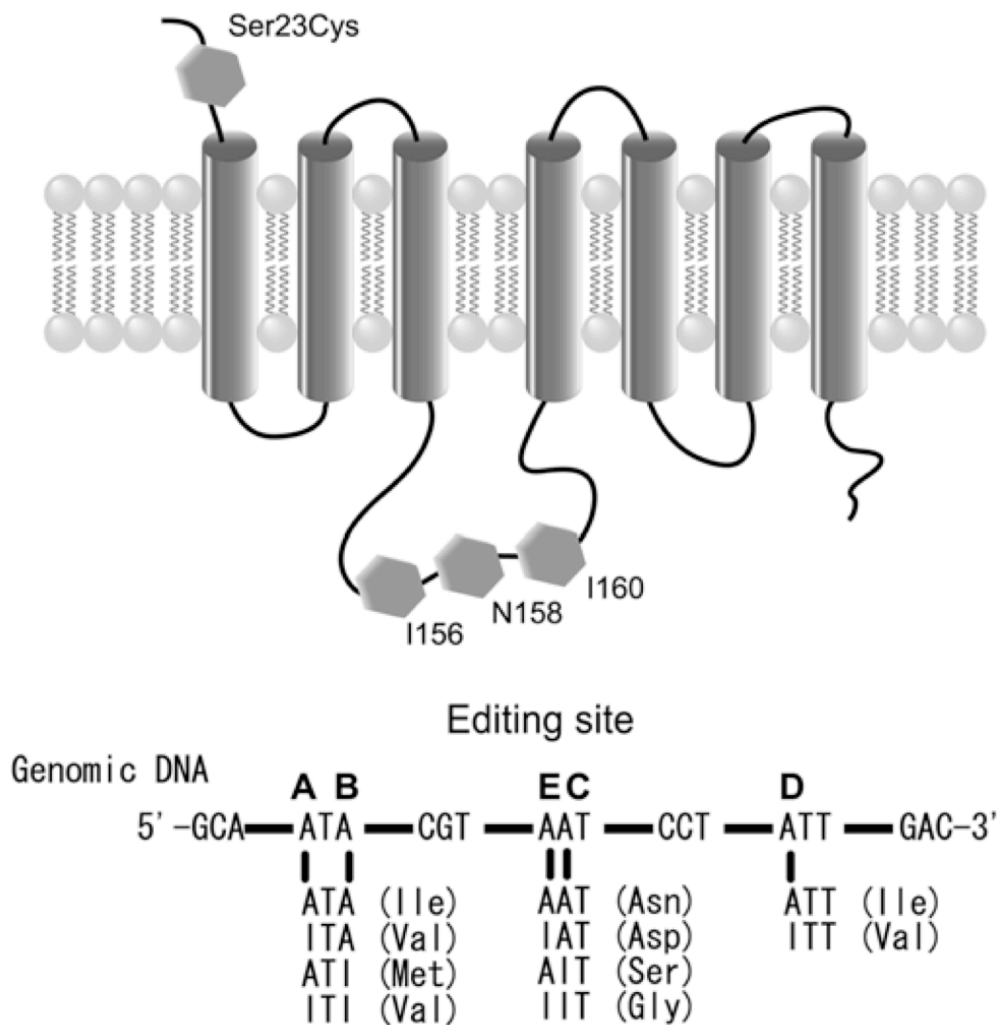


Figure 10 – Structure et édition de l'ARN du récepteur 5-HT_{2C}.

Le schéma supérieur représente le motif DRY du récepteur 5-HT_{2C}. La partie inférieure du schéma représente les sites possibles d'éditions de la séquence de l'ADN génomique. D'après (Iwamoto et al., 2009).

L'édition des ARNm du récepteur 5-HT_{2C} peut conduire à une diminution de 10 à 15 fois de l'efficacité de l'interaction avec la protéine G associée (Burns et al., 1997).

En particulier, l'édition de deux de ces sites (C' et C) est indispensable pour diminuer l'efficacité du récepteur à activer une protéine G (Niswender et al., 1999; Wang et al., 2000).

L'édition de l'ARN est impliquée dans la diminution de l'activité basale du récepteur, et de son affinité aux agonistes (comme RO60-0175) (Herrick-Davis et al., 1999). Gurevich et collaborateurs ont montré que chez les victimes de suicide ayant des antécédents de dépression majeure :

- l'édition du site C' était augmentée,
- l'édition du site D était diminuée

- l'édition du site C était augmentée.

Ces résultats indiquent une diminution globale de l'activité du récepteur 5-HT_{2C} chez les patients atteints de dépression (Gurevich et al., 2002).

Le traitement chronique à la fluoxétine chez la Souris induit des changements de l'édition des sites C', C et D. Ces résultats sont opposés aux éditions observées chez les victimes de suicide (Dracheva et al., 2008). En outre, une activation massive des récepteurs 5-HT_{2C} conduit à l'augmentation de l'édition des pré-ARNm dans les sites qui sont les moins efficaces pour générer le codage isoformes activateurs des protéines G (Gurevich et al., 2002).

3. Le transport de la sérotonine

a. Structure et fonctionnement du transporteur de la sérotonine

L'existence d'une activité de transport de la 5-HT a été démontrée pour la première fois sur la membrane des plaquettes sanguines (Hughes and Brodie, 1959; Weissbach et al., 1960).

Le clonage de l'ADNc du transporteur de la 5-HT (SERT ou 5-HTT) a été réalisé chez le Rat en utilisant une stratégie basée sur l'homologie de séquence avec le transporteur de la noradrénaline (Blakely et al., 1991). L'ADNc du 5-HTT a ensuite été cloné chez l'Homme (Lesch et al., 1993), et la Souris (Chang et al., 1996). L'homologie de séquence entre le SERT humain et celui du rat est de 92%, avec d'importantes différences dans la région N-terminale. L'homologie est de 94% entre le SERT humain et le SERT de Souris (Chang et al., 1996).

La structure du SERT comporte douze segments transmembranaires (TM) constitués de 25 acides aminés hydrophobes chacun et une grande boucle extracellulaire, entre les domaines transmembranaires 3 et 4, comportant des sites de N-glycosylation. Des sites de phosphorylation par les protéines kinases A et C sont également présents dans la séquence du 5-HTT (Torres et al., 2003). Il a d'ailleurs été montré que la phosphorylation de ces sites entraîne des modifications de l'affinité pour la 5-HT et de l'activité du 5-HTT.

La fixation de la 5-HT sur le transporteur nécessite un co-transport de sodium et de chlore pour assurer la formation d'un complexe quaternaire. Une fois ce complexe formé, un changement de conformation du transporteur permet à la 5-HT, au sodium et au chlore d'être transloqués de l'extérieur du neurone vers l'intérieur. Les études réalisées sur des fibroblastes surexprimant le SERT murin montrent que l'ion chlore facilite la fixation de la 5-HT tandis que l'ion sodium permet la translocation de la 5-HT fixée (Chang and Lam, 1998). Après la dissociation de la 5-HT, du sodium et du chlore du transporteur, le potassium intracellulaire

est transloqué de l'intérieur du neurone vers l'extérieur où il se dissocie du transporteur. Ce co-transport est un processus actif faisant intervenir une pompe Na^+/K^+ ATPase.

b. Distribution dans le système nerveux central

Dans le SNC, le transporteur de la 5-HT a été localisé spécifiquement dans les structures cérébrales riches en terminaisons neuronales sérotoninergiques (Aghajanian and Bloom, 1967). Le SERT est localisé dans la membrane plasmique des neurones sérotoninergiques, au niveau des varicosités, des corps cellulaires du NRD et des fibres axonales sérotoninergiques (Zhou et al., 1998). Le 5-HTT est également présent, mais a une densité moins élevée, au niveau de certaines couches de l'hippocampe (D'Amato et al., 1987; Habert et al., 1985; Qian et al., 1995).

Chez le Rat, la distribution du SERT, a été réalisée par des études d'autoradiographie quantitative en utilisant de la $[^3\text{H}]$ -paroxétine qui montrent une plus forte densité du transporteur sérotoninergique dans le noyau du raphé dorsal, les noyaux basolatéraux de l'amygdale et le cerveau médian (Hrdina et al., 1990).

Les études *post mortem* chez l'Homme en utilisant soit de la $[^3\text{H}]$ paroxétine, soit du $[^3\text{H}]$ citalopram montrent une distribution du SERT généralement similaire à celle trouvée chez le Rat (Cortes et al., 1988; Duncan et al., 1992), même si des différences régionales apparaissent entre les deux espèces.

Enfin, chez la Souris, la distribution du SERT dans le SNC observée à l'aide de coupes de cerveaux de souris incubées dans du $[^{125}\text{I}]\text{RTI-55}$ et en utilisant la technique d'hybridation *in situ* montrent que la plus grande densité d'ARNm codant pour le SERT est localisée dans le noyau du raphé médian (Bengel et al., 1997).

c. Pharmacologie du transporteur de la sérotonine

Le 5-HTT humain possède une affinité relativement élevée ($K_m = 460 \text{ nM}$) pour la 5-HT (Barker and Blakely, 1996). Les transporteurs sérotoninergiques sont la cible privilégiée d'antidépresseurs (i.e., clomipramine, fluoxétine), de médicaments anorexigènes (d-fenfluramine) et de certaines substances addictives [cocaïne, amphétamine et dérivés comme le 3,4-méthylénédioxyméthamphétamine (NMDA, ecstasy)]. Cependant, les antidépresseurs bloquent le phénomène de recapture du transporteur, mais les drogues comme l'amphétamine l'utilisent en mode inverse pour faire sortir la 5-HT de l'intérieur du neurone (terminaisons neuronales) vers la fente synaptique selon un processus Ca^{2+} dépendant. L'inhibition de la

capture de la 5-HT par un antidépresseur, est la conséquence d'une liaison compétitive de haute affinité de ce médicament avec un seul site du transporteur, empêchant la liaison de la 5-HT sur son site de reconnaissance (Olivier et al., 2000). Le fonctionnement de ces transporteurs de la 5-HT serait donc altéré dans de nombreuses maladies du SNC comme les troubles obsessionnels compulsifs, le trouble panique (Olivier et al., 2000) ou la dépression (Lesch, 2001).

d. Polymorphisme du SERT

Le gène codant pour le transporteur de la sérotonine est un gène candidat de choix pour la dépression, cette protéine étant la cible des antidépresseurs. L'allèle court (ou *s* pour short) du polymorphisme 5-HTTLPR, étudié comme facteur de risque génétique dans l'étude de Caspi et collaborateurs, diminue l'expression du transporteur de la sérotonine (mutation fonctionnelle), augmenterait le risque de dépression, et serait associé à moins de chance de réponse aux antidépresseurs. Dans leur cohorte, l'effet propre du génotype du polymorphisme 5-HTTLPR n'était pas significatif pour expliquer la dépression, alors que lorsque l'on limite les analyses aux sujets qui ont été récemment exposés à un stress majeur l'allèle *s* était fortement prédictif. En effet, les sujets porteurs d'une ou deux copies de l'allèle court du gène 5-HTT développent plus de symptômes dépressifs ou de syndromes dépressifs caractérisés ou encore de conduites suicidaires dans les suites d'événements de vie difficiles que les sujets homozygotes pour l'allèle long (allèle *l*) (Figure 11).

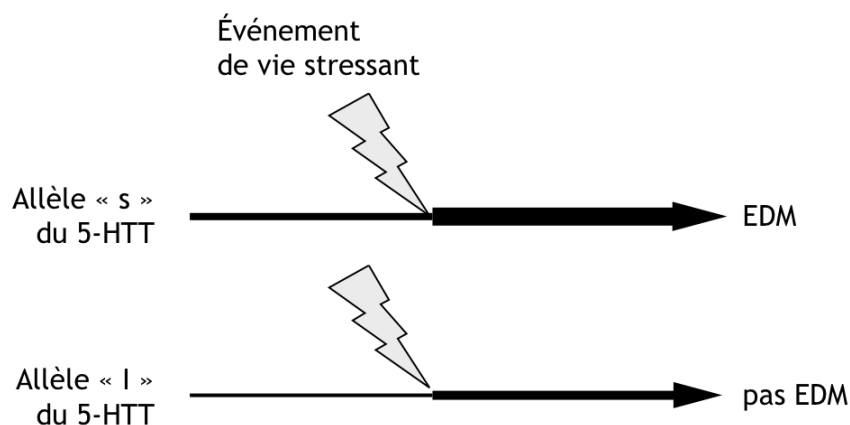


Figure 11 - Effet de la présence de l'allèle de vulnérabilité *s* du SERT.

Ici l'allèle court-s pour short du gène codant pour le transporteur de la sérotonine agit en synergie avec le facteur précipitant « événement de vie stressant » expliquant pourquoi certains individus subissent des épisodes dépressifs majeurs (EDM). D'après (Gorwood, 2009).

Cette interaction entre le gène *5-HTT* et les événements de vie difficiles dans le risque de dépression a été plusieurs fois répliquée mais avec quelques résultats négatifs. Une méta-analyse de ces études n'est pas favorable, mais à ce niveau de complexité (deux facteurs en jeu plus leur interaction), la réplication stable et homogène est peu attendue.

Il a été montré que les sujets porteurs de l'allèle court du *5-HTT* avaient plusieurs particularités qui pourraient permettre de comprendre cette vulnérabilité dépressive face aux événements de vie (Pezawas et al., 2005). En effet, à partir d'une IRM structurale et fonctionnelle réalisée chez plus de 200 sujets sains, cette étude a montré :

- des modifications anatomiques de l'amygdale et du cortex cingulaire,
- une interaction altérée entre certaines structures sous-corticales (complexe amygdalo-hippocampique) et corticales (préfrontale et cingulaire) essentielles dans la gestion des émotions,
- des modifications fonctionnelles du traitement de l'information (hyperactivation amygdalienne en situation d'anxiété).

Ces résultats proposent que les facteurs de vulnérabilité génétique ne peuvent coder pour une pathologie aussi complexe, un sous-type spécifique ou un niveau de sévérité.

INTRODUCTION

Chapitre II – Modélisation de la dépression chez
l'animal

II. Modélisation de la dépression chez l'animal

A. Définition d'un modèle animal de dépression

Le développement des modèles animaux est nécessaire pour saisir divers aspects de la pathologie humaine, comme les changements physiologiques ou comportementaux, mais aussi pour comprendre la dynamique des effets thérapeutiques.

Willner entre autres, a proposé certains critères à l'établissement d'un bon modèle animal de pathologie (Willner et al., 1992): les modèles devant répondre à une validité de face (isomorphisme), une validité prédictive (corrélation pharmacologiques) et une validité de construction (homologie et similitude dans les mécanismes neurobiologiques). L'idéal pour établir un modèle animal de pathologie humaine serait d'avoir comme fondement des causes et des symptômes identiques, et répondant aux mêmes traitements (Tableau 5). Les différentes approches en neuropsychiatrie peuvent être regroupées par une approche génétique, pharmacologique, comportementale, ou par lésions. Pour chaque approche, différentes méthodes d'études sont proposées, présentant chacune des forces et des faiblesses.

| General approach | Specific method | Strengths | Weaknesses |
|------------------------------------|---|--|---|
| Genetics | Selective breeding | Focus on phenotypes of interest | May produce a phenocopy of human disorder |
| | Random mutation and screening | Focus on phenotypes of interest | May produce a phenocopy of human disorder |
| | Transgenic animals (for example, knockouts, knockins, overexpression) | Recapitulates genetic abnormality in human disorder; focus on gene of interest | Variable penetrance of genetic abnormality in rodents Human relevance of phenotype may be difficult to establish |
| | Virally mediated gene delivery to brain | Spatial and temporal control over genetic change; focus on gene of interest | Does not recapitulate genetic cause of human disorder |
| Pharmacological | Administration of neurotransmitter agonist or antagonist | Temporal and some spatial (with intracranial delivery) control; focus on neurotransmitter system of interest | Lack of evidence that common mental disorders involve selective lesions of a single neurotransmitter system |
| Environmental | Chronic social stress (adult or during development) | May recapitulate risk factors in humans | Lack of specificity for a given human disorder |
| | Chronic physical stress | Easy to administer | Lack of construct validity for most human disorders |
| Electrical stimulation and lesions | Brain stimulation, including optogenetic approaches | Spatial and temporal control over neural circuit function; may recapitulate some findings in humans with DBS | Current limitations in knowledge of neural circuit abnormalities in human disorder |
| | Anatomical lesions | May produce behavioral abnormalities reminiscent of human disorder | Lack of evidence for anatomical lesions as cause of human disorder |

Tableau 5 – Différentes approches dans la construction d'un modèle animal en neuropsychiatrie.

D'après (Nestler and Hyman, 2010).

Concernant la dépression, il est difficile d'établir un bon modèle, puisque le diagnostic de la dépression majeure repose sur l'observation des comportements et des relations interpersonnelles. Un certain nombre de modèles de comportement ont cherché à explorer la dépression en manipulant les relations sociales chez les animaux. On peut évoquer

l'utilisation de la perturbation psychosociale comme facteur déclenchant du stress. Un exemple de cette approche est un stress chronique chez le mâle Tupaïa adulte (*Tupaia belangeri*) qui consiste à faire vivre un animal subordonné en présence d'un animal dominant, les deux étant séparés par une cloison vitrée perméable aux odeurs. Cette situation représente une condition valable pour étudier le comportement ainsi que les changements neurobiologiques et endocriniens qui sous-tendent l'évolution des troubles liés au stress et à la dépression (Fuchs and Flugge, 2002).

Il existe plusieurs tests permettant d'évaluer ainsi le phénotype du comportement de « résignation ou désespoir » (nommé abusivement « dépressif-like », comme le test de la nage forcée, celui de la suspension caudale, celui de la préférence au sucrose, etc.).

B. Modèle de comportements induits par des substances pharmacologiques

Les modèles animaux de dépression devraient prendre en compte le phénomène de cooccurrence entre les symptômes. Comme nous l'avons décrit par ailleurs, la comorbidité des troubles anxieux et dépressifs est importante.

La création et la validation des modèles animaux en psychiatrie ont été difficiles en raison de la difficulté de modéliser des symptômes.

Si les premiers modèles animaux étaient des modèles induits par des agents pharmacologiques, notamment par la réserpine (Goodwin et al., 1972) et l'oxotrémorine (Frances et al., 1980), ils ont rapidement laissé leur place à des modèles basés sur un stress aigu comme le test de la nage forcée développé initialement par Porsolt en 1977 (forced swim test, FST) (Porsolt et al., 1977), ou le test de suspension caudale (tail suspension test, TST) (Steru et al., 1985). Ces tests, plutôt que des modèles prédictifs d'un phénotype dépressif, sont des tests de criblage (développés ultérieurement dans la partie expérimentale). Dans le cas spécifique des modèles animaux des troubles psychiatriques chez le Rongeur, comme la dépression, il est souhaitable que le modèle induise des traits pathologiques mesurables à long terme.

Les premiers « véritables » modèles d'états dépressifs chez les animaux étaient construits sur des expériences de séparations maternelles infantiles chez les primates non humains (Jesberger and Richardson, 1985). Chez le Rongeur, le stress prénatal ainsi que la résignation acquise, le stress chronique et l'administration chronique de corticostérone seront développés dans cette partie. La lésion des bulbes olfactifs est volontairement délaissée

puisque même si ce modèle à un fort rationnel théorique, sa validité de construction reste éloignée de la pathologie humaine.

C. *Les modèles animaux de la dépression*

1. Les modèles fondés sur le stress

a. Résignation apprise

Certains types de dépression chez l'Homme apparaissent à la suite d'évènements stressant au cours de la vie. Dans cette perspective, des stress peuvent être appliqués chez le Rongeur. A l'heure actuelle, l'un des modèles les plus utilisés est le modèle de la résignation apprise. En effet, ce modèle consiste à soumettre l'animal à des chocs électriques imprédictibles (Frances et al., 1981; Hitzemann, 2000; O'Neil and Moore, 2003; Seligman and Maier, 1967; Willner, 1984).

Ce modèle peut induire des effets après 1 à 7 jours d'exposition à plusieurs chocs (Nestler et al., 2002b). La procédure la plus utilisée consiste à effectuer les chocs au niveau de la queue (Drugan et al., 1997; Grahn et al., 2000) ou au niveau des pattes, dans des cages adaptées (Chourbaji et al., 2005; Hajszan et al., 2009). Le comportement de résignation est évalué en analysant les performances des animaux dans un contexte où les animaux peuvent s'évader du choc électrique. Les animaux subissant ce type de stress présentent des altérations du sommeil (Adrien et al., 1991), du poids (Dess et al., 1988), une diminution des comportements sexuels (Dess et al., 1988), ainsi qu'un niveau élevé de corticostérone et de CRF (Greenberg et al., 1989).

Un traitement antidépresseur (Martin et al., 1987) réduit la latence chez les animaux, à échapper aux chocs électriques. Une quantité importante de molécules testées (benzodiazépines, amphétamine, caféine) ne permettent pas de contrer les effets induits par ce modèle, suggérant une sélectivité d'action des antidépresseurs (Takamori et al., 2001).

Malgré les avantages de ce modèle, il ne suffit pas à établir des symptômes « dépressif-like » après l'arrêt des chocs incontrôlables (Cryan et al., 2002). De plus, il existe une grande variabilité dans l'exécution de la procédure entre les laboratoires.

b. Stress chronique modéré imprédictible

Après l'observation chez l'animal qu'un unique stress répété peut provoquer un comportement d'adaptation, l'exposition à plusieurs stress dans un ordre « aléatoire » semble plus efficace. C'est dans ce but qu'a été initialement développé le stress chronique modéré (chronic mild stress, CMS) introduit par Katz (Katz, 1981; Katz et al., 1981), poursuit par

Willner (Willner et al., 1987). Le protocole initiale comprenait 3 semaines d'exposition à notamment, des chocs électriques, une immersion dans l'eau froide, des contentions, une alternance des cycles lumière/obscurité. Les effets notés étaient une augmentation des concentrations plasmatiques de corticostérone et une diminution de la préférence au sucrose (Katz, 1982), suggérant que le stress pouvait être à l'origine de l'anhédonie. Cette série de stressseurs sévères n'a pas été reconduite après les publications originales pour des raisons d'éthique. Par la suite, le CMS a été affiné afin d'obtenir les mêmes effets qu'avec la séquence originale en diminuant cependant l'intensité des stress (Monleon et al., 1995; Willner et al., 1992; Willner et al., 1987). Ces nouveaux stress comprennent des périodes sans eau ou nourriture, des changements de partenaires dans la cage de vie, des diminutions légères de températures. Les résultats obtenus vont dans le même sens que ceux obtenus avec la séquence originale, notamment une diminution de la consommation de saccharose (Pothion et al., 2004), et une dégradation de l'état du pelage (Mineur et al., 2003). Une autre variante de ce modèle est l'UCMS (unpredictable chronic mild stress) qui conserve l'exposition des animaux à divers événements stressant légers, mais inclue une séquence aléatoire des stressseurs appliqués, rendant la prédictibilité du protocole impossible à anticiper pour l'animal (Ducottet et al., 2003; Griebel et al., 2002; Willner, 2005). Un des avantages de cette procédure, est de conserver les altérations induites plusieurs semaines après l'arrêt de ce protocole. Ce modèle induit également des modifications retrouvées chez les patients dépressifs, comprenant une diminution du comportement exploratoire, sexuel, agressif, et de l'activité locomotrice. En opposition à ces résultats, ce modèle ne semble pas induire d'état anxieux (Mitchell and Redfern, 2005; Willner, 2005).

Les traitements chroniques aux tricycliques, ISRS, ISRN, IMAO permettent de contrer les effets de ce modèle sur la préférence au saccharose (Willner, 2005).

Ainsi, ce modèle possède une bonne validité prédictive, de face, et constructible. Par la nature du modèle, le CMS est actuellement le modèle le plus proche, en terme de contexte environnemental du développement de la dépression majeure chez l'Homme.

Ce modèle comporte en revanche deux inconvénients majeurs. Le premier, pratique, est la réalisation du protocole, chronophage et contraignant. Le second est la reproductibilité dans d'autres laboratoires, compte tenu des environnements et des séquences de stressseurs qui varient (Willner, 2005).

2. Modèles fondés sur les interactions sociales

Chez l'homme, la majorité des facteurs stressant sont d'origine sociale (Brown and Prudo, 1981), c'est pourquoi il est important pour l'étude de la dépression d'avoir un modèle animal construit sur des stress sociaux. Il existe plusieurs modélisations utilisant les interactions sociales chez le Rongeur (Tableau 6). Les modèles de défaite sociale et de séparation maternelle seront développés dans cette section.

| Modèle de stress social | Comportement | Réponse endocrine | Références |
|--|--|--|---|
| Isolation sociale | Hyperactivité | Sensibilité de la réponse de l'axe HPA au CRF | (Valzelli, 1973), (Flannelly and Lore, 1977), (Brain et al., 1979), (Serra et al., 2005) |
| Instabilité sociale | Diminution d'auto administration d'amphétamine et de la locomotion induite par les amphétamines | Hyperactivité de l'axe HPA | (Bronson, 1979; Maccari et al., 1991), (Lemaire et al., 1994), (Lemaire et al., 1997) |
| Séparation maternelle brève | Augmentation des performances dans le Morris water Maze Augmentation de l'activité dans un nouvel environnement | Augmentation des ARNm des récepteurs aux glucocorticoïdes Protection de l'hypercorticotéronémie par de futurs stress | (Levine, 1957), (Rosenfeld et al., 1992), (Plotsky and Meaney, 1993), (Meaney et al., 1996), (Ladd et al., 1996), (Zaharia et al., 1996), (Caldji et al., 2000) |
| Séparation maternelle prolongée | Diminution des performances dans le Morris Water Maze Diminution de l'activité dans un nouvel environnement | Diminution des ARNm des récepteurs aux glucocorticoïdes Augmentation basale de corticostérone et en réponse au stress Ulcères gastriques et réponse d'hypothermie aux stress environnementaux. | (Ackerman et al., 1978), (Meaney et al., 1996), (Caldji et al., 2000) |
| Défaites sociales brèves ou prolongées | Induction de tolérances aux effets analgésiques des opiacés Induction d'une sensibilité comportementale aux drogues psychostimulantes | Libération de dopamine dans les structures mésocorticolimbiques Aucune adaptation de la réponse de l'axe HPA | (Miczek and Yoshimura, 1982), (Tidey and Miczek, 1996), (Covington and Miczek, 2001) |
| Subordination chronique | Suppression de la réponse immunitaire Diminution de l'activité Diminution de la motivation | Hypertrophie des glandes surrénales | (Brain, 1972; Davis and Christian, 1957), (Raab et al., 1986), (Bohus et al., 1993), (Blanchard et al., 1995), (Rygula et al., 2005) |

Tableau 6 – Effets comportementaux et neuro-endocriniens de différents modèles de stress sociaux.

Adapté d'après (Miczek et al., 2008).

Quel que soit le modèle d'interactions sociales, il est intéressant de noter que l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien (HPA) est grandement affecté (Tableau 6). Cependant, en fonction du stress social appliqué, les conséquences comportementales peuvent varier.

a. Défaite sociale

La défaite sociale est un modèle animal développé sur le stress induit par la rencontre entre deux mâles chez la Souris ou le Rat (Berton et al., 2006; Krishnan et al., 2007; Tsankova et al., 2006). En effet, un mâle est introduit dans le territoire d'un autre mâle

agressif. L'intrus est rapidement attaqué et battu par le résident. Afin de favoriser le conflit, le résident est choisi pour son niveau d'agressivité et sa taille. Il est généralement issu d'une souche connue pour avoir un haut niveau d'agressivité (Buwalda et al., 2005). Après plusieurs minutes d'interactions entre les animaux, le résident et l'intrus sont séparés par une plaque en plastique transparent, perméable aux odeurs. Ainsi, le sujet de l'expérience est en permanence exposé à la présence visuelle, olfactive et auditive de l'agresseur pendant 24 heures. Pendant plusieurs jours, l'animal étudié est quotidiennement exposé à un nouvel agresseur (Berton et al., 2006; Krishnan et al., 2007; Tsankova et al., 2006). Ce modèle permet d'établir une diminution des interactions sociales, une anhédonie (Von Frijtag et al., 2000), accompagnées de modifications endocriniennes, physiologiques et neurobiologiques, mimant les symptômes observés chez l'Homme (Buwalda et al., 2005).

Un traitement aux antidépresseurs, plus précisément la clomipramine (Fuchs et coll., 1996), l'imipramine et la fluoxétine (Berton et al., 2006; Krishnan et al., 2007; Tsankova et al., 2006) peut prévenir les effets induits par ce modèle. Seul un traitement chronique peut induire ces changements (Cryan and Slattery, 2007).

Un inconvénient majeur de ce modèle en dépit d'une bonne validité prédictive, est la nécessité d'une exposition d'au moins trois semaines pour obtenir un phénotype dépressif puisqu'une exposition courte induit un phénotype anxieux. De plus, ce modèle n'est effectif que chez les individus mâles, jouant sur l'instinct de dominance territoriale, prépondérant chez les rongeurs mâles (Bjorkqvist, 2001).

b. Modèle de séparation maternelle

Dans ce modèle, la mère est séparée de ses petits pendant des périodes désignées entre la première et la troisième semaine postnatale. Cette procédure induit deux éléments : les petits sont privés de soins maternels pendant une période critique pour le développement physique et émotionnel. De plus, le comportement maternel devient inadapté en raison des privations. Il a été montré que la séparation maternelle favorise l'anxiété et les comportements de type dépressif chez le Rat (Finamore and Port, 2000). Seule une isolation prolongée (3 à 4 heures par jour) permet d'induire des comportements dépressifs chez les petits dans leur vie adulte, en comparaison à de courtes séparations (15 minutes par jour).

Au niveau central, des modifications de l'axe HPA, des systèmes monoaminergiques et opioïdes (Dent et al., 2001; Kehoe and Blass, 1986) ont été notées.

Ce modèle est intéressant pour étudier l'impact des événements stressant au début de la vie d'un individu, sur l'apparition de psychopathologies à l'âge adulte. Plus particulièrement, il a été proposé une hypersensibilité des récepteurs aux glucocorticoïdes, et une réduction des fonctions de l'hippocampe à répondre aux effets d'un stress à l'âge adulte (Mirescu et al., 2004).

3. Modèle d'injections chroniques de corticostérone

Comme nous l'avons vu précédemment, les stress sociaux ou le stress chronique induisent des perturbations de l'axe HPA chez le rongeur. Cela se matérialise par une augmentation des concentrations plasmatiques en glucocorticoïdes (corticostérone). Ainsi, le modèle développé à partir de l'augmentation des concentrations en glucocorticoïdes par l'apport de corticostérone exogène (CORT) soit par injection sous-cutanée, pompe osmotique ou plus simplement par l'intermédiaire de l'eau de boisson ou dans la nourriture, permet d'étudier directement l'influence des glucocorticoïdes sur le développement d'un trouble anxieux (Tableau 7).

La littérature indique un grand nombre d'études sur les effets de l'administration de CORT dans de nombreux paradigmes comportementaux associés à la dépression (Tableau 7).

| Symptôme | Chez l'homme | Références | Chez l'animal | CORT Dose/durée | Méthode administ. | Espèce/sexe | Références |
|------------|---|---|---|----------------------------|-------------------------|-----------------------|-------------------------------|
| Dépression | Humeur dépressive Diminution d'énergie Sentiments d'inutilité et de désespoir | American Psychiatric Association (2001) Buchwald et Rudick-Davis (1993) Nemeroff (1998) Nestler et coll. (2002a) | ↑Immobilité dans le FST ↓ Toilettage | 40 kg/kg; 26 jours | injection s.c. | Rat SD; F | Brummelte et coll. (2006) |
| | | | | 40 kg/kg; 21 jours | injection s.c. | LE rat; M | Gregus et coll. (2005) |
| | | | | 20 kg/kg; 20 jours | injection s.c. | LE rat; M&F | Hill et coll. (2003) |
| | | | | 10–40 kg/kg; 21 jours | injection s.c. | LE rat; M | Johnson et coll. (2006) |
| | | | | 40 kg/kg; 21 jours | injection s.c. | LE rat; M&F | Kalynchuk et coll. (2004) |
| | | | | 40 kg/kg; 21 jours | injection s.c. | LE rat; M | Marks et coll. (2009) |
| | | | | 20 kg/kg; 3 et 5 semaines | injection s.c. | C57BL/6 N souris; M | Zhao et coll. (2008b,c) |
| | | | | 35 µg/ml; 4 semaines | Eau de boisson | C57BL/6Ntac souris; M | David et coll. (2009) |
| | | | | 25 or 100 µg/ml; 14 jours | Eau de boisson | C57BL/ 6 souris; M | Gourley et coll. (2008a) |
| | | | | 40 kg/kg; 7–28 jours | s.c. pompe | CD1 souris M | Murray et coll. (2008) |
| | | | | 35 µg/ml; 4 Semaines | Eau de boisson | C57BL/6Ntac souris M | David et coll. (2009) |
| | Anhédonie (perte d'intérêt et de plaisir) | American Psychiatric Association (2001) Buchwald et Rudick-Davis (1993) Nemeroff (1998) Nestler et coll. (2002a) | ↓Préférence Sucrose | 50 kg/kg; 14 jours | injection s.c. | LE rat; M | Gorzalka et coll. (2003) |
| | | | | 35 µg/ml; 4 semaines | Eau de boisson | C57BL/6Ntac Souris; M | David et coll. (2009) |
| | | | | 25 µg/ml; 14 jours | Eau de boisson | C57BL/6 Souris; M | Gourley et coll. (2008a) |
| | | | ↓Réponse à la récompense | 25 µg/ml; 14 jours | Eau de boisson | C57BL/6 J Souris; M | Gourley et coll. (2008a,b) |
| | | | ↓Comportement sexuel | 20 kg/kg; 14 jours | injection s.c. | LE rat; M | Gorzalka et coll. (1999) |
| | | | | 20 kg/kg; 10 jours | injection s.c. | LE rat; M | Gorzalka et coll. (2001) |
| | | | | 50 kg/kg; 10 jours | injection s.c. | Rat W; M | Gorzalka et Hanson (1998) |
| | Altérations du poids | American Psychiatric Association (2001) Buchwald et Rudick-Davis (1993) Nestler et coll. (2002a) | ↓Gain de poids | 40 kg/kg; 26 jours | injection s.c. | Rat SD; F Dams | Brummelte et coll. (2006) |
| | | | | 26.8 kg/kg; 21 or 56 jours | injection s.c. | Rat SD; M | Coburn-Litvak et coll. (2003) |
| | | | | 40 kg/kg; 21 jours | injection s.c. | LE rat; M | Gregus et coll. (2005) |
| | | | | 40 kg/kg; 21 jours | injection s.c. | LE rat; M | Johnson et coll. (2006) |
| | | | | 25 mg/kg; 4 semaines | injection s.c. | Rat W; M | Pego et coll. (2008) |
| | | | | 35 µg/ml; 4 semaines | Eau de boisson | C57BL/6Ntac Souris; M | David et coll. (2009) |
| | | | | 100 mg /65.2 mg; 7 jours | Implantation pompe s.c. | LH rat; M | Bush et coll. (2003) |
| | | | | 35% implant | Implantation pompe s.c. | Rat W; M | Meijer et coll. (1997) |
| Anxiété | Comorbidité avec des troubles anxieux | Hirschfeld (2001) Kessler et coll. (1996) | ↑Comportement défensif | 40 mg/kg; 21 jours | injection s.c. | LE rat; M | Kalynchuk et coll. (2004) |
| | | | ↓Temps dans les bras ouverts EPM | 40 mg/kg; 19 jours | injection s.c. | Rat SD; M | Lee et coll. (2009) |
| | | | | 25 mg/kg; 4 semaines | injection s.c. | Rat W; M | Pego et coll. (2008) |
| | | | | 15or30µg; 5 jours | Implantation pompe s.c. | Fischer 344 rat; M | Myers et coll. (2007) |
| | | | | 30 µg; 7 jours | Implantation pompe s.c. | Rat W; M | Shepard et coll. (2000) |
| | | | ↓Temps dans le centre de l'OF | 5 or 20 mg/kg; 25 jours | injection s.c. | Rat W; M | Skorzevska et coll. (2006) |
| | | | | 35 µg/ml; 4 semaines | Eau de boisson | C57BL/6Ntac Souris; M | David et coll. (2009) |
| | | | ↑Comportement échapatoir | 4–35 mg/kg; 3 jours | ? | ? | Stone et coll. (1988) |
| | | | ↑Freezing dans le CFC | 5 or 20 mg/kg; 25 jours | injection s.c. | Rat W; M | Skorzevska et coll. (2006) |
| | | | | 5 mg/kg; 5.5 jours | injection s.c. | Rat SD; M | Thompson et coll. (2004) |
| | | | | 400 µg/ml; 21 jours | Eau de boisson | Rat SD; M | Conrad et coll. (2004) |
| | | | ↑Latence à se nourrir dans le NSF | 35 µg/ml; 4 semaines | Eau de boisson | C57BL/6Ntac Souris; M | David et coll. (2009) |
| | | | ↓Temps passé dans la zone éclairée du LD | 40 mg/kg; 21–28 jours | Implantation pompe s.c. | CD1 souris; M | Murray et coll. (2008) |

| Symptôme | Chez l'homme | Références | Chez l'animal | CORT Dose/durée | Méthode administ. | Espèce/sexe | Références |
|-------------------------|--|---|--|-------------------------------|-------------------------|------------------------|---------------------------------|
| Cognition et mémoire | Diminution des performances de mémoire spatiale et de la mémoire exécutive | American Psychiatric Association (2001) Austin et coll. (2001) Castaneda et coll. (2008) Fleming et coll. (2004) Taylor Tavares et coll. (2007) Veiel (1997) Zakzanis et coll. (1998) | ↓ Alternances spontanées dans le labyrinthe en T | 10 mg/kg; 8 semaines | injection s.c. | LE rat; M | Bardgett et coll. (1994) |
| | | | ↓ Apprentissage inversé; MWM | 25 mg/kg; 4 semaines | injection s.c. | Rat W; M | Cerqueira et coll. (2005) |
| | | | ↓ Temps dans le nouveau bras du labyrinthe en Y | 26.8 mg/kg; 56 jours | injection s.c. | Rat SD; M | Coburn-Litvak et coll. (2003) |
| | | | ↑ Erreurs dans le labyrinthe de Barnes | 26.8 mg/kg; 21 jours | injection s.c. | Rat SD; M | Coburn-Litvak et coll. (2003) |
| | | | | 5 mg/kg; 21 jours | injection s.c. | Rat W; M | Trofimiuk et Braszko (2008) |
| | | | | 5 mg/kg; 21 jours | injection s.c. | ? | Walesiuk et Braszko (2009) |
| | | | ↓ Apprentissage de place / ↑ Latence à trouver la plateforme ; MWM | 40 mg/kg; 4 semaines | injection s.c. | Rat W; M | Sousa et coll. (2000) |
| | | | | 5 mg/kg; 21 jours | injection s.c. | Rat W; M | Walesiuk et Braszko (2009) |
| | | | | 43–27 µl/dl; 3 mois | Implantation pompe s.c. | LE rat; M | Bodnoff et coll. (1995) |
| | | | Altérations de l'acquisition / ↑ erreurs dans le RAM | 150 mg; 80 jours | Implantation pompe s.c. | Fischer 344xBN rat; M | McLay et coll. (1998) |
| | | | | 1 mg/0.2 ml; 40 jours | injection s.c. | C57BL/6CrSlc souris; M | He et coll. (2008) |
| | | | | 3, 300 mg 21 jours | Implantation pompe s.c. | Fischer 344 rat; M | Arbel et coll. (1994) |
| | | | | Libération 600 mg; 9 semaines | Implantation pompe s.c. | Fischer 344 rat; M | Dachir et coll. (1993 ; 1997) |
| | | | 300 mg; 12 semaines | Implantation pompe s.c. | W1 rat; M | Endo et coll. (1996) | Walesiuk et coll. (2005) |
| | | | | | | | |
| | | | ↓ Exploration d'un nouvel objet dans l'ORT | 5 mg/kg; 21 jours | injection s.c. | Rat W; M | Walesiuk et coll. (2005) |
| Anomalies structurelles | ↓ Volume de l'hippocampe | Caetano et coll. (2004) Drevets (2000, 2001) Frodl et coll. (2004) Frodl et coll. (2006) Jaracz (2008) Konarski et coll. (2008) Lorenzetti et coll. (2009) MacQueen et coll. (2003) Sheline et coll. (2003) | ↓ Neurogenèse / prolifération cellulaire | 40 mg/kg; 21 jours | injection s.c. | Rat W; M | Hellesten et coll. (2002) |
| | | | | 40 mg/kg; 5 jours | injection s.c. | LH rat; M | Karishma et Herbert (2002) |
| | | | | 10 mg/kg; 21 jours | injection s.c. | Rat W; M | Mayer et coll. (2006) |
| | | | | 35 µg/ml; 4 semaines | Eau de boisson | C57BL/6Ntac Souris; M | David et coll. (2009) |
| | | | | 75 mg implant | Implantation pompe s.c. | LH et Rat SD; M | Alahmed et Herbert (2008) |
| | | | | 30% implant | Implantation pompe s.c. | LH rat; M | Huang et Herbert (2006) |
| | | | | 5 mg; 14 jours | Implantation pompe s.c. | CD1 souris; M | Murray et coll. (2008) |
| | | | Mort cellulaire | 10 mg/kg; 12 semaines | injection s.c. | LE rat; M | Clark et coll. (1995) |
| | | | | 5 mg/kg; 2 semaines et 3 mois | injection s.c. | Fisher 344 rat; M | Sapolsky et coll. (1985) |
| | | | | 10–40 mg/kg; 30–180 jours | injection s.c. | Rat W; M | Sousa et coll. (1998) |
| | | | Atrophie dendritique | 40 mg/kg; 4 semaines | injection s.c. | Rat W; M | Sousa et coll. (2000) |
| | | | | 40 mg/kg; 21 jours | injection s.c. | Rat SD; M | Watanabe et coll. (1992a) |
| | | | | 10 mg/kg; 21 jours | injection s.c. | Rat SD; M | Woolley et coll. (1990) |
| | | | | 400 µg/ml; 21 jours | Eau de boisson | Rat SD; M | Magarinos et coll. (1998) |
| | | | | 400 µg/ml; 5 semaines | Eau de boisson | Rat SD; M | Magarinos et coll. (1999) |
| | | | ↓ synapses fibres moussues | 40 mg/kg; 4 semaines | injection s.c. | Rat W; M | Sousa et coll. (2000) |
| | | | | 40 mg/kg; 60 jours | injection s.c. | Rat SD; M | Tata et coll. (2006) |
| | | | | | | | |
| | ↓ volume PFC | Drevets, 2000 | Atrophie dendritique | 25 mg/kg; 4 semaines | injection s.c. | Rat W; M | Cerqueira et coll. (2005; 2007) |
| | | Drevets, 2001 | | 40 mg/kg; 3 semaines | injection s.c. | Rat SD; M | Seib et Wellman (2003) |
| | | Jaracz, 2008 | | 40 mg/kg; 3 semaines | injection s.c. | Rat SD; M | Wellman (2001) |

| | | Konarski et coll. (2008) Lorenzetti et coll. (2009) | ↓Cellules gliales | 10 mg/kg; 15 jours | injection s.c. | Rat SD; M | Alonso, 2000 |
|--------------------------|-----------------------|---|--------------------------|---------------------------|--------------------|-----------------------|--------------------------|
| | ↑Volume de l'amygdale | | Hypertrophie dendritique | 10 mg/kg; 1 or 10 jours | injection s.c. | Rat W; M | Mitra et Sapolsky (2008) |
| Symptôme | Chez l'homme | Références | Chez l'animal | CORT Dose/durée | Méthode administ. | Espèce/sexe | Références |
| Anormalités moléculaires | ↓BDNF | Dwivedi et coll. (2003) Karege et coll. (2002) Karege et coll. (2005) Sen et coll. (2008) Shimizu et coll. (2003) | ↓BDNF | 32 mg/kg; 21 jours | injection s.c. | Rat W; M | Jacobsen et Mork (2006) |
| | | | | 40 mg/2 ml/kg; 10 jours | injection s.c. | Rat W; M | Nitta et coll. (1997) |
| | | | | 100 mg; 21 jours | Implantation pompe | Rat SD; M | Dwivedi et coll. (2006) |
| | ↓CREB | Dowlatsahi et coll. (1998) | ↓CREB | 25 or 100 ug/ml; 14 jours | Eau de boisson | C57BL/6Ntac Souris; M | Gourley et coll. (2008a) |
| | ↓Reelin | Fatemi et coll. (2000) Knable et coll. (2004) | ↓Reelin | 40 mg/kg; 21 jours | injection s.c. | LE rat; M | Lussier et coll. (2009) |

Tableau 7 – Similarités des conséquences entre l'administration de CORT et les manifestations humaines de la dépression.

CFC: Peur contextuelle conditionnée ; EPM: Elevated plus maze; FST: Forced swim test; LD: light/dark; MWM: Morris water maze; NSF: novelty suppressed feeding test; OF: open field test; ORT: Test de reconnaissance d'objet; RAM: radial arm maze; BN: Brown Norway; LE: Long Evans; SD: Sprague Dawley; W: Wistar; WI: Wistar–Imamichi; M: male; F: femelle; s.c.: sous cutanée. Adapté d'après (Sterner and Kalynchuk, 2010).

En outre, l'administration répétée de CORT semble inhiber le comportement sexuel (Gorzalka et al., 2001), provoque une diminution de la prise de saccharose (Gorzalka et al., 2003; Gourley et al., 2009), mais également une diminution de la réponse à un renforcement alimentaire (Gourley et al., 2008) ainsi que du toilettage (David et al., 2009), tous ces paramètres étant indicateurs d'une anhédonie. En plus de l'anhédonie apparente, il apparaît que les animaux développent un phénotype anxio/dépressif à travers l'évaluation comportementale dans le labyrinthe en croix surélevée (Pego et al., 2008), le « light/dark » (Murray et al., 2008), le test d'odeur de prédateur (Kalynchuk et al., 2004), les tests de comportements échappatoires, ou encore dans le paradigme de la nouveauté supprimant la faim, et le test du champ ouvert (David et al., 2009; Gregus et al., 2005; Skorzewska et al., 2006). L'apparition de la dépression sans phénotype anxieux est rarement référencée chez les patients (Mineka et al., 1998), ce qui renforce les résultats obtenus par ce modèle. D'autres paramètres physiologiques indicateurs dans la dépression sont également altérés, notamment la dérégulation des fonctions l'axe HPA ainsi que du poids des glandes surrénales (Bush et al., 2003; Murray et al., 2008). En outre, la majorité des comportements induits par ce modèle est corrigée par l'administration chronique d'antidépresseurs (Ago et al., 2008; David et al., 2009; Rainer et al., 2011 - Article 2), supportant la validité prédictive de modèle préclinique de la dépression humaine.

Au delà des modifications comportementales induites par l'administration chronique de CORT, ce modèle provoque également des modifications structurales liées à la plasticité. Ces changements sont accompagnés de déficit d'apprentissage et de mémoire (McEwen, 2000; McEwen, 2007; Southwick et al., 2005). Plusieurs études ont pu mettre en évidence que les atteintes de la plasticité se localisent dans les régions cérébrales clefs impliquées dans la dépression. En effet, il a été observé un remodelage dendritique induit par la CORT dans l'hippocampe (Magarinos et al., 1999; Magarinos et al., 1998; Southwick et al., 2005; Watanabe et al., 1992), l'amygdale (Mitra and Sapolsky, 2008), et le cortex préfrontal (Seib and Wellman, 2003). Ces résultats sont également retrouvés après des études *post mortem* de patients souffrant de dépression (Konarski et al., 2008). En particulier, il est connu que l'exposition prolongée à la CORT induit une atrophie dendritique des cellules pyramidales de l'hippocampe, et une perte de volume des dendrites apicaux des régions CA3 et CA1 (Magarinos et al., 1999; Magarinos et al., 1998; Sousa et al., 2000). Bien que ces effets soient souvent réversibles après l'arrêt du stress (McEwen, 1999; McEwen and Olie, 2005; Pittenger and Duman, 2008; Sousa et al., 2000), une dose ou une période d'administration de CORT

suffisamment élevée peut conduire à la mort cellulaire. De la même façon, l'atrophie relevée dans le cortex préfrontal qui apparaît dans ce modèle, implique une réorganisation de l'arborisation des neurones de la couche II-III (Wellman, 2001), et une diminution de la prolifération des cellules gliales et endothéliales (Alonso, 2000). En opposition aux observations cellulaires de l'hippocampe et du cortex préfrontal, une hypertrophie dendritique est constatée au niveau de l'amygdale (Mitra and Sapolsky, 2008).

Une autre forme d'altération structurale de la plasticité associée à la dépression concerne la diminution du processus de prolifération cellulaire et de la neurogenèse dans l'hippocampe. (David et al., 2009; Malberg et al., 2000). En plus de l'administration chronique de CORT, plusieurs modèles fondés sur le stress provoquent une diminution de la prolifération et de la survie cellulaire dans le cerveau de rongeurs adultes (David et al., 2009; Sapolsky, 2004; Wong and Herbert, 2005; Wong and Herbert, 2006). Ces observations sur la plasticité neuronale s'intègrent dans l'une des plus courantes hypothèses de l'étiologie de la dépression, stipulant qu'une altération de la neurogenèse hippocampique résulte de l'apparition d'un épisode dépressif (Duman et al., 2000; Jacobs et al., 2000).

L'administration de CORT chez l'Animal et chez l'Homme est associée à une réduction du facteur de transcription de l'élément de réponse liant l'AMPc (CREB; (Gourley et al., 2008; Pittenger and Duman, 2008)). Fait intéressant, l'activation de CREB induit la neurogenèse alors que son inhibition la réduit (Nakagawa et al., 2002), faisant de CREB un acteur important de la stabilité neuronale associée au stress et à la dépression. Entre autres, CREB contrôle des gènes effecteurs, eux aussi impliqués dans la stabilité de la plasticité synaptique. L'un de ces gènes est celui codant pour le « brain derived neurotrophic factor » (BDNF), qui joue un rôle critique sur la plasticité dans le développement, dans la survie et la fonction des neurones (Pittenger and Duman, 2008). Chez l'animal, l'exposition aux glucocorticoïdes altère aussi bien CREB que le BDNF dans les régions limbiques (Gourley et al., 2008; Jacobsen and Mork, 2006), également chez les patients atteints de dépression (Dowlathshahi et al., 1998; Dwivedi et al., 2003; Karege et al., 2002; Sen et al., 2008; Shimizu et al., 2003).

Il faut garder à l'esprit que toute modélisation animale d'une pathologie psychiatrique humaine possède ses limites. En effet, le modèle animal fondé sur l'administration chronique de corticostérone n'est pas une simulation « réaliste » de la pathologie humaine. Toutefois, il permet de reproduire des altérations comportementales et neurobiologiques semblables à celles observées dans la pathologie humaine. En outre, ce parallèle se poursuit dans la réponse

aux traitements antidépresseurs.

INTRODUCTION

Chapitre III – L'axe Hypothalamo-hypophyso-surrénalien

III. L'axe Hypothalamo-hypophyso-surrénalien

L'axe Hypothalamo-hypophyso-surrénalien, abrégé sous l'acronyme HPA (pour « Hypothalamo-pituitary axis ») est la voie finale commune à tous les circuits centraux activés lors d'un stress. L'hypothalamus est la structure qui réalise le lien entre système nerveux et système endocrinien grâce à ses projections vers l'hypophyse. L'hypothalamus va recevoir des connexions directes et indirectes de l'ensemble du système nerveux central. Cette position privilégiée lui permet d'intégrer une multitude d'informations de sources variées ce qui lui donne une place idéale pour remplir un rôle d'« homéostat », un thermostat de l'homéostasie, de régulateur et d'horloge biologique.

A. *Physiologie de l'axe HPA*

a. En condition basale

Les glucocorticoïdes (GC) (le cortisol chez l'humain ou la corticostérone chez le rongeur) sont les hormones effectrices de l'axe HPA. Leur libération normale dans le sang est faite de manière circadienne. Le cycle est génétiquement déterminé et synchronisé par la lumière en fonction de la période d'activité de l'espèce. Les espèces diurnes présentent, en condition normale, une concentration plasmatique maximale entre 6h et 8h (50 à 150 µg/ml chez l'humain), qui peut atteindre, en fonction des espèces, 1 à 5 fois la valeur minimale (Sorrells et al., 2009; Weitzman et al., 1971). Chez les espèces diurnes, la concentration en GC diminue en milieu d'après-midi pour être au plus bas dans la première moitié de la nuit (vers minuit 20 µg/ml chez l'humain) (Dallman, 2005; Keller-Wood et al., 1984), alors que chez les espèces nocturnes, comme les rongeurs, le pic se situe pendant la nuit (Dallman et al., 1978).

En condition basale, les neurones parvocellulaires du noyau paraventriculaire de l'hypothalamus (NPV) libèrent deux neuropeptides : la « corticotropin-releasing hormone » (CRH), et « l'arginine- vasopressine » (AVP), au niveau de l'éminence médiane dans le système porte hypothalamo-hypophysaire (Ixart et al., 1991). Ils agissent au niveau des cellules corticotropes de l'antéhypophyse et induisent la libération « d'adrenocorticotropie hormone » (ACTH). L'ACTH est libérée dans la circulation sanguine pour agir au niveau du cortex de la surrénale stimulant alors la sécrétion et la libération de glucocorticoïdes (GC) (Figure 12).

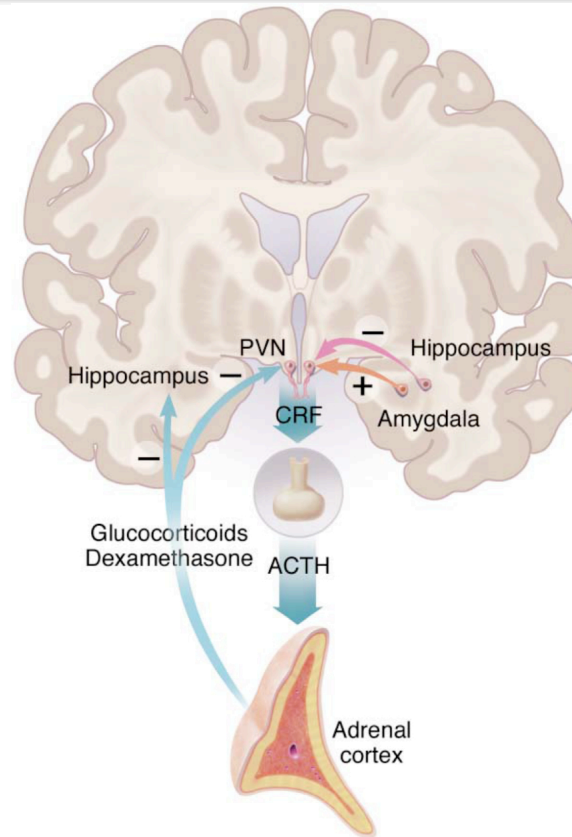


Figure 12 - Fonctionnement de l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien.

Les neurones à « cortico releasing factor » (CRF) du PVN (paraventricular nucleus) intègrent l'information liée au stress. Les entrées neuronales incluent des afférences excitatrices de l'amygdale et inhibitrices de l'hippocampe. D'autres entrées importantes peuvent provenir de la voie monoaminergique ascendante (non indiqué). Le CRF est libéré par ces neurones dans le système porte hypophysaire et agit sur ses récepteurs de l'hypophyse antérieure ; leur activation entraîne la libération d'adrénocorticotrophine (ACTH). Celle-ci atteint le cortex surrénalien par voie sanguine, où elle stimule la libération de glucocorticoïdes. Parmi leurs nombreuses fonctions, les glucocorticoïdes répriment la synthèse et la libération de CRF et d'ACTH directement au niveau de l'hypothalamus et de l'hypophyse mais aussi au niveau corticolimbique (hippocampe, cortex préfrontal, amygdale). De cette façon, les glucocorticoïdes peuvent inhiber leur propre synthèse. À des niveaux supérieurs, ils peuvent aussi affaiblir, et même endommager en cas d'excès, ces régulateurs ce qui pourrait maintenir les états hypercortisolémiques retrouvées fréquemment dans la dépression. D'après (Nestler et al., 2002a).

b. L'axe HPA et la réponse au stress

Beaucoup de régions du cerveau sont impliquées dans la réponse au stress (Bao and Swaab, 2010). Les stress psychologiques ou physiques provoquent la libération de catécholamines (adrénaline, et noradrénaline), par le système nerveux sympathique, et de glucocorticoïdes, par les glandes surrénales. La libération des catécholamines est considérée comme la première vague de la réponse au stress. En effet, les catécholamines ont des effets

de l'ordre de la seconde dans les cellules cibles alors que la libération des GC se fait avec une latence de quelques minutes et certains de ces effets peuvent être détectés plusieurs heures après l'application du stress (McEwen and Sapolsky, 1995).

Dans la phase d'alarme les neurones à CRH, qui projettent dans plusieurs structures cérébrales, modulent l'innervation surrénalienne via le système sympathique (Bao et al., 2008). Les projections sympathiques innervent la médulla de la surrénale, libérant alors les catécholamines (90% d'adrénaline, 10% de noradrénaline). Les catécholamines augmentent alors le rythme cardiaque, la pression sanguine et le métabolisme de l'organisme.

L'intégration des informations sensorielles internes, périphériques et centrales, se fait au niveau des NPV de l'hypothalamus. L'activation neuronale induite par le stress converge vers l'hypothalamus et l'axe HPA, considéré comme la voie finale commune en réponse à un stress (Bao et al., 2008; Bao and Swaab, 2010).

Au cours du stress l'axe HPA est activé par les systèmes sympathique, parasympathique, limbique ainsi que par le lobe préfrontal au niveau de l'hypothalamus. Les neurones parvocellulaires libéreront rapidement de la CRH et de l'AVP (Berkenbosch et al., 1989; Kovacs and Sawchenko, 1996; Plotsky, 1988). La CRH permet alors d'augmenter la libération d'ACTH et l'AVP potentialise l'effet de la CRH. Cette libération soutenue d'ACTH agit alors au niveau des surrénales et induit l'augmentation de la sécrétion de glucocorticoïdes dans la circulation sanguine. Il est à noter que le système nerveux sympathique induit une augmentation de la sensibilité à l'ACTH au niveau surrénalien (Buijs and Kalsbeek, 2001).

Cette activation de l'axe HPA, dans la phase de résistance, augmente certaines fonctions en permettant la production d'énergie par les tissus de stockage ou la transformation des protéines en métabolites énergétiques. Ce supplément énergétique permet de lutter contre l'agent stressant en augmentant le rythme cardiaque et la disponibilité en énergie pour les muscles et le cerveau (Dallman, 1993; Mormede et al., 2007).

Les glucocorticoïdes inhibent les fonctions qui ne sont pas nécessaires pour la lutte du stimulus stressant. Afin d'éviter un emballement de l'axe HPA, il existe un système de rétrocontrôle négatif via les glucocorticoïdes, au niveau du NPV, de l'antéhypophyse de l'hippocampe, de l'amygdale et du cortex frontal, permettant une diminution des taux de glucocorticoïdes (Bao et al., 2008; McEwen, 2007).

B. *Les régions cérébrales interagissant avec l'axe HPA*

De riches interactions existent entre des structures corticolimbiques et l'axe HPA. Parmi les régions corticolimbiques qui sont particulièrement impliquées dans l'intégration du stress ainsi que dans le traitement cognitif et émotionnel des stimuli, on trouve principalement l'hippocampe, le cortex préfrontal et l'amygdale. Ces aires cérébrales vont donc jouer un rôle important dans les réponses au stress et dans la régulation de l'activité de l'axe HPA. Nous détaillerons dans cette section, l'hippocampe et l'amygdale, en revanche le cortex préfrontal ne sera pas développé. L'implication de l'hypothalamus et des noyaux du raphé sera également traitée.

1. L'hippocampe

L'hippocampe est impliqué dans la mémoire spatiale mais aussi dans la mémoire épisodique et l'acquisition de nouveaux souvenirs. De plus, il intervient dans le rappel des souvenirs et le stockage provisoire de la mémoire à long terme, qui est stockée ensuite dans le néocortex.

L'hippocampe est constitué :

- du gyrus dentelé (GD)
- de la corne d'Ammon (CA), subdivisée en CA1, CA2, CA3 et CA4.
- des structures parahippocampiques comprenant le cortex entorhinal (entrée) et le subiculum (sortie).

Les circuits neuronaux de l'hippocampe sont trisynaptiques. Les cellules granulaires du GD sont reliées à la zone CA3 par les fibres moussues. Les cellules pyramidales de CA3 projettent vers CA1 par les collatérales de Schaeffer. Les sorties de CA1 passent par le subiculum. Les entrées du cortex entorhinal projettent vers CA1 et CA3 (Figure 13).

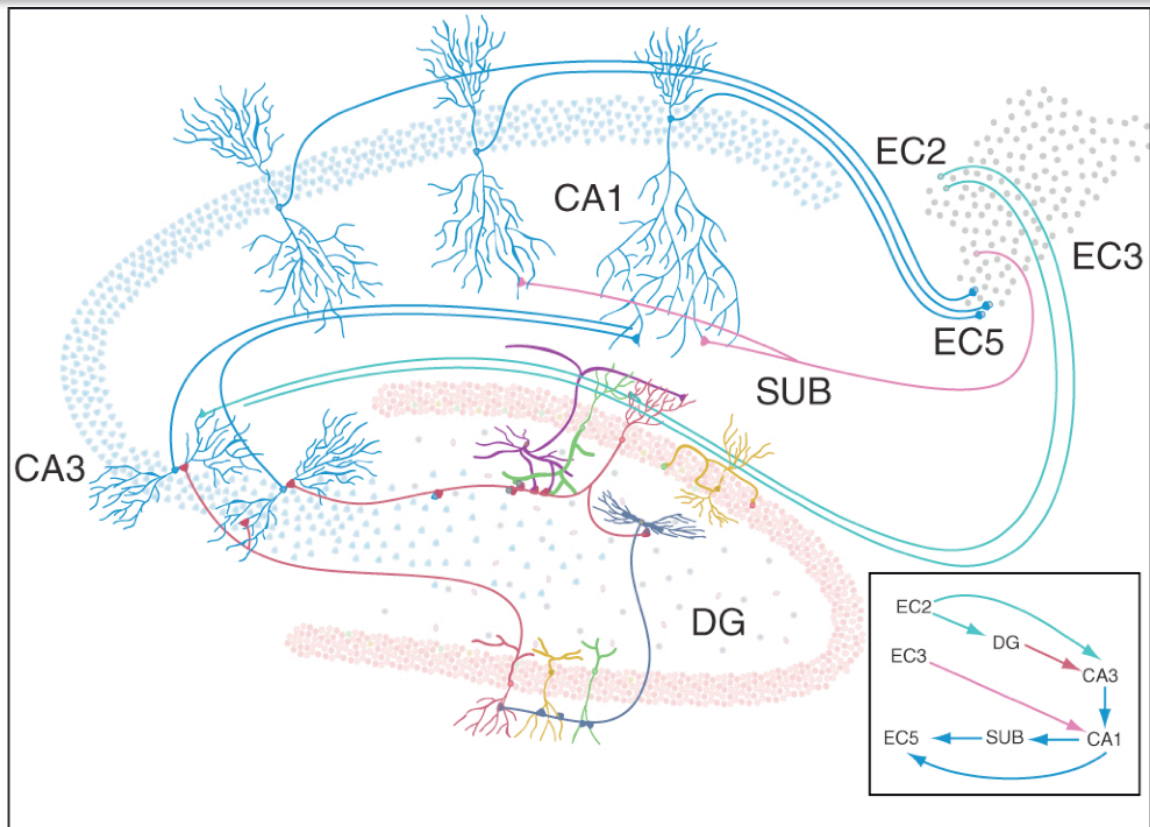


Figure 13 – Représentation du réseau de l'hippocampe.

CA : corne d'Ammon, SUB : subiculum, DG : gyrus dentelé, EC : cortex enthorinal. D'après (Li et al., 2009).

La stimulation de l'hippocampe induit une diminution de la sécrétion de glucocorticoïdes chez les rats et les humains (Dunn and Orr, 1984), montrant ainsi un rôle tonique inhibiteur de l'hippocampe sur l'activité de l'axe HPA. Pour renforcer cette hypothèse des études d'hippampectomie ou encore des lésions du fornix, circuiterie permettant la circulation des informations entre l'hippocampe et les corps mamillaires de l'hypothalamus et du thalamus, induisent une augmentation de la sécrétion d'ACTH et de GC (Fendler et al., 1961; Knigge and Hays, 1963; Sapolsky et al., 1984). L'inhibition de l'hippocampe sur l'axe HPA et plus particulièrement le NPV, n'est pas directe. En effet, elle implique la stimulation de neurones glutamatergiques (de CA1 et du subiculum ventral), qui activeront alors des neurones GABAergiques au niveau du noyau du lit de la strie terminale (BNST), de l'aire préoptique, des noyaux dorsolatéraux et de l'hypothalamus, inhibant alors les neurones des NPV (Herman et al., 2005; Herman et al., 2003). De plus, des études ont montré une forte expression des récepteurs aux GC dans l'hippocampe suggérant que celui-ci joue un rôle important dans l'inhibition de l'axe HPA par le rétrocontrôle négatif des GC (Jacobson and Sapolsky, 1991; Sapolsky et al., 1986). Dans le sens de ces résultats, il a été

montré que l'application d'un stress chronique ou encore l'administration de taux élevés de GC induit des dommages hippocampiques, une diminution de l'expression des récepteurs aux GC ainsi qu'une réponse au stress prolongée, suggérant un lien entre la diminution du rétrocontrôle et des GC et l'inhibition de l'axe HPA (Sapolsky et al., 1986).

Toutes les régions de l'hippocampe ne réagissent pas de la même manière. En effet, CA1 est hautement sensible aux facteurs neurotoxiques comme le glutamate (excitotoxicité) ou à l'anoxie (Sapolsky et al., 1986). Cette susceptibilité peut être potentialisée par l'excès de GC par augmentation des influx calciques (Sapolsky et al., 1986). Dans CA3 l'excès de GC, prolongé dans le temps, induit une atrophie dendritique des cellules pyramidales. (Magarinos et al., 1998; McKittrick et al., 2000). Paradoxalement, la région CA2 semble résistante aux GC. En effet, il n'a été mis en évidence aucune action toxique des GC dans cette zone (Herbert et al., 2006). Par ailleurs, le GD est une région particulière de l'hippocampe. En effet, c'est une des régions cérébrales où il est possible d'observer une prolifération neuronale. Environ 80% des cellules provenant des cellules progénitrices de la couche interne du GD ont un phénotype neuronal. Il a été montré que cette neurogenèse est nécessaire pour certains processus d'apprentissages impliquant l'hippocampe (Gould et al., 1999; Shors and Leuner, 2003). La surrénalectomie, donc la suppression de GC circulants, augmente la prolifération. Alors que des concentrations élevées en GC, induites par des stress psychologiques ou physiologiques, diminuent ces cellules en prolifération (Cameron and Gould, 1994; Gould et al., 1992). Ces observations suggèrent que les GC inhibent la prolifération et l'expression de leur phénotype cellulaire mature indispensable à leur survie (Wong and Herbert, 2004). Ces effets sur la prolifération peuvent être renversés par l'administration d'antagonistes des récepteurs aux glucocorticoïdes (Wong and Herbert, 2005).

Enfin, il est intéressant de noter que l'hippocampe joue aussi un rôle dans la régulation de la rythmicité circadienne, lien avec la circadianité des GCs (Herman et al., 2005).

2. L'amygdale

L'amygdale est une structure principalement connue pour son implication dans les phénomènes de peur, d'anxiété et dans l'évaluation émotionnelle (pour revue, (Rodrigues et al., 2009)).

Elle est constituée de trois groupes de noyaux :

- Les cortico-médians (MeA)
- Les baso-latéraux (BLA)
- Les centraux et antérieurs (CeA).

L'amygdale reçoit des afférences du bulbe olfactif, du tronc cérébral, de l'hypothalamus, du thalamus, de l'hippocampe ainsi que du cortex cérébral. Elle projette vers le thalamus, l'hypothalamus, le striatum, le tronc cérébral, ainsi que le cortex cérébral (**Figure 14**).

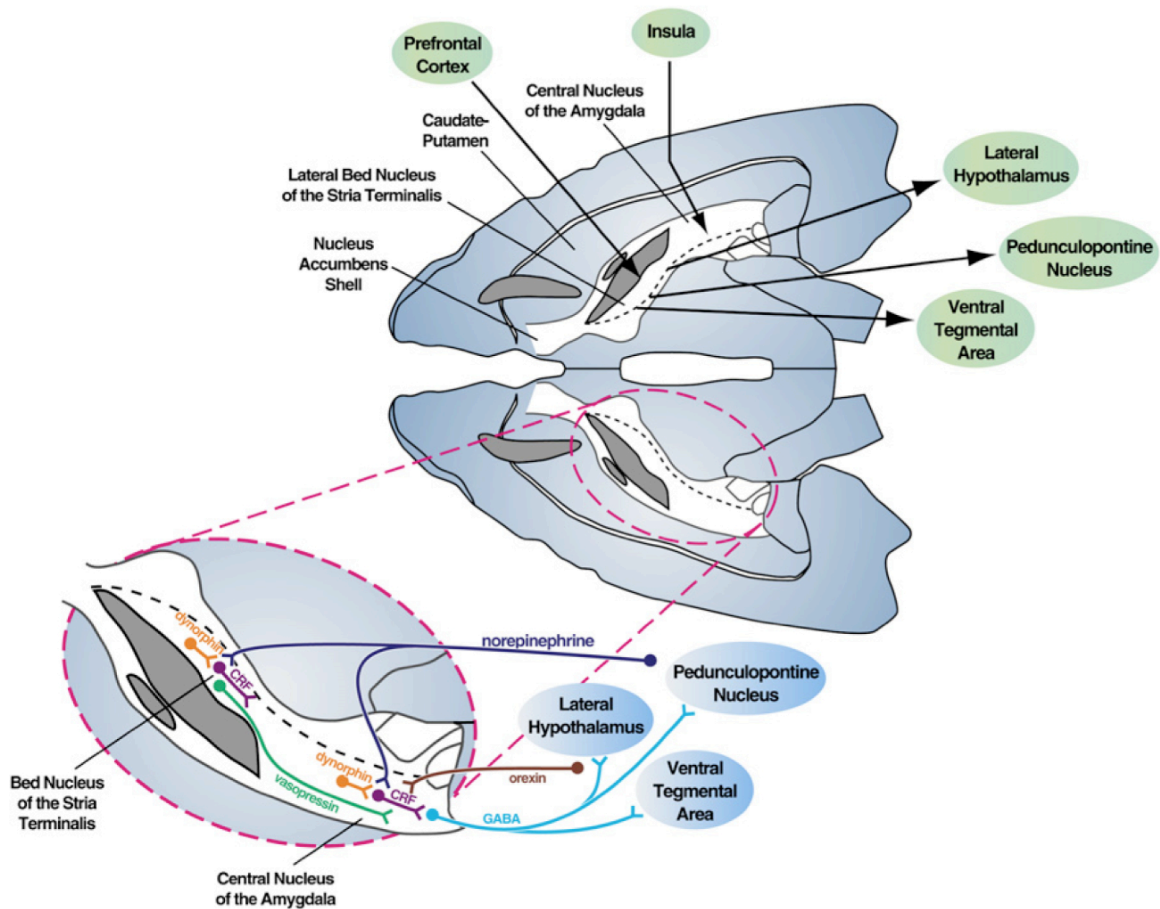


Figure 14 – Représentation du réseau de l'amygdale, voies afférentes et efférentes.

Coupe horizontale d'un cerveau de rat représentant les afférences et efférences dans la modulation du stress (en haut). Division centrale de l'amygdale étendue avec le noyau central de l'amygdale et le noyau du lit de la strie terminale (en bas). D'après (Koob, 2008).

L'amygdale aurait donc une action activatrice de l'axe HPA principalement en inhibant des voies inhibitrices. L'activation de l'amygdale est importante pour l'analyse émotionnelle et la récupération des informations pertinentes pour tous facteurs de stress (Charmandari et al., 2005).

Lorsqu'elle est électriquement stimulée, la concentration des GC circulants est augmentée chez le rat, le singe et chez l'humain (Jankord and Herman, 2008; Redgate and Fahringer, 1973). A l'inverse, des lésions au niveau des noyaux CeA et MeA diminuent les concentrations en ACTH et en GC. Les différents noyaux de l'amygdale réagissent de manière spécifique à un type de stress donné (Allen and Allen, 1974; Dayas and Day, 2002; Herman et al., 2005; Van de Kar et al., 1991). Ainsi les CeA répondent préférentiellement à des stress systémiques (inflammation ou hémorragie). Ils semblent être également activés par des stress hétérotypiques appliqués après un stress chronique, suggérant un rôle facilitateur de l'amygdale dans la réponse de l'axe HPA (Bhatnagar and Dallman, 1998; Herman et al., 2005). Les MeA réagiront à des facteurs plutôt environnementaux comme la contention, la nage forcée, le bruit...

Les régions CeA et MeA projettent au niveau des neurones des NPV, mais leur action principale sur les NPV est de nature inhibitrice sur des voies GABAergiques au niveau du BNST et de l'aire préoptique. Enfin, les CeA projettent aussi au niveau du tractus solitaire, qui reçoit l'essentiel des informations sensorielles viscérales véhiculées par les nerfs vagues et glossopharyngiens.

La lésion des BLA n'altère pas la réponse de l'axe HPA à des stress aigus comme le froid, l'éther ou encore la contention, suggérant que les BLA ne sont pas nécessaires pour la réponse à un stress aigu. En revanche, ils seraient impliqués dans le stress chronique (Bhatnagar and Dallman, 1998; Bhatnagar et al., 2004). De plus, après un stress de contention, de nage forcée ou encore de choc électrique (donc de nature psychologique et non systémique), les BLA présentent une augmentation de leur activité, suggérant leur implication dans les phénomènes d'anticipation au stress (Sawchenko et al., 2000). Les BLA projettent surtout au niveau des autres noyaux de l'amygdale pour les potentialiser. Les BLA projettent également de façon indépendante sur les neurones des NPV et des BNST, suggérant que les BLA peuvent agir indépendamment des autres noyaux.

3. Hypothalamus

Le PVN reçoit d'importantes afférences d'autres régions hypothalamiques qui peuvent significativement affecter son activité. Il a été montré que la grande majorité de ces afférences provient de neurones GABAergiques (Roland and Sawchenko, 1993). Les neurones parvocellulaires à CRF sont directement innervés par des boutons synaptiques GABAergiques et expriment des récepteurs au GABA (Cullinan, 2000). L'injection de muscimol, un agoniste du récepteur GABA-A, directement dans le PVN inhibe l'élévation de corticostérone induite

par un stress de contention, confirmant l'importance physiologique du GABA dans l'intégration par le PVN des informations relatives au stress.

Ces afférences proviennent en premier lieu de zones à proximité immédiate du PVN (Boudaba et al., 1996; Roland and Sawchenko, 1993). En effet, plusieurs études ont montré que les neurones GABAergiques de la zone péri-PVN jouent un rôle significatif dans la réponse au stress. Cette zone péri-PVN reçoit de nombreuses afférences glutamatergiques et fournit donc une voie par laquelle des entrées excitatrices inhibent l'axe HPA.

Les neurones parvocellulaires sont également innervés par des populations neuronales GABAergiques du noyau hypothalamique dorsomédian. Des lésions de cette région renforcent la réponse de l'axe HPA lors d'un stress. Il semble en outre y avoir des différences régionales à l'intérieur de ce noyau et les projections vers le PVN peuvent être soit inhibitrices (GABA) en particulier la partie ventrolatérale soit excitatrices (glutamate) notamment au niveau de la partie dorsale (Tasker et al., 1998).

L'aire préoptique médiane envoie elle aussi des projections GABAergiques vers le PVN. Des lésions de cette zone augmentent la sécrétion d'ACTH induite par le stress, tandis que sa stimulation peut bloquer les effets excitateurs de l'amygdale sur la libération de corticostérone (Feldman et al., 1990; Vau and Meaney, 1996). Les informations sur la balance énergétique peuvent être transmises par des connexions directes des neurones du PVN avec le noyau arqué et l'hypothalamus latéral. En effet, les neurones du noyau arqué sont sensibles au glucose circulant, à la leptine et à l'insuline. Enfin, le PVN reçoit également des afférences du noyau postérieur de l'hypothalamus, lequel est largement innervé par les noyaux mamillaires. Ces derniers possèdent des connexions avec plusieurs structures limbiques, ils sont donc bien placés pour relayer des réponses au stress.

4. Noyaux du raphé

Le système sérotoninergique est lui aussi connu pour moduler l'activité de l'axe HPA. En effet, la 5-HT stimule la libération d'ACTH puis de corticostérone à travers les récepteurs 5-HT_{2A} et peut-être 5-HT_{1A} du PVN (Pan and Gilbert, 1992; Van de Kar et al., 2001). L'action stimulatrice de la 5-HT sur l'axe HPA est confirmée par les études de lésions (Feldman et al., 1987). Néanmoins, alors que la grande majorité des afférences sérotoninergiques en direction du PVN innervent surtout la zone péri-PVN, celles atteignant directement le PVN se limitent seulement à quelques fibres provenant des noyaux médian et dorsal du raphé (Sawchenko et al., 1983). Ces résultats suggèrent que l'influence sérotoninergique pourrait passer principalement par l'interaction avec les neurones

GABAergiques de la zone péri-PVN.

Le système sérotoninergique innerve abondamment les structures corticolimbiques impliquées dans la réponse au stress telles que le cortex préfrontal, l'amygdale et l'hippocampe (Lowry, 2002). Il est donc tout à fait envisageable que, en plus de son action directe sur le PVN, le système sérotoninergique influence indirectement la réponse au stress et l'activité de l'axe HPA.

C. Les bases moléculaires de l'axe HPA

Dans cette section nous nous intéresserons uniquement aux glucocorticoïdes et leurs récepteurs. En effet, même si les facteurs ACTH, AVP et CRF sont impliqués dans les bases moléculaires de l'axe HPA, ils ne concernent pas directement le sujet de ce document.

1. Les glucocorticoïdes

Les glucocorticoïdes sont des stéroïdes synthétisés à partir du cholestérol dans la zone fasciculaire du cortex surrénalien. La lipophilie des glucocorticoïdes leur permet de traverser facilement les différentes membranes lipidiques de l'organisme (barrière-hémato-encéphalique, les membranes plasmiques...).

Trois systèmes régulent les GC (**Figure 15**):

- Transport protéique : Dans la circulation sanguine, les GC sont liés à des protéines de transport. D'une part, avec l'albumine pour laquelle les GC ont une faible affinité, mais qui a une grande capacité de stockage et d'autre part, avec la « corticostéroïd-binding Globulin » (CBG) qui a l'inverse à une faible capacité de stockage mais pour qui les GC ont une forte affinité (Herbert et al., 2006). Quarante à 90 % des GC sont liés, en particulier à la CBG, permettant de réguler la biodisponibilité des GC, puisque seule la partie libre sera active (Breuner and Orchinik, 2002; Gayrard et al., 1996). En condition physiologique, la concentration en CBG reste stable même si elle peut être modifiée dans certaines conditions (augmentation pendant une grossesse par exemple). Cependant, lors d'un stress ou de pathologies liées à de fortes concentrations en GC, la faible capacité de stockage des CBG ne pourra pas contrecarrer l'augmentation des GC libres (Herbert et al., 2006). Il en résulte une action exacerbée des GC sur leurs cibles. De plus, il a été démontré que l'expression des CBG pouvait diminuer sous l'effet d'un stress important comme par exemple une infection (Pugeat et al., 1989).

- « Multiple drug Resistance P-Glycoprotein » (MDR-pG) : Les MDRpG sont des transporteurs qui protègent le cerveau de l'entrée de différentes molécules, notamment les molécules synthétiques ou non endogènes. Chez des souris mutées pour les MDR-pG, l'injection cérébrale de cortisol (qui n'est pas produites chez elles) ou de dexaméthasone tritiés, induit une rétention dans le cerveau de ces molécules. En revanche chez les souris contrôles, ces composés sont transportés hors du cerveau (Meijer and de Kloet, 1998). La dexaméthasone est un agoniste synthétique des récepteurs GR. Une faible dose intrapéritonéale peut engendrer le déclenchement du rétrocontrôle négatif des GC (test de suppression à la dexaméthasone ou DST) via l'hypophyse. Les MDR-pG empêcheront toutefois la pénétration de la dexaméthasone à travers la BHE. A l'inverse, le système MDR-pG ne pourra pas empêcher la pénétration centrale de la dexaméthasone à forte dose (de Kloet, 2003; McEwen, 2007).
- 11 β -hydroxysteroid dehydrogenases (11 β -HSD): Il existe deux formes: les types 1 et 2. La 11 β -HSD de type 1 (11 β -HSD-1) convertit les formes inactives des GC en formes actives (cortisone pour le cortisol, et 11 β -dehydrocorticosterone pour la corticostérone). Alors que le type 2, à l'inverse, inactive le cortisol et la corticostérone respectivement en cortisone et en 11 β -dehydrocorticosterone (Sorrells et al., 2009). Il est à noter que les CBG transportent aussi ces composants (McEwen, 2007). La 11 β -HSD-1 est exprimée dans plusieurs tissus tels que le système nerveux central, les poumons, les muscles squelettiques, le foie ou encore les tissus adipeux. La 11 β -HSD de type 2 est surtout exprimée dans le rein (Seckl and Walker, 2004). La 11 β -HSD de type 2 inactive les GC dans certains tissus pour éviter l'activation de récepteurs aux minéralocorticoïdes (MR) ou encore protéger le fœtus contre les GC maternels. A l'inverse, la 11 β -HSD-1 convertit les GC inactifs en actifs, induisant un « boost » de GC. Néanmoins des souris, invalidées pour le gène codant la 11 β -HSD-1, présentent un phénotype normal et elles ne souffrent pas de déficits cognitifs liés à l'âge. De plus, ces souris sont moins sensibles à l'obésité et au syndrome métabolique (de Kloet, 2003; Masuzaki and Flier, 2003).

En conclusion ces observations suggèrent que tous les types cellulaires sont potentiellement sous l'influence des GC. Les fonctions des GC après l'activation de l'axe HPA seront décrites par la suite.

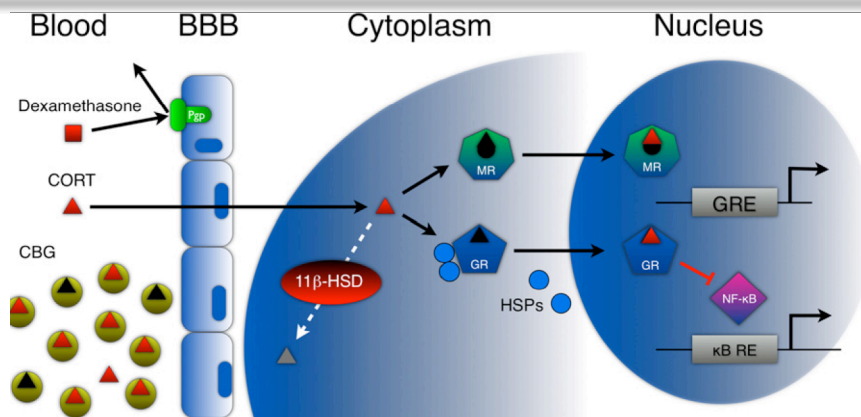


Figure 15 - Schéma représentant les voies de régulation de la signalisation des GC.

Les GC sont liés en grande partie par les CBG dans le sang. Une fois libres, les GC traversent les barrières lipidiques. Dans les cellules, il existe un système permettant d'activer ou d'inactiver les GC (11 β -HSD). Dans la cellule, les GC peuvent activer les GR et les MR qui auront une action génomique, ici représentée, par exemple, par l'action des MR sur les séquences GRE, et les GR inactivant NF κ B. L'entrée dans le SNC des GC de synthèse (ici la dexaméthasone) est partiellement bloquée par le système de MDRpG (en vert). D'après (Sorrells et al., 2009).

2. Les récepteurs aux glucocorticoïdes

Les récepteurs aux GC sont au nombre de 2 : les récepteurs aux minéralocorticoïdes (MR ou NR3C2) et les récepteurs aux glucocorticoïdes (GR ou NR3C1). Ils appartiennent à la superfamille des récepteurs nucléaires.

Les MR et les GR, au niveau des cellules, se retrouvent séquestrés dans des complexes protéiques d'inactivation. Lorsque les GC ou les minéralocorticoïdes, comme l'aldostérone entrent dans la cellule, leur liaison au récepteur permet de libérer le récepteur. Il s'en suit une série de phosphorylations qui augmentent l'affinité des récepteurs pour leur cible sur l'ADN.

Le récepteur MR a une affinité dix fois plus élevée que les GR pour les GC (Beaumont and Fanestil, 1983; Reul and de Kloet, 1985). En condition basale les faibles concentrations en GC activeront préférentiellement les MR. Lorsqu'ils seront saturés au moment du pic circadien de sécrétion des GC ou après un stress, les GR prendront alors le relais (Reul and de Kloet, 1985). Les GC ont des effets de types rapides et lents.

Les effets dits lents sont induits par la transcription des gènes qui sont sous le contrôle des récepteurs. Les GR et les MR régulent la transcription via deux mécanismes :

- Liaison à des sites « Glucocorticoid-responsive elements » (GRE) : Les GRE sont présents au niveau des promoteurs de certains gènes (Zilliacus et al., 1995). Les GRE négatifs (nGRE) inhiberont la transcription du gène, sous le contrôle du promoteur en question, alors que les GRE positifs (GRE) activeront la transcription du gène donné. MR et GR régulent la transcription

de certains gènes, en se liant à ces sites, après leur homodimérisation ou hétérodimerisation. Il est à noter que ces récepteurs lient les mêmes sites GRE (Han et al., 2005).

- Activation de facteurs de transcriptions : Les récepteurs peuvent avoir une action répressive en activant des facteurs de transcriptions comme NF- κ B ou encore AP-1 (Hayashi et al., 2004).

Pour les effets dits rapides, une étude montre que dans CA1, les GC augmentent en quelques minutes la fréquence des courants excitateurs miniatures post-synaptiques (Karst et al., 2005). L'ajout d'inhibiteur de synthèse protéique ne change pas cette augmentation (Karst et al., 2005), suggérant que les effets rapides ne passent pas par une transcription et une synthèse protéique (Joels et al., 2008). Il a été récemment mis en évidence que le rétrocontrôle négatif des GC ferait parti des effets rapides. Cet effet impliquerait la signalisation endocannabinoïde au niveau des NPV (Evanson et al., 2010). De plus, certains émettent l'hypothèse de l'existence de récepteurs MR et GR dits membranaires (Prager and Johnson, 2009). Leurs effets seraient rapides et permettraient de moduler la libération pré-synaptique de neurotransmetteurs (Olijslagers et al., 2008).

En résumé :

- les MR dits membranaires seraient impliqués dans l'augmentation de l'excitabilité en augmentant la libération glutamatergique et en diminuant la conductance potassique (Karst and Joëls, 2005).
- Les GR membranaires, quant à eux, diminueraient l'excitabilité neuronale en réduisant l'intensité des courants calciques, l'expression des récepteurs NMDA mais aussi en augmentant la conductance au GABA. Les effets seraient dépendants de la concentration en GC. Il n'a pas été mis en évidence de structure propre pour ces récepteurs (Prager and Johnson, 2009). Néanmoins quelques études démontrent leurs présences aux niveaux des membranes synaptiques des neurones (Liposits and Bohn, 1993; Orchinik et al., 1991) (Figure 16).

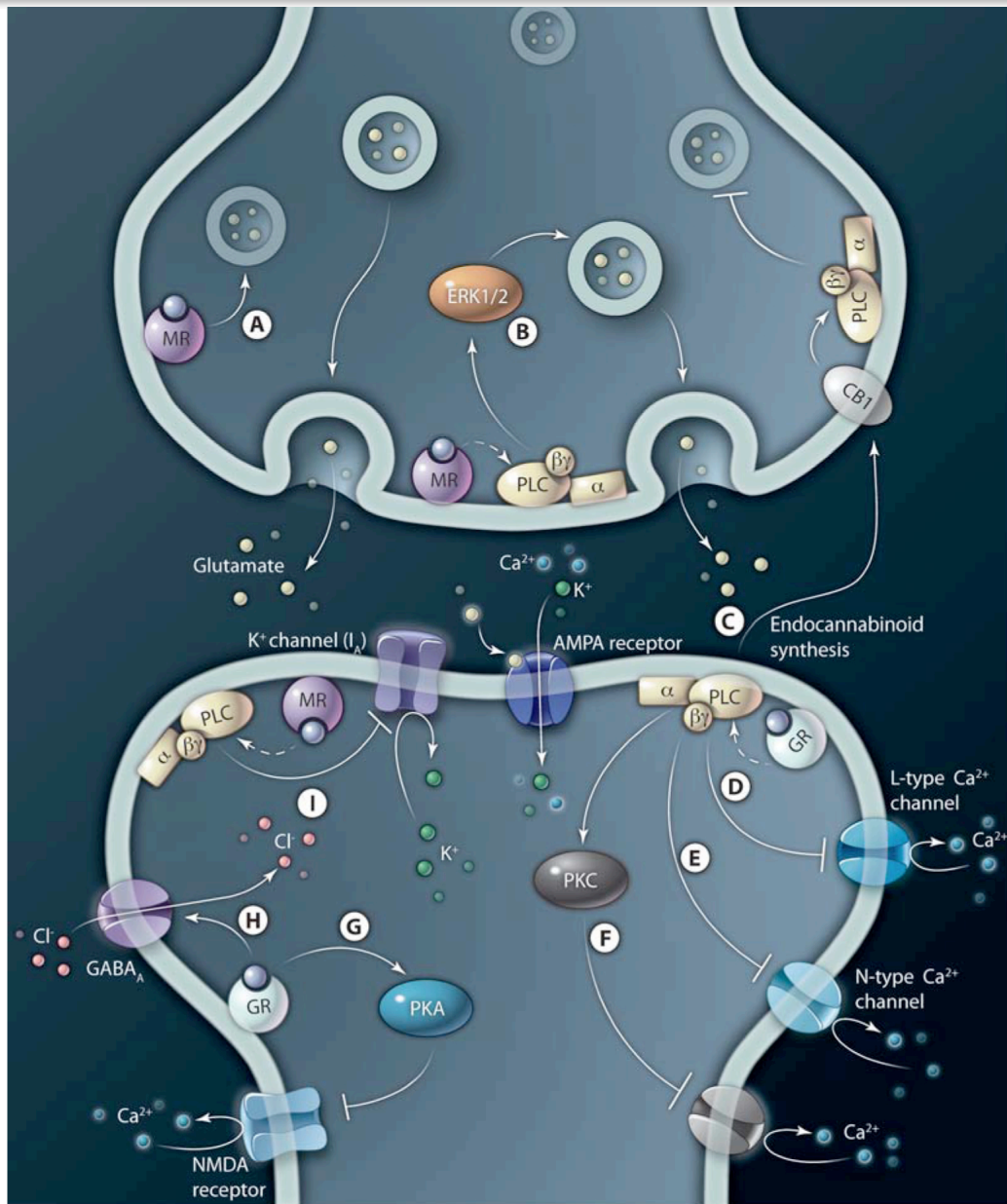


Figure 16 – Schéma des récepteurs aux GC dits membranaires.

La libération vésiculaire et l'excitabilité pré-synaptique sont (A) régulées par les MR membranaires (B) les protéines G et l'activation ERK1/2 qui augmente la fréquence de libération du glutamate. Par ailleurs, (C) les récepteurs membranaires GR sont post-synaptiques et activent les protéines G permettant la synthèse et la libération antérograde des protéines du système endocannabinoïde, (D) les canaux calciques de type L (E) les canaux calciques de type N, (F) la voie des PKC et réduisent les courants calciques et les courants des NMDA indirectement par la voie de PKA. (H) Ils peuvent aussi se lier avec les récepteurs GABA_A et augmenter l'hyperpolarisation. Enfin, (I) les MR membranaires inhibent aussi la conductance potassique. D'après (Prager and Johnson, 2009).

a. Les minéralocorticoïdes

1) Généralités

Dans le cerveau les MR sont principalement exprimés dans l'hippocampe et les

neurones du septum. Ils sont aussi retrouvés dans les autres structures du système limbique, dans le cortex préfrontal et dans l'hypothalamus postérieur (de Kloet, 2003; Jaferi and Bhatnagar, 2006; Sousa et al., 2008) (Figure 17).

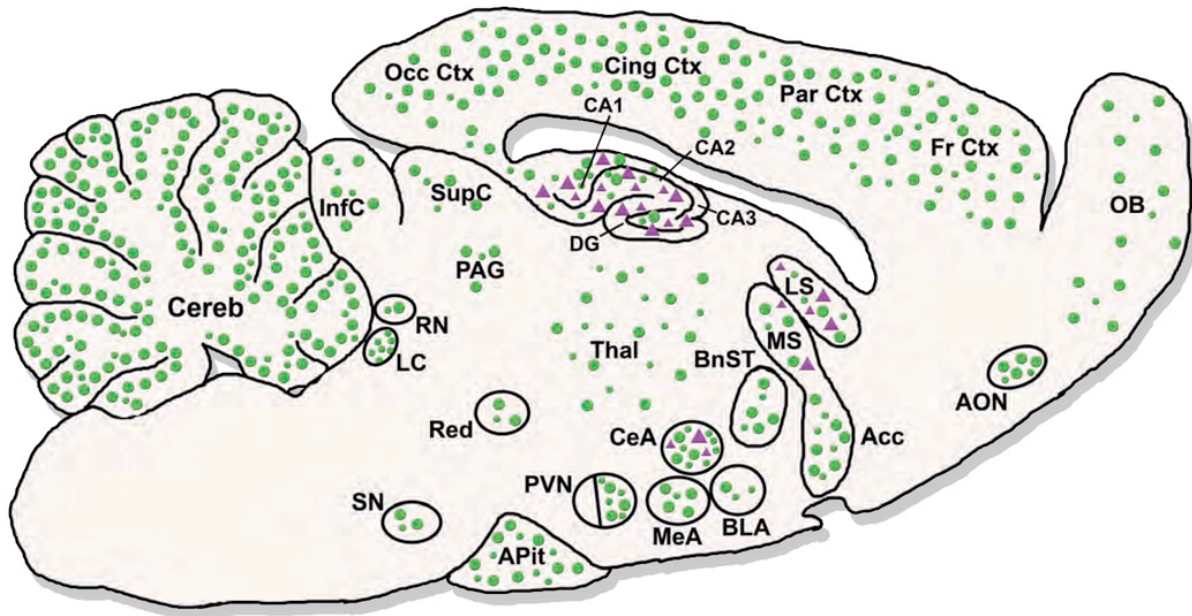


Figure 17 - Schéma représentant la répartition des récepteurs GR et MR dans les cerveau de rongeur.

GR est ubiquitaire dans le cerveau (rond vert). MR est plutôt localisé dans les structures limbiques (triangle violet). Acc : noyau accumbens, AON : noyau antérieur de l'olfaction ; APit : lobe antérieur de l'hypophyse ; BLA : noyau basolatéral de l'amygdale ; BnST : Noyau du lit de la strie terminal ; CA1/2/3 : corne d'Ammon de l'Hippocampe 1/2/3 ; CeA : noyau central de l'amygdale ; Cereb : cervelet ; CIng Ctx : cortex cingulaire ; DG :Gyrus dentelé ; FrCTx : cortex frontal ; InfC : colliculus inférieur ; LC : locus coeruleus ; LS septum latéral ; MeA ; noyau médian de l'amygdale ; MS : septum médian ; OB : bulbe olfactif ; Occ CTx : cortex occipital ; PAG : zone périaqueducale ; Par Tx : cortex pariétal ; PVN : noyau paraventriculaire de l'hypothalamus ; Red : noyau rouge ; RN : raphé ; SupC ; colliculus supérieur ; SN : Substantia nigra ; Thal : thalamus. D'après (Kolber et al., 2008).

Ils existent trois transcrits des MR chez l'humain : les formes α , β et γ venant de deux promoteurs différents (Sousa et al., 2008). Les formes MR α et MR β sont identiques dans leur séquence d'acides aminés. L'existence de ces deux formes n'est pas encore comprise. Les trois variants de MR sont retrouvés dans le cerveau de Rat (Kellner and Wiedemann, 2008).

Les MR ne sont pas spécifiques des GC puisqu'ils les lient avec la même affinité que l'aldostérone. Mais, dans les cellules épithéliales rénales, la 11 β -HSD-2 désactive les GC. Dans ce type cellulaire les MR ne seront sensibles qu'à l'aldostérone. L'aldostérone permet de réguler l'homéostasie des électrolytes. Si les GC n'étaient pas inactivés dans ces cellules ils pourraient agir sur les MR et perturber la régulation ionique en condition basale.

Dans d'autres régions, notamment dans le système limbique, la 11 β -HSD-2 n'est pas présente et les MR seront en contact principalement avec les GC (de Kloet, 2003).

2) Fonctions

Au niveau comportemental des études sur des souris transgéniques ont montré que l'inactivation des MR induit une augmentation de l'anxiété chez les animaux (Kellner et al., 2008), alors que la surexpression induit un effet anxiolytique (Rozeboom et al., 2007). De la même façon, l'équipe de Sapolsky a montré que l'application d'un stress chronique, sur des animaux surexprimant MR dans l'amygdale, a un effet anxiolytique et diminue la sécrétion de GC par rapport à des animaux contrôle subissant le même stress (Mitra et al., 2009). Paradoxalement, l'utilisation d'un antagoniste des MR (spironolactone, 150 ng/rat en infusion) a un effet anxiolytique 10 minutes après son administration (Smythe et al., 1997). Un traitement chronique à l'aldostérone chez des rats induit une augmentation de l'anxiété des animaux dans les tests de champs ouverts du labyrinthe en croix surélevée (Hlavacova and Jezova, 2008). Toutes ces études indiquent que les MR sont donc également impliqués dans la réponse au stress et particulièrement dans les réponses comportementales associées à l'anxiété (Brinks et al., 2009; de Kloet et al., 2007; Kellner et al., 2009; Mitra et al., 2009).

Plus de 80% des MR dans l'hippocampe sont liés à leur ligand lorsque les GC sont au plus bas pendant le cycle circadien (Reul and de Kloet, 1985). De plus, les études utilisant des antagonistes des récepteurs MR, comme le RU28318 par injection intracérébroventriculaire ou *in situ* dans l'hippocampe, montrent que les taux de corticostérone diminuent (Oitzl et al., 1995; Ratka et al., 1989; van Haarst et al., 1997). Ces résultats suggèrent que le tonus inhibiteur de l'hippocampe sur l'hypothalamus et sur l'axe HPA est sous le contrôle des MR (Reul et al., 2000). Les MR sont nécessaires et suffisants pour maintenir des taux bas de GC en condition basale (Kellner et al., 2008).

L'utilisation d'antagonistes des MR (ou de souris transgéniques) démontrent une diminution de la mémoire spatiale (Berger et al., 2006) suggérant que les MR jouent un rôle dans les phénomènes de mémoire et d'apprentissage.

Pour résumer MR est impliqué dans :

- La prévention de la perturbation de l'homéostasie cellulaire
- Le contrôle de la sensibilité de la réponse au stress (tonus inhibiteur de l'hippocampe)
- Dans la réponse comportementale de l'anxiété et de la mémoire (de Kloet et al., 1999).

Les MR sont impliqués dans le cas de pathologies, comme le syndrome de Cushing, ou encore la dépression,

b. Les récepteurs aux glucocorticoïdes (GR)

1) Généralités

Les récepteurs GR sont ubiquitaires dans tout le cerveau (Morimoto et al., 1996). Des études confocales ont montré une co-localisation des MR et des GR dans les structures du système limbique notamment dans l'hippocampe (van Steensel et al., 1995) ainsi que dans le cortex préfrontal et les noyaux amygdaliens (Figure 18).

Chez l'humain, l'épissage alternatif du gène unique codant pour les GR donne deux isoformes majoritaires, les récepteurs GR α et β . La forme GR α est présente dans tous les types cellulaires. En absence de ligand, elle se situe au niveau du cytoplasme, dans un complexe de séquestration. Ce complexe multiprotéique est composé de protéines chaperonnes et de co-chaperonnes (Stahn and Buttgereit, 2008). C'est aussi cette forme qui est responsable des effets des GC (Hollenberg et al., 1985). La forme GR β est plus petite que la première et ne peut pas lier les GC. Elle est retrouvée dans le noyau ainsi que les nucléoles des cellules et représente environ 0,2 à 1% des GR (Zanchi et al., 2010). Cette forme se dimérise avec la forme GR α empêchant le recrutement des co-activateurs nécessaires aux fonctionnements des GR. Il en résulte que la forme GR β est un dominant négatif sur la première et diminue la fonctionnalité des GR. Ce mécanisme n'a jamais été identifié chez les rongeurs. Il semble aussi que cette forme GR β serait capable de promouvoir la transcription de certains gènes (Kino et al., 2009a; Kino et al., 2009b).

Le récepteur GR est composé de plusieurs domaines :

- Le domaine N-terminal qui est un domaine de trans-activation. Il permet le recrutement de protéines impliquées dans le remodelage de la chromatine. Ce domaine n'est pas dépendant du ligand mais de la translocation du récepteur. Il comprend
- le domaine appelé "Activation function 1" (AF1) (van der Laan and Meijer, 2008).
- Le domaine DBD (DNA Binding Domain) permet au récepteur de se lier à l'ADN.
- Le domaine C-terminal a pour fonction la liaison au ligand et le recrutement de facteur de transcription dépendant de la liaison au ligand Activation function 2 (AF2). Il existe une région entre le domaine DBD et le domaine C-

terminal qui est impliquée dans la translocation du récepteur dans le noyau après liaison au ligand (Zanchi et al., 2010).

2) Fonctions

Les mécanismes d'activation de la transcription seront effectués principalement par des dimères de GR, alors que la répression sera principalement induite par les monomères de GR. Ils peuvent inhiber la transcription de certains gènes en recrutant des facteurs tels que NF- κ B (Prager and Johnson, 2009). De plus, les GR peuvent avoir un rôle non génomique. En effet des études montrent qu'en condition de stress, dans les cellules musculaires, l'activation de GR interagît avec la phosphatidyl-inositol 3 kinase (PI3K) (Figure 18).

Cette interférence empêche l'interaction entre la PI3K et le récepteur de l'insuline, ce qui augmente le métabolisme glucidique induit par l'activation des GR.

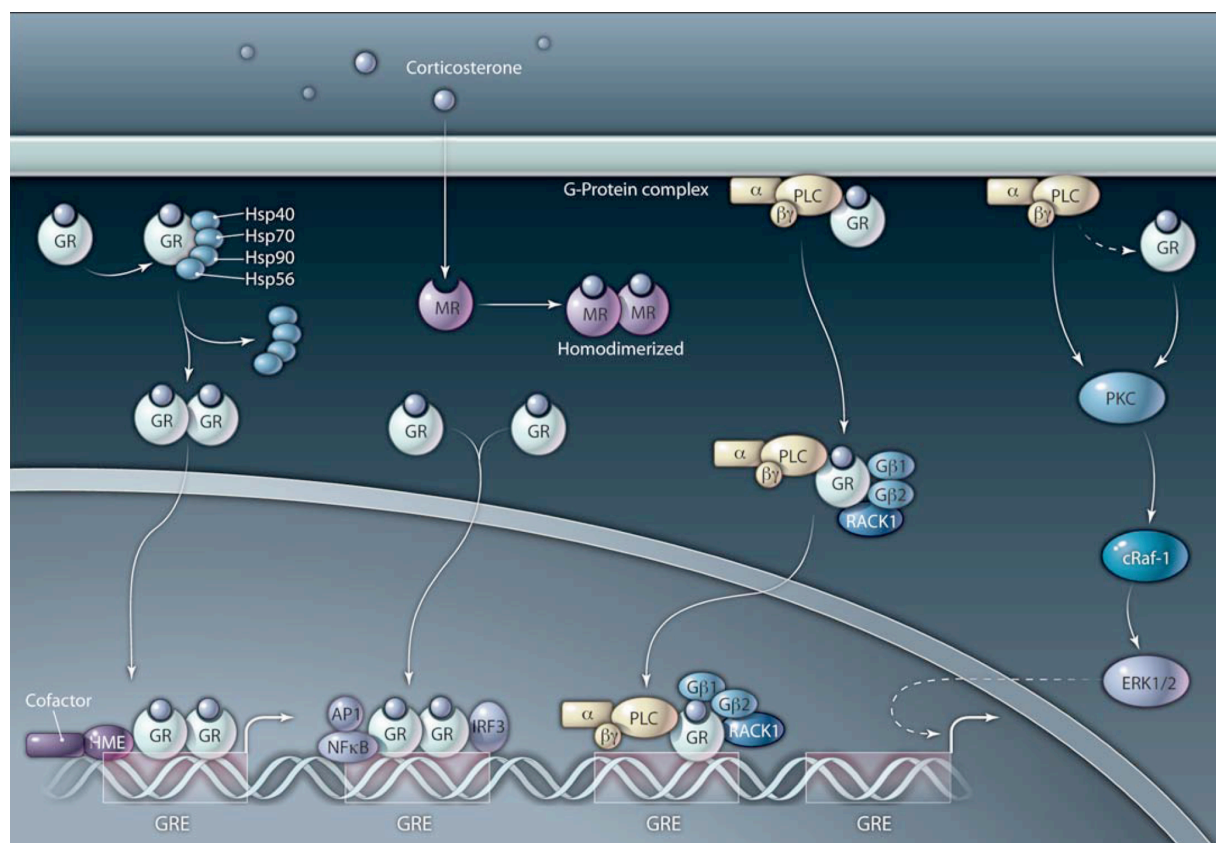


Figure 18 - Schéma représentant les actions des récepteurs GR.

Après avoir traversée la membrane la corticostérone lie les récepteurs MR ou GR. Après dissociation du complexe des « Heat shock proteins » les récepteurs peuvent se dimériser. Au niveau du noyau, après recrutement de facteurs de transcription et « d'histone modifying elements » ils initient la transcription des gènes qui sont sous leur contrôle en se fixant sur les GRE. Le recrutement de IRF3, NF- κ B et AP-1 et la liaison au niveau des régions dites nGRE induit la transrepression des gènes. Les GR peuvent lier les nGRE avec les cofacteurs G β 1 et G β 2 ainsi que RACK1, et provoquent aussi une transrepression. Les GR dits membranaires peuvent aussi promouvoir la transcription via la voie PKC et cRaf-1. D'après (Prager and

Johnson, 2009).

Par ailleurs, des perturbations de l'activité circadienne de l'axe HPA ont été détectées chez des souris présentant une mutation empêchant la liaison des GR à l'ADN ainsi que chez des souris KO pour GR (Tronche et al., 1999). Ces résultats montrent que la diminution de l'expression des GR augmente globalement l'activité circadienne alors que l'augmentation de son expression n'a pas d'effet. En fait, l'expression basale des GR est nécessaire et suffisante pour réguler l'activité circadienne, et une augmentation de l'expression n'induit aucune modification (Kolber et al., 2008).

D'autre part, Ridder et collaborateurs ont mis au point une souris présentant un allèle muté codant pour GR (Ridder et al., 2005). Ces souris ont des taux normaux de GC pendant les différentes phases de la journée. Ils concluent que la libération normale des GC, en fonction du rythme circadien, est expliquée soit par les MR soit par le fait que la présence d'un seul allèle fonctionnel de GR est suffisant pour maintenir l'activité circadienne de l'axe (soit les deux phénomènes sont impliqués) (Kolber et al., 2008; Ridder et al., 2005). De plus, ces souris présentent une altération du rétrocontrôle négatif (par le test de suppression à la dexaméthasone, DST), suggérant que celui-ci est régulé par les GR (Ridder et al., 2005).

L'utilisation d'anti-sens pour les ARNm de GR induit une augmentation des taux de GC par rapport aux animaux contrôles. De plus, chez des animaux KO pour les GR ou présentant moins de GR, il existe une augmentation des concentrations plasmatiques des GC. Ces résultats indiquent qu'en condition basale une partie des GR semble être sollicitée par les GC. Si la fraction de GR liant les GC est supprimée, il y a alors une dérégulation de l'axe HPA en condition basale (Kolber et al., 2008). En condition de stress, ces souris présentent une augmentation des concentrations plasmatiques en GC (par rapport aux animaux sauvages). En revanche, les animaux surexprimant les GR montrent une réponse au stress moins importante que les animaux contrôles, indiquant que l'activité de l'axe HPA, en condition de stress, est donc modulée par le nombre de récepteurs actifs (Kolber et al., 2008). De plus, le blocage des GR centraux interfère avec les comportements anxieux de peur, réponse qui est sous le contrôle de l'amygdale (McGaugh and Roozendaal, 2002).

L'injection d'un antagoniste des GR (mefipristone,) chez des rats, empêche la restitution d'une information apprise 24h plus tôt. La même observation est faite chez des souris présentant des GR incapables de lier l'ADN (Oitzl et al., 2001). Ceci démontre que l'inactivation des GR altère le stockage de nouvelles informations. De plus, ces observations suggèrent que les performances cognitives induites par les GC via les GR impliquent une

activation transcriptionnelle (de Kloet, 2003). Des souris sous-exprimant GR (« knockdown ») ont un phénotype présentant des déficits cognitifs associés à des taux élevés en ACTH et en GC après un stress. Un traitement par l'administration d'antidépresseurs augmente l'expression des GR et corrige les déficits comportementaux ainsi que les dérégulations hormonales (Montkowski et al., 1995). Chez des souris exposées à un stress chronique et présentant des déficits de mémoire spatiale (sous le contrôle de l'hippocampe) (de Kloet et al., 1999), ainsi que des concentrations élevées en GC, l'application d'un traitement chronique d'antagoniste de GR semble augmenter les performances cognitives. De plus, l'application d'un stress aigu sur les animaux augmente leurs capacités mnésiques (Korte, 2001).

L'augmentation des processus mnésiques permet à l'individu de prévoir les événements qui pourraient subvenir s'il était replacé dans le même contexte. Ceci passerait par les GR dans des conditions de stress aigu, alors que dans des pathologies associées à un stress chronique, ces capacités mnésiques pourraient diminuer par une surcharge de l'activation des GR.

Pour résumer GR est surtout impliqué dans (de Kloet, 2003):

- Le contrôle du métabolisme énergétique
- Le retour de l'homéostasie cellulaire
- La synchronisation des rythmes circadiens
- Le rétrocontrôle négatif de l'axe HPA
- Les processus de mémorisation (et aussi dans l'extinction de la mémoire)
- L'adaptation comportementale (anxiété)

D. Les fonctions de l'axe HPA

1. Régulation circadienne de l'axe HPA et implication des GC dans les rythmes circadiens

a. Régulation circadienne de l'axe HPA

Le cycle circadien est sous le contrôle du NSC de l'hypothalamus. Le NSC reçoit des informations sur le cycle jour/nuit via les cellules ganglionnaires de la rétine, sur lequel le cycle circadien sera synchronisé. Pour résumer, au début du cycle, des gènes « périodes » (3 gènes nommés PER) et des gènes cryptochromes (2 gènes nommés Cry) sont activés par le complexe contenant les protéines « Circadian Locomotor Output Cycles Kaput » (CLOCK) et « brain and muscle aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator » (BMAL). PER et Cry

s'associent dans le cytoplasme pour ensuite entrer dans le noyau. En fin de période d'activité, l'accumulation de PER/Cry dans le noyau sera suffisante pour s'opposer à l'action de CLOCK et BMAL. La production de PER et Cry diminue et leur expression dans le noyau également. A la fin de la période de repos (avant le début du nouveau cycle), la dégradation de PER et Cry sera suffisante pour que CLOCK et BLAM activent la transcription de PER et Cry. Le cycle recommence alors (Herbert et al., 2006) (Figure 19).

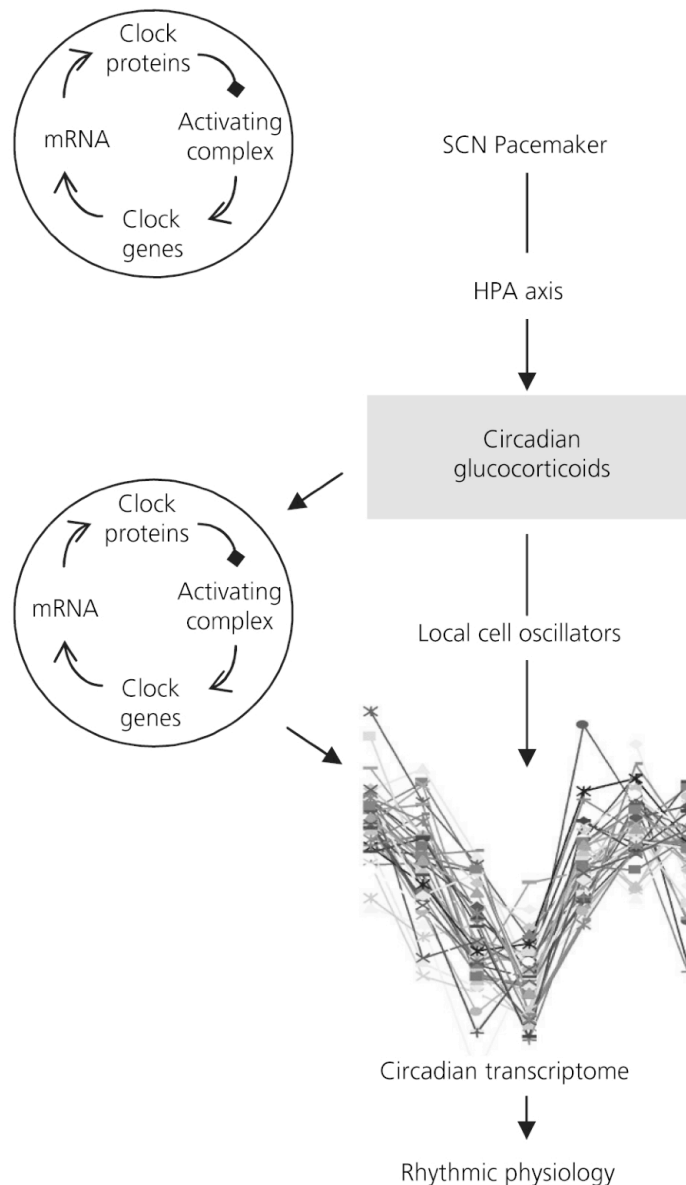


Figure 19 - Schéma représentant la hiérarchie de la régulation du rythme circadien.

Les neurones du SCN se synchronisent sur le cycle jour/nuit. Il y a activation de l'axe HPA et sécrétion des GC suivant le rythme circadien qui synchronise les autres horloges dans les autres tissus ce qui aura pour conséquence d'activer la transcription et d'induire la réponse physiologique en fonction du rythme circadien. D'après (Herbert et al., 2006).

Le NSC projette directement au niveau des NPV et indirectement par les voies dorsomédiales hypothalamiques. Les signaux sont transmis par l'AVP mais aussi par la prokinétine-2 (Cheng et al., 2002). A l'inverse de beaucoup de régions dans le cerveau, le NSC n'exprime pas de GR, suggérant que l'axe HPA ne peut pas réguler les rythmes circadiens définis par le NSC (Balsalobre et al., 2000).

b. Implication des GC dans la synchronisation des rythmes circadiens

D'autres tissus expriment les gènes horloges, c'est le cas par exemple de l'hippocampe au niveau du cerveau ou du foie au niveau périphérique. Ces horloges périphériques sont indispensables pour avoir un rythme physiologique et réguler correctement les comportements circadiens et le métabolisme (Hastings, 2000). La sécrétion circadienne des GC intervient à ce niveau. En effet, les GR agissent directement sur certains gènes, impliqués dans les horloges locales, via des GRE contenus dans ces gènes. De plus, via l'activation de facteurs de transcriptions, les GR peuvent activer indirectement les gènes horloges. Les GC vont permettre la synchronisation des différentes horloges locales par rapport à l'horloge principale qu'est le SCN.

Néanmoins, des conditions de stress chronique induisent non seulement des élévations des taux de GC mais aussi une perturbation de certaines horloges et perturbent certaines fonctions cérébrales. Dans des maladies comme la maladie de Cushing, la dépression bipolaire, des taux de GC inappropriés sont observés.

2. Stress, axe HPA et système immunitaire

La modulation du système immunitaire est complexe. En effet, il est considéré que les GC ont un rôle anti-inflammatoire et donc sont répressifs sur cette fonction. Lors d'un stress, comme il a été décrit précédemment, l'axe HPA réprime certaines fonctions non essentielles. Mais une infection est un stress. De plus, d'autres stress nécessitent une réponse inflammatoire, comme la lésion d'un tissu par exemple. Donc l'inhibition du système immunitaire semble être une réponse mal adaptée dans certaines situations. En fait les effets des GC sur le système immunitaire, et donc les phénomènes pro ou anti-inflammatoires, dépendent de plusieurs facteurs.

- Durée du stress : aigu ou chronique.
- Taux plasmatiques des GC : basal, d'un stress ou hors des valeurs physiologiques (dépend aussi du moment de la journée)
- Temps d'exposition aux GC relatif à l'activation immunitaire

- Nature du GC utilisé : synthétique ou naturel ; actif ou non actif
- Nature des récepteurs exprimés : en fonction du type de tissu ciblé
- Facteurs génétiques et autres : espèces, genre, âge

a. Effet anti-inflammatoire des GC

Dans les tissus périphériques l'effet supprimeur des GC a beaucoup été étudié. Selye et d'autres, par la suite, ont montré qu'il y avait une implication du thymus (responsable de la maturation de certaines cellules immunitaires) induite par l'apoptose de lymphocyte T immature (Sorrells et al., 2009). De plus l'exposition à des doses chroniques de GC (naturel ou synthétique) inhibe la réponse immunitaire innée et adaptative. Parmi les GC de synthèse, il est possible de citer la dexaméthasone, la bétaméthasone, la triamcinolone ou encore la prédnisone et ses dérivés (Liberman et al., 2007).

Le rôle anti-inflammatoire des GC est induit par la capacité des GR à réprimer l'activation de NF- κ B par augmentation de son inhibiteur I- κ B (transactivation). Les GR sont capables de transreprimer l'« activator protein-1 » (AP-1) dans certains types cellulaires. Ainsi les GC et les catécholamines empêchent la production de facteurs pro-inflammatoires tels que l'IL-12, l'IL-6 et le TNF α . De plus, ces hormones induisent la production de facteurs anti-inflammatoires tels que l'IL-10, l'IL-4 ou encore le TGF- β (Berrebi et al., 2003; Mocellin et al., 2003). La réponse au stress induit un effet anti-inflammatoire afin d'éviter une production excessive de facteurs pro-inflammatoires, qui dans certains cas, peuvent endommager les tissus (John and Buckingham, 2003; Ricciardi-Castagnoli and Granucci, 2002).

b. Effet inflammatoire des GC dans le SNC

Dans le cerveau, un stress aigu active des facteurs pro-inflammatoires comme NF- κ B et TNF α , mais aussi des prostaglandines et « cyclo-oxygénase-2 » (COX-2) dans le cortex (Madrigal et al., 2003; Perez-Nievas et al., 2007).

L'administration de GC, avant l'administration de LPS, induit chez les animaux une augmentation de l'expression de facteurs pro-inflammatoires. Cependant l'administration de GC, 1 heure après l'injection de LPS, diminue l'expression de ces facteurs. Comme dans les tissus périphériques, la réponse inflammatoire dans le SNC, dépend du temps d'exposition des GC (Frank et al., 2010).

L'utilisation d'antagonistes des GR diminue la réponse inflammatoire pendant un stress chronique dans le prosencéphale. Dans un modèle de stress chronique présentant une augmentation de l'expression des GR, l'administration de LPS induit une activation de

facteurs pro-inflammatoires (NF- κ B, TNF α , IL-1 β , iNOS) dans l'hippocampe, le cortex frontal mais a un effet opposé dans l'hypothalamus. Les mécanismes qui induisent des réponses différentes en fonction des régions cérébrales sont encore à ce jour inconnus. Dans le cas présent, c'est le temps d'exposition de l'élément stressant qui en est responsable, puisque toutes les régions subissent le même stress. L'exploration de ces différences tissulaires pourrait être un atout d'une part, dans la compréhension des phénomènes inflammatoires, et d'autre part dans un objectif thérapeutique. Ce phénomène est observable à l'échelle cellulaire. En effet, les GC augmentent l'expression de NF- κ B qui semble être protecteur dans les neurones, alors que dans la microglie cette activation semble être délétère (Camandola and Mattson, 2007).

Le système d'activation NF- κ B est encore plus complexe. En effet, comme il a été dit, les GR sont capables de réprimer NF- κ B via une action transactivatrice de I- β B. Cependant les GC à de faibles doses, impliquant davantage les MR, peuvent induire l'augmentation de NF- κ B. La balance entre NF- κ B et la signalisation de GR est donc importante pour prédire l'action des GC. La durée pendant laquelle NF- κ B est activé dans le noyau détermine les gènes qui seront activés (Sorrells et al., 2009).

Un autre lien existe entre GC, Inflammation et survie des neurones. En effet, la littérature contient beaucoup d'études démontrant que les GC via les GR diminuent la capacité de survie des neurones (notamment dans l'hippocampe). L'un des mécanismes proposé est que les GC diminuent le transport du glucose dans les neurones et les cellules gliales de l'hippocampe. La diminution énergétique qui en résulte induit une altération des capacités des neurones dans :

- Le recyclage du glutamate des synapses
- Elimination du calcium intracellulaire et les ROS. Ceci provoque un phénomène d'excitotoxicité induisant une réaction inflammatoire. En effet, Dinkel et ses collaborateurs ont montré que l'administration de GC augmentait le recrutement des cellules inflammatoires et la production de cytokines là où il existe une excitotoxicité (Dinkel et al., 2003).

Dans le sens inverse, l'inflammation contribue aussi à la fragilité neuronale. Il a été démontré qu'un stress aigu aggravait une ischémie par augmentation de facteurs pro-inflammatoires comme l'IL-1 β . De la même manière, un stress « sur- aigu » augmente le TNF α dans le cortex. Les dommages induits par une ischémie sont renversés par l'inhibition de l'augmentation du TNF α dans le cortex. Enfin, un stress chronique via les GR, augmente

la mort neuronale et astrocytaire, après l'injection de LPS dans le cortex. Ces observations laissent en suspens une autre question, à savoir si l'inflammation induite par les GC est une conséquence de la mort neuronale ou si elle y participe. La littérature montre que les GC augmentent l'inflammation induite par le LPS en l'absence de mort neuronale. De plus, les GC augmentent l'infiltration des cellules immunitaires avant la mort neuronale (Dinkel et al., 2003). Si l'augmentation de l'inflammation est responsable en partie de la mort neuronale, elle doit se produire en premier lieu, comme suggéré dans l'étude de Dinkel. Il serait donc plus probable que l'inflammation soit un facteur aggravant la mort neuronale induite par les GC (Sorrells et al., 2009).

3. Stress, axe HPA et mémoire

Il existe de nombreuses évidences suggérant que les GC sont impliqués dans les processus mnésiques. Encore une fois, le rôle des GC peut être positif comme négatif. En effet, plusieurs études montrent qu'une injection de GC est impliquée dans la consolidation de nouveaux souvenirs (Buchanan and Lovallo, 2001), alors que d'autres démontrent que les GC sont aussi impliqués dans l'extinction de la mémoire. En effet, l'altération des fonctions des GC perturbent les processus d'extinctions (Cai et al., 2006). De plus, les GC peuvent diminuer les phénomènes de récupération de l'information.

Pour qu'une réponse au stress soit efficace il faut une réponse comportementale appropriée (face à un prédateur, par exemple). Pour survivre l'individu doit stocker les informations relatives à la situation stressante, ce qui permettra l'anticipation lorsqu'il sera soumis à la même situation. La consolidation de la mémoire, sur les événements contextuels et la nature du stress, permet soit, d'éviter le facteur de stress lui-même soit, de lutter plus efficacement contre celui-ci.

L'encodage des expériences est plus efficace s'il existe une composante émotionnelle. C'est encore plus vrai si l'émotion est négative (Herbert et al., 2006). L'amygdale est la structure cérébrale essentielle pour répondre ou créer une émotion. En effet, lors d'un stress conditionné par la peur, si l'amygdale est endommagée, l'apprentissage sera altéré (McGaugh, 2004). Par contre, l'utilisation d'agoniste de GR dans le BLA augmente les capacités d'apprentissage. Ces effets mnésiques des GC semblent dépendre de l'interaction avec la noradrénaline à travers le BLA (Quirarte et coll.1997). En effet, il a été décrit que les GC augmentaient l'action de la noradrénaline dans la réponse comportementale au stress. Par exemple, la noradrénaline améliore la mémoire dans plusieurs tests de comportements associés à un renforcement émotionnel (McGaugh, 2004; Quirarte et al., 1997). L'amygdale

reçoit via le tractus solitaire de la noradrénaline, qui peut être augmentée par les GC. Cette interaction entre les GC et les mécanismes noradrénergiques dans le BLA pourrait expliquer les effets potentialisateurs des GC sur la mémoire associée à un renforcement émotionnel. Les GC n'ont aucun effet sur une information neutre émotionnellement parlant (Buchanan and Lovallo, 2001).

Dans le cortex frontal, la mémoire de travail peut être aussi altérée par de fortes doses de GC. De plus, s'il y a une altération d'une des structures en relation avec le cortex frontal, comme l'hippocampe, l'amygdale et notamment le BLA, les fonctions cognitives qu'il gère peuvent alors être endommagées (Roozendaal et al., 2004).

Dans l'hippocampe l'administration de GC, après l'entraînement à une tâche, augmente la consolidation de la mémoire, particulièrement lorsqu'il y a un renforcement du contexte ou des repères spatiaux. La surrénalectomie ou l'excès de GC, perturbent l'apprentissage du comportement d'échappement chez le rat alors que chez des animaux surrénalectomisés, l'application de doses physiologiques de GC restaure cette fonction. Des souris exprimant des GR mutés sur le site de leur dimérisation présentent des déficits dans la consolidation de la mémoire (Herbert et al., 2006; Oitzl et al., 2001).

Dans l'hippocampe des niveaux de base de GC sont impliqués dans l'augmentation de la potentialisation à long terme (LTP) alors que des taux élevés diminuent cette dernière. Le ratio d'occupation des MR et des GR seraient impliqués dans ces réponses. En effet, la LTP semble être optimisée lorsque les GC sont à des taux moyennement élevés ce qui correspond à un ratio d'occupation MR/GR élevé (plus de MR occupés que de GR). Après surrénalectomie, donc en présence de faible taux de GC et d'une faible occupation des MR, la LTP est diminuée (Dubrovsky et al., 1987). La même observation est faite avec l'administration d'un agoniste sélectif des GR, qui active le rétrocontrôle négatif des GC, diminuant ainsi la concentration endogène en GC, donc associée avec une faible occupation des MR. De Kloet propose d'interpréter ces phénomènes de la manière suivante : les fonctions cognitives sont favorisées lorsque la plupart des MR sont occupés et qu'une fraction seulement des GR est occupée. Par contre, lorsque les taux plasmatiques de GC sont très bas ou très élevé, le ratio d'occupation MR/GR est faible et il en résulte des détériorations cognitives. Le modèle de De Kloet suggère un taux optimal pour que les fonctions cognitives soient efficaces (de Kloet et al., 1999). Ces observations s'appliqueraient aussi chez l'humain (Herbert et al., 2006).

E. Implication de l'axe HPA dans la dépression majeure

En clinique les GC sont souvent utilisés pour soigner certaines pathologies. Comme il a été décrit dans ce chapitre les GC ont un rôle anti-inflammatoire au niveau périphérique. C'est pourquoi, l'administration de GC, peut être prescrite pour lutter contre les maladies auto-immunes, l'asthme, l'arthrite rhumatoïde ou encore les lupus. Mais, dans d'autres cas, l'axe HPA ou les acteurs de l'axe HPA, sont dérégulés par des anomalies génétiques (syndrome de résistance aux glucocorticoïdes), des tumeurs (syndrome de Cushing) ou encore par un événement traumatisant (désordre de panique, phobie, PTSD). Mais l'axe HPA fonctionne aussi anormalement dans des maladies multifactorielles (dépression, démences).

1. Interactions entre l'axe HPA, l'hippocampe, l'amygdale et le cortex préfrontal dans la dépression

a. L'hippocampe

Dans les dépressions majeures, il a été observé une augmentation du métabolisme glucidique dans l'hippocampe (Aihara et al., 2007) ainsi qu'une diminution du volume hippocampique (Hickie et al., 2005; Sheline et al., 1996). Les signes cliniques ainsi que les dysfonctionnement de la mémoire, sont inversement corrélés avec la diminution du volume hippocampique (Colla et al., 2007; Hickie et al., 2005; Sheline et al., 1996). Cette diminution hippocampique est précoce dans la pathologie. Néanmoins il n'est pas établi si c'est une cause ou une conséquence de la pathologie (Sierksma et al., 2010). Enfin, cette diminution du volume hippocampique n'est pas reliée à la perte de neurones mais plutôt à la taille des cellules granulaires et pyramidales.

b. L'amygdale

Sachant qu'il existe beaucoup d'interconnexions entre l'hippocampe et l'amygdale, l'amygdale serait aussi impliquée dans la dépression. Cependant, l'étude du volume de l'amygdale n'est pas aussi claire que l'étude de l'hippocampe. En effet, certaines études montrent des diminutions du volume amygdalien (Kronenberg et al., 2009) alors que d'autres montrent des augmentations (van Eijndhoven et al., 2009). Il semblerait qu'il existe une corrélation entre la diminution du volume amygdalien chez les patients dépressifs non traités alors que les patients traités semblent avoir un volume amygdalien plus conséquent.

De plus, les patients souffrant de dépression montrent une augmentation du métabolisme glucidique au niveau de l'amygdale, positivement corrélé avec les effets négatifs des GC, équivalents à ceux retrouvés pendant un stress chronique, et corrélé aussi avec la sévérité des symptômes dépressifs (Drevets et al., 2002).

c. Le cortex préfrontal

Les régions médianes et orbitaires présentent une hyperexcitabilité dans la dépression alors que la région dorsolatérale, est plutôt hypo-excitée et associée avec des émotions négatives (Aihara et al., 2007; Perico et al., 2005). L'hyperexcitabilité du cortex orbitaire peut être corrélée avec le niveau d'anxiété et les fonctions cognitives. De plus, dans cette région une diminution du volume et du nombre de cellules a été observée.

2. L'axe HPA dans la dépression

La dépression majeure est très fréquemment associée à des altérations neuroendocrines en particulier une hyperactivité de l'axe HPA et un déficit du rétrocontrôle négatif. Ces observations suggèrent un lien causal entre ce dysfonctionnement et l'apparition de troubles dépressifs, ce qui est renforcé par la forte occurrence d'épisodes dépressifs chez les sujets présentant un syndrome de Cushing (hypertrophie des glandes surrénales qui est à l'origine d'une hypersécrétion chronique des corticostéroïdes) (Carroll et al., 2007). Il est clair que le stress est un facteur étiologique majeur, ainsi les changements au niveau des médiateurs du stress représentent au minimum une émanation quantifiable des anomalies associées à la dépression. Ils pourraient en outre supporter ou consolider un certain nombre des autres altérations physiologiques et cliniques de la dépression majeure.

Un grand nombre des facteurs de risques génétiques ou environnementaux pour la dépression sont corrélés avec des modifications de l'activité de l'axe HPA chez l'adulte (Nemeroff, 1996). Des stressseurs de l'environnement prénatal, comme l'exposition des drogues psychotropes ou à la nicotine due à la consommation de la mère enceinte, la séparation précoce de la mère ou des traumatismes durant l'enfance peuvent prédisposer un sujet à développer une dépression à l'âge adulte accompagné d'une hyperactivité permanente de l'axe HPA (Tarullo and Gunnar, 2006).

En plus des données bien établies sur l'hypermensibilité hypothalamique et particulièrement du PVN, d'autres mesures soulignent également le rôle du système HPA dans la dépression (Pariante, 2003) : des niveaux plasmatiques, salivaires et urinaires de cortisol élevés, une diminution fonctionnelle de l'activité des récepteurs GR ou MR, une sensibilité exagérée des glandes surrénales à la stimulation par l'ACTH, une réponse affaiblie de l'hypophyse à la stimulation par le CRF, une augmentation du volume des glandes surrénales, un déficit du rétrocontrôle négatif. L'altération du rétrocontrôle négatif est une des données les mieux répliquées basée en général sur une diminution de la suppression des corticostéroïdes par la dexaméthasone (Nemeroff, 1996). Le test de suppression à la

dexaméthasone (DST), consiste à injecter un corticostéroïde exogène -la dexaméthasone- ce qui induit dans les heures suivantes une diminution des glucocorticoïdes endogènes grâce à l'activation du rétrocontrôle négatif. Ce test montre qu'une grande proportion de patients dépressifs conserve une concentration en glucocorticoïdes endogènes élevée, indiquant une altération du rétrocontrôle négatif de l'axe HPA. Un autre test, basé sur le même principe mais plus sensible pour détecter les dysfonctionnements de l'axe HPA est le test de suppression de dexaméthasone-CRF combinés qui associe l'injection de dexaméthasone suivi plusieurs heures après d'une injection de CRF. Si l'intégrité du rétrocontrôle négatif est conservée, l'injection de CRF doit entraîner une augmentation limitée d'ACTH et de cortisol. Un grand nombre de patients dépressifs présente une augmentation importante de cortisol après dexaméthasone et CRF (Holsboer, 2001). Ces derniers tests non seulement identifient des anomalies de la régulation de l'axe HPA dans la dépression mais aussi indiquent que, lorsque des patients présentent des altérations de l'axe HPA, la rémission clinique est toujours associée à normalisation de l'activité et du rétrocontrôle négatif de l'axe HPA, que la rémission soit spontanée ou qu'elle soit due à des traitements avec des antidépresseurs ou des électrochocs (Nemeroff, 1996). Une réponse à ces tests avec un niveau élevé de cortisol est corrélée avec un risque de rechute 5 à 6 fois plus élevé chez les individus qui ont déjà eu un épisode dépressif (Zobel et al., 2000). Enfin, il a été montré que chez les sujets à haut risque, les anomalies de l'activité de l'axe HPA sont préexistantes à l'apparition des premiers symptômes dépressifs (Holsboer, 2000). Ces résultats suggèrent que ces anomalies ne sont pas seulement corrélées aux troubles dépressifs mais plutôt peuvent les précipiter.

a. Implication du CRF dans la dépression majeure.

De nombreuses études ont mis en évidence un rôle du CRF dans la pathophysiologie de la dépression: une augmentation du nombre de neurones à CRF dans le PVN (multiplié par 4), du nombre de neurones sécrétant à la fois le CRF et la vasopressine, et du niveau d'expression de CRF dans les neurones du PVN (Raadsheer et al., 1994). Les effets de ces élévations du système au CRF pourraient être responsables ou contribuer directement à plusieurs signes et symptômes de la dépression. Par exemple l'injection intracérébrale de CRF chez des rongeurs induit plusieurs altérations rappelant des symptômes de la dépression : diminution du comportement alimentaire et de l'activité sexuelle, perturbation du sommeil et de l'activité, augmentation de l'anxiété (Holsboer, 2001). De plus, un polymorphisme du gène du récepteur CRF1 a été identifié et associé avec une augmentation du risque pour la dépression majeure (Liu et al., 2006).

Il semble que les effets des antidépresseurs soient également liés à des changements dans le système au CRF. En effet, la concentration du CRF dans le liquide céphalo-rachidien est diminuée par l'administration chronique d'antidépresseurs (Heuser et al., 1996). Le traitement aux antidépresseurs facilite la diminution de la synthèse du CRF à la suite de la stimulation des récepteurs aux corticostéroïdes. De plus, les antagonistes du récepteur CRF1 ont montré une certaine efficacité dans différents tests et modèles de dépression chez les rongeurs (Surget et al., 2009) mais aussi lors d'essais cliniques. Ces derniers résultats n'ont toutefois pas été confirmés dans une étude clinique récente utilisant un tel antagoniste (Binneman et al., 2008).

Enfin, il est également possible que les voies centrales du système au CRF soient également impliquées dans la dépression. En effet, ces voies participent à la réponse au stress et elles supportent notamment les effets anxiogéniques du CRF, symptômes fréquemment relevés lors d'épisode dépressifs, comme il a été montré par des souris dont le gène du récepteur CRF1 était délété d'une manière conditionnelle (souris *knock-out* –KO– conditionnelle) (Muller et al., 2003).

b. Implication de la vasopressine dans la dépression majeure

Plusieurs arguments suggèrent l'implication de la vasopressine dans la dépression majeure. Tout d'abord, le niveau de vasopressine et le nombre de cellules exprimant la vasopressine sont augmentés dans le PVN de patients dépressifs (Merali et al., 2006). Ces changements peuvent avoir des conséquences fonctionnelles directes sur l'activité de l'axe HPA, d'ailleurs la réactivité de l'hypophyse à la stimulation par la vasopressine est augmentée chez les patients. Il est également important de noter que le CRF est, lors d'un stress aigu, la principale cause de libération de l'ACTH tandis que la vasopressine prend une part de plus en plus importante dans la sécrétion de l'ACTH quand le stress devient chronique. Sachant que la dépression est par définition un état qui persiste plusieurs semaines, ces observations indiquent que l'hyperactivité de l'axe HPA dans la dépression pourrait être préférentiellement sous-tendue par la vasopressine plutôt que par le CRF. D'ailleurs, on trouve chez les dépressifs une élévation des niveaux de vasopressine qui est corrélée avec le niveau de cortisol et le risque de suicide (Meynen et al., 2006). Le niveau de vasopressine plasmatique peut être une donnée significative pour le système HPA ou lors de la dépression, étant donné que l'injection intraveineuse de vasopressine est capable d'induire directement l'élévation des niveaux d'ACTH et de cortisol. Un polymorphisme du gène du récepteur V1b de la vasopressine aurait un effet protecteur contre la dépression majeure (van West et al., 2004).

c. Implication des glucocorticoïdes dans la dépression majeure

Les anomalies dans les niveaux de glucocorticoïdes lors d'épisodes dépressifs ont déjà été décrites précédemment. Toutefois, l'implication des glucocorticoïdes dans ces troubles est renforcée par les études sur les récepteurs GR. En effet, des polymorphismes du gène du GR (membre 1 du groupe C de la sous-famille du récepteur nucléaire 3) ont été associés à une plus grande susceptibilité pour la dépression (van West et al., 2006). Des études *post mortem* chez des patients dépressifs ont montré une diminution de l'expression du GR au niveau de l'hippocampe et du cortex frontal ainsi qu'au niveau du PVN et de l'hypophyse (Webster et al., 2002). Ces modifications pourraient être reliés à une hyperactivité de l'axe HPA et expliquer la diminution du rétrocontrôle négatif.

Les techniques d'inactivation de gène ont également mis en évidence le rôle des GR dans les comportements dépressifs-like. Des souris dépourvues de GR dans le cerveau présente une augmentation du CRF et des glucocorticoïdes en condition basale et une diminution du comportement "anxiété-like" et de l'immobilité dans le FST (Tronche et al., 1999). Une autre équipe a généré des souris dont le GR n'est plus exprimé dans les régions antérieures du cerveau (Boyle et al., 2005). Ces souris ont un taux plus élevé de glucocorticoïdes, une réduction des comportements "anxiété-like" mais une diminution de la consommation de sucrose et une augmentation de l'immobilité dans le FST ce qui suggère un profil "dépression-like". En plus, le DST révèle une altération du rétrocontrôle négatif de l'axe HPA chez ces souris, indiquant que les GR hypothalamiques et hypophysaires seuls ne sont pas suffisants pour induire un rétrocontrôle efficace. Le rôle critique des GR corticolimbiques dans la perturbation du rétrocontrôle négatif de l'axe HPA est d'ailleurs souligné dans une étude de Mizoguchi *et coll* (2003) (Mizoguchi et al., 2003). Dans cette étude, ces auteurs ont utilisé des rats dans un état "dépressif-like" à la suite d'une procédure de stress chronique imprédictible et des administrations de dexaméthasone *in situ*. Tandis que la suppression du niveau de corticostérone à la suite de l'injection de dexaméthasone dans l'hypothalamus est observée à la fois chez les rats « contrôles » et chez les rats « dépressifs », la même injection dans l'hippocampe ou le cortex préfrontal est par contre incapable d'induire cette suppression chez les rats « dépressifs » au contraire des rats « contrôles ».

Enfin, quelques études ont démontré que les GR pouvaient être une cible thérapeutique pour le traitement de la dépression (Wolkowitz and Reus, 1999; Wolkowitz et al., 1999). Des inhibiteurs de la synthèse des hormones corticostéroïdes comme la métyrapone, l'aminoglutéthamide ou le kétoconazole, pourraient être utilisés pour lutter contre

l'hyperactivité de l'axe HPA et même contre la dépression soit seul, soit en association avec un antidépresseur classique (Jahn et al., 2004). De plus, la mifepristone (RU489), un antagoniste du GR, induit une amélioration des symptômes après seulement quelques jours de traitement chez un certains nombre de patients (Belanoff et al., 2002). Malheureusement, ces produits n'ont pas une action spécifique sur le système nerveux central et leurs effets secondaires sont rédhibitoires pour envisager un usage clinique en cas de dépression (Holsboer and Barden, 1996; Wolkowitz and Reus, 1999).

3) Cas de la dépression atypique

L'hyperactivité de l'axe HPA (CRF, vasopressine, glucocorticoïdes) et l'affaiblissement de son rétrocontrôle négatif semblent donc être des altérations neuroendocriniennes clés dans la dépression. Elles peuvent jouer un rôle important dans des symptômes comportementaux tels que l'élévation de l'anxiété, l'insomnie, les pertes d'appétit et de libido, les carences cognitives (Holsboer, 1999).

Il est assez remarquable que les altérations précitées ressemblent à celles qui sont caractéristiques du sous-type mélancolique de la dépression majeure. En effet, plusieurs auteurs ont établi que l'activation systématique des systèmes du stress et de ses médiateurs pouvait être une caractéristique de la dépression mélancolique. Sachant que les symptômes comportementaux de la dépression atypique (léthargie, fatigue, hypersomnie, augmentation de l'appétit, ...) semblent être le reflet inverse de ceux de la forme mélancolique, ces même auteurs ont suggéré qu'un profil neuroendocrinien opposé (*i.e.* une hypoactivité pathologique des systèmes de stress) pouvait être à la base de ces différences (Antonijevic, 2006; Gold and Chrousos, 2002). En effet, Chrousos et Gold ont initialement montré dans la dépression atypique une activité réduite de l'axe HPA, de la sécrétion du CRF et de la fonction noradrénergique (Gold and Chrousos, 1992). D'autres travaux ont depuis appuyé cette hypothèse même si un manque de consensus clair sur les caractéristiques cliniques de la forme atypique peut être à l'origine de quelques discordances (Benazzi, 2003).

Parmi les résultats confirmant cette hypothèse, une diminution du niveau de CRF dans le liquide céphalo-rachidien et un faible niveau de cortisol au regard du niveau d'ACTH ont été mis en évidence chez des patients avec la forme atypique de la dépression majeure (Anisman et al., 1999). À l'inverse du sous-type mélancolique, l'injection de dexaméthasone induit une hyper-suppression de la sécrétion de cortisol dans le DST, indiquant un rétrocontrôle négatif excessif de l'axe HPA dans la dépression atypique (Levitan et al., 2002). En outre, les patients avec des symptômes dépressifs atypiques et un faible niveau de cortisol peuvent répondre

cliniquement à l'administration exogène de glucocorticoïdes ce qui place la réduction du niveau de cortisol comme une possible cause de ces symptômes. Dans d'autres maladies psychiatriques présentant des caractéristiques communes avec les symptômes atypiques de la dépression, une corrélation négative entre les symptômes neurovégétatifs atypiques et le niveau de cortisol plasmatique a été trouvée dans la boulimie nerveuse, tandis que la dépression saisonnière est associée à une réponse réduite suite à l'injection de CRF exogène (Joseph-Vanderpool et al., 1991).

Au regard de ces résultats, il a été postulé que l'hypoactivité de l'axe HPA puisse contribuer à la léthargie, à la fatigue, à l'hyperphagie et aux symptômes neurovégétatifs qui caractérisent la dépression atypique (Gold and Chrousos, 2002). En tout cas, ces données indiquent que l'hypercortisolémie (soit basale, soit par faute de rétrocontrôle efficace) n'est pas la seule anormalité de l'activité de l'axe HPA dans la dépression. Cela démontre qu'un fonctionnement optimal du système nerveux central nécessite le maintien des médiateurs des systèmes de réponse au stress dans un intervalle physiologiquement profitable, et qu'au-delà une hypo- ou une hyperactivité de ces systèmes peut être responsable de déficiences et d'altérations pathologiques.

INTRODUCTION

Chapitre IV – La neurogenèse adulte

IV. La neurogenèse adulte

Le neurogenèse est le processus de production de nouveaux neurones dans le cerveau. A l'origine, elle était uniquement décrite pendant la période de développement d'un individu. Le dogme de Ramon y Cajal (1913) selon lequel le cerveau adulte était incapable de générer de nouveaux neurones, s'est d'abord heurté aux travaux d'Altman dans les années 1960, où ce dernier avait mis en évidence la genèse de nouvelles cellules dans le cerveau du Rat et du Chat adulte, par autoradiographie à la thymidine tritiée (Altman and Das, 1966). Malheureusement, il n'était pas certain que les nouvelles cellules s'apparentent aux cellules neuronales. Les travaux de Kaplan et Hinds (1977) ont permis de confirmer ce phénomène en utilisant une analyse ultrastructurale des cellules marquées. L'utilisation quelques années plus tard d'une combinaison de marqueurs spécifiques neuronaux et d'un analogue marqué de thymidine ; le 5-bromo-2'-déoxy-uridine (BrdU) ; a permis de confirmer le phénotype neuronal (Cameron and Gould, 1994).

Le processus de neurogenèse adulte est principalement localisé dans deux régions cérébrales : la zone subventriculaire (ZSV) et la zone subgranulaire (SGZ) du gyrus dentelé de l'hippocampe.

Dans ce chapitre, après une brève description de la neurogenèse dans les bulbes olfactifs chez les mammifères adultes, seront développés plus en détails la neurogenèse hippocampique et son implication dans la dépression qui sont au centre de cette thèse.

A. *Production de nouveaux neurones dans la ZSV*

Dans le cerveau de mammifères adultes, les nouveaux neurones sont ajoutés aux bulbes olfactifs (BO) au cours de la vie. Chez les rongeurs, la région germinale adulte pour la neurogenèse dans les BO est la zone subventriculaire (ZSV), une couche de cellules située le long de la cloison des ventricules latéraux du cerveau (Alvarez-Buylla and Garcia-Verdugo, 2002). Les neuroblastes produits dans la ZSV migrent dans la région éloignée des BO pour se différencier en interneurones. La plupart de ces neurones s'intègrent dans des circuits fonctionnels (Belluzzi et al., 2003; Carleton et al., 2003), et la moitié survit à long terme (Petreanu and Alvarez-Buylla, 2002). La prolifération des cellules dans la ZSV dure tout au long de la vie (Kuhn et al., 1996; Molofsky et al., 2006), avec des centaines de nouveaux neurones générés chaque jour, chez la Souris (Lois and Alvarez-Buylla, 1994), ce qui est au

moins 10 fois supérieur au renouvellement des neurones dans l'hippocampe. La ZSV adulte est aussi une zone qui génère des oligodendrocytes (Parent et al., 2006; Picard-Riera et al., 2002). Cette capacité de générer de nouveaux types cellulaires suppose la présence de cellules précurseurs multipotentes, ou cellules souches neuronales (CSN) dans la ZSV. Le système ZSV-BO est attrayant pour l'étude de la neurogenèse, du renouvellement cellulaire, notamment des CSN, du destin des progéniteurs, du processus de migration et de différenciation des jeunes neurones (Figure 20).

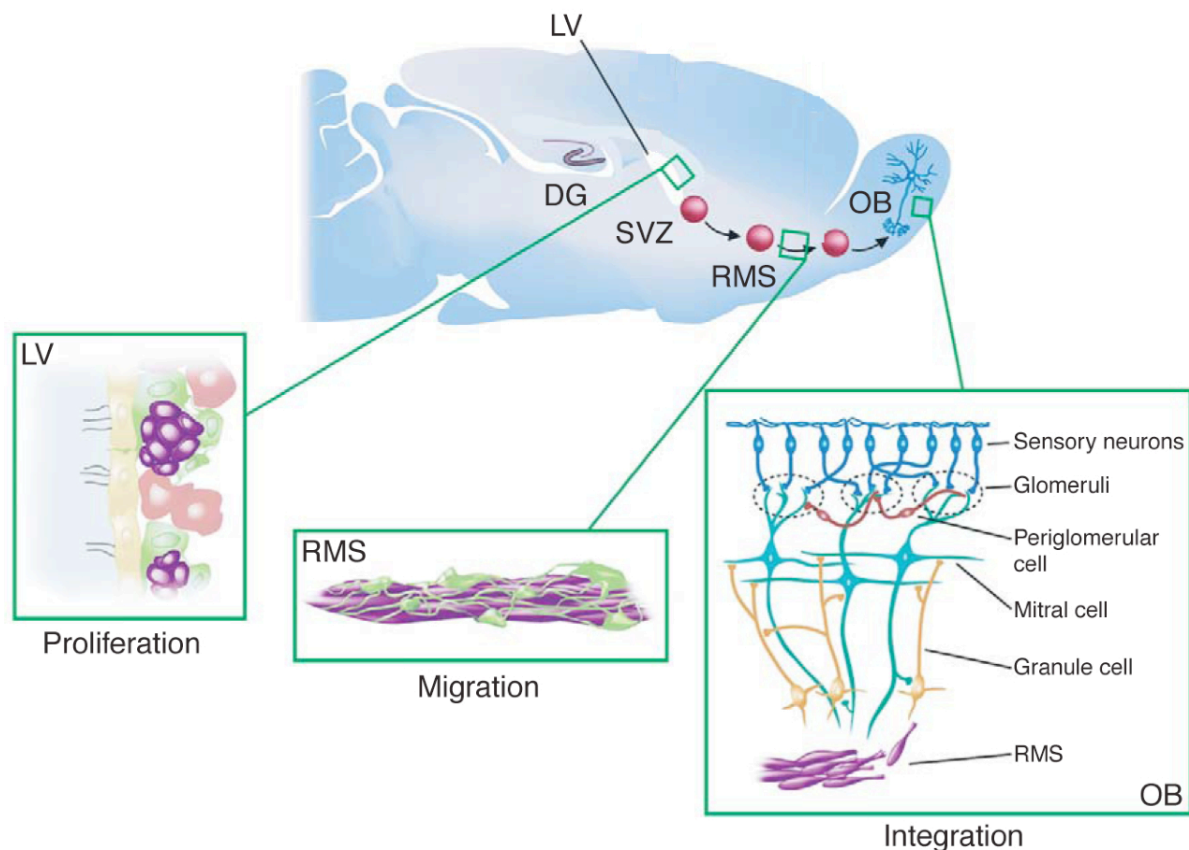


Figure 20 – Coupe sagittale schématique d'un cerveau de rongeur indiquant les étapes de la neurogenèse dans la zone subventriculaire.

Les nouveaux neurones prolifèrent à partir de précurseurs dans la zone subventriculaire (ZSV) située dans les ventricules latéraux (LV). Les cellules nouvellement formées vont migrer en empruntant le courant de migration rostrale (RMS). Une fois arrivées dans la zone des bulbes olfactifs (OB), les cellules vont se différencier et intégrer les réseaux neuronaux. D'après (Lledo and Saghatelian, 2005).

1. La prolifération cellulaire

La ZSV contient au moins 4 types cellulaires définis en fonction de leur morphologie, de leur ultrastructure et de leur signature moléculaire (Doetsch et al., 1997). Les jeunes neuroblastes en migration (cellules de type A) forment des chaînes qui sont entourées par des cellules "astrocyte-like" (cellules de type B) exprimant la « glial fibrillary acidic protein » (GFAP). Des précurseurs plus sphériques et fortement prolifératifs (cellules de type C), qui n'expriment pas la GFAP, forment des amas à côté des chaînes formées par les cellules de type A. La ZSV est séparée du ventricule par une couche de cellules épendymaires (cellules de type E). Les cellules de type B interagissent étroitement avec les cellules de type E et occasionnellement elles contactent la lumière du ventricule. Tandis que les cellules E possèdent de nombreux cils qui contactent le lumen du ventricule, les cellules B ne possèdent qu'un cil court, tout comme les progéniteurs neuronaux de l'embryon. Les cellules A, B et C sont capables de se diviser. Il a été montré que quelques jours après l'ablation des cellules de type A et C à l'aide d'un traitement avec un antimitotique (cytosine arabinofuranoside, AraC), on détecte de nouveau la présence de cellules de type A et C au sein de la ZSV (Doetsch et al., 1999a; Doetsch et al., 1999b). Ainsi, le lignage suivant a été proposé : les cellules B donnent naissance aux cellules C. Ces progéniteurs intermédiaires donneront naissance à des neuroblastes (cellule de type A) exprimant des marqueurs tels que PSA-NCAM (« polysialated neural cell adhesion molecule »), et la doublecortine (DCX). Ces neuroblastes vont alors amorcer leur migration le long du courant de migration rostral pour se différencier dans les bulbes en cellules granulaires ou en neurones périglomérulaires.

2. La migration cellulaire

Chez la souris adulte, la distance entre la ZSV et le BO est approximativement de 5 mm. Les neuroblastes migrent tangentiellement sous forme de chaînes homotypiques, cheminant accolés les uns aux autres sur une voie déterminée. Durant cette migration, ils sont entourés de cellules gliales de type astrocytaire, constituant ainsi « le tube astrocytaire ». Les neuroblastes semblent l'utiliser afin d'orienter leur migration. De plus le tube astrocytaire semble jouer un rôle dans le passage des neuroblastes de leur forme motile à une phase mitotique (Lim and Alvarez-Buylla, 1999; Lois et al., 1996). En effet, lorsque les neuroblastes établissent un contact avec le tube astrocytaire, ils peuvent s'arrêter et subir un nouveau cycle de mitose. De nombreux facteurs régulent la migration tangentielle (la ténascine-C et les protéoglycanes à chondroïtine sulfate, l'intégrine B1, Les protéines SLIT, La PSA-NCAM, la protéine ADAM2).

Arrivés au niveau du bulbe olfactif, les neurones en migration se détachent de leurs chaînes et migrent individuellement et radialement vers les couches granulaires et glomérulaires du bulbe olfactif. A la jonction entre la fin du courant de migration rostral et le BO, l'expression du facteur de transcription *ARX* (aristaless-related homeobox gene) est nécessaire pour l'entrée des neuroblastes dans le BO (Yoshihara et al., 2005). Une fois que les neuroblastes y sont entrés, d'autres facteurs régissent leur positionnement et leur différenciation. La *Reelin*, protéine de la matrice extracellulaire (MEC), sécrétée par les cellules mitrales, joue un rôle important dans le positionnement neuronal du cerveau en développement, et semble être à l'origine du détachement des neuroblastes de leur chaîne (Hack et al., 2002).

3. La différenciation et l'intégration des nouveaux neurones

L'utilisation de rétrovirus recombinants pour la GFP permet de marquer et de visualiser à long terme les cellules nouvellement formées dans la ZSV. Ainsi, il est possible de caractériser les propriétés morphologiques et électrophysiologiques des néoneurones bulbaires durant leur migration et leur différenciation (Belluzzi et al., 2003; Peretto et al., 1997).

a. Les nouveaux neurones granulaires

On distingue 5 types de néoneurones granulaires en fonction de leur stade de maturation morphologique (pour revue, (Lledo et al., 2006)) .

Différentes études se sont intéressées à l'intégration synaptique des néoneurones granulaires dans le réseau préexistant (Kelsch et al., 2008; Whitman and Greer, 2007). Le néoneurone granulaire peut être fonctionnellement divisé en trois parties. Le domaine basal et le domaine proximal qui se trouvent au niveau de la CCG, et qui sont connectés d'une part par les synapses glutamatergiques des collatérales axoniques des neurones de projection, et d'autre part par les synapses glutamatergiques des afférences corticales. Enfin, le domaine distal qui se trouve dans la CPE et qui forme les synapses dendro-dendritiques avec les dendrites latérales des cellules de projection (Balu et al., 2007; Nissant et al., 2009).

b. Les nouveaux neurones périglomérulaires

Le développement dendritique et axonal des cellules périglomérulaires est plus lent que celui des cellules granulaires puisqu'elles ne seraient matures qu'à leur 4ème semaine de vie (Belluzzi et al., 2003). Leur maturation est dépendante de l'activité du réseau puisque la synaptogénèse des néoneurones périglomérulaires est plus rapide lorsqu'ils intègrent un

réseau bulbaire stimulé par l'exposition à un environnement enrichi en odeurs (Livneh et al., 2009). La population d'interneurones périglomérulaires est hétérogène, pouvant être GABAergiques et dopaminergiques ou GABAergiques seuls.

4. Mort et survie des nouveaux neurones

La phase d'intégration des néoneurones dans le réseau est accompagnée d'une période durant laquelle la moitié des néoneurones meurt. En effet, comme pendant le développement, de nombreux neurones sont créés, mais seuls ceux qui se sont intégrés correctement survivent. En ce qui concerne les neurones granulaires le début de la période de mort semble bien établi puisque la grande majorité des études s'accorde sur le fait qu'elle débute lorsque les néoneurones sont âgés d'environ 15 jours, âge auquel ils commencent à intégrer le réseau bulbaire (Magavi et al., 2005; Mouret et al., 2008; Petreanu and Alvarez-Buylla, 2002; Winner et al., 2002; Yamaguchi and Mori, 2005).

Pour les cellules de la couche glomérulaire, les données de la littérature s'accordent sur le fait que leur période de mort diffère de celle des cellules granulaires. Elle débiterait ainsi entre le 15ème et le 21ème jour de vie, voire exceptionnellement le 30ème jour de vie et s'achèverait 6 mois plus tard (Bovetti et al., 2009; Mandaïron et al., 2006; Winner et al., 2002).

5. Fonctionnalité des nouveaux neurones

Le rôle physiologique de la neurogenèse dans la ZSV est de réguler la plasticité synaptique dans les BO et jouerait un rôle fonctionnel dans l'olfaction (Nissant et al., 2009). Récemment, il a été montré que la neurogenèse dans l'hippocampe et les BO (Mak and Weiss, 2010) aurait une place dans la reconnaissance du souriceau. Les nouveaux interneurones des BO sont préférentiellement activés par les odeurs des souriceaux par la voie de signalisation de la prolactine. Plus généralement, il semble que les nouveaux neurones soient impliqués dans la mémoire olfactive. Le fait de souiller la litière avec des odeurs d'animaux mâles, augmente le nombre de nouveaux neurones dans les BO de souris (Oboti et al., 2009). Par ailleurs, l'ablation de la neurogenèse dans les BO par l'AraC, induit une altération de la mémoire olfactive à court terme (Breton-Provencher et al., 2009). Il est intéressant de noter que la prévention de la mort neuronale dans les BO par des inhibiteurs de caspase, altère aussi la discrimination d'odeurs, révélant un rôle important du renouvellement neuronal (Lazarini et al., 2009).

B. Production de nouveaux neurones dans la SGZ

La neurogenèse hippocampique est possible grâce à la présence de cellules souches dans la zone subgranulaire (ZSG) du gyrus dentelé de l'hippocampe. Ces cellules souches évoluent en progéniteurs neuraux qui peuvent produire plusieurs types cellulaires du système nerveux central tels que des neurones, des astrocytes, des oligodendrocytes, ou des cellules microgliales (Zhao et al., 2008).

Chez les rongeurs, la durée du cycle mitotique de ces précurseurs en prolifération est de 12h à 24h pour une production d'environ 8000 à 10000 nouveaux neurones par jour (McDonald and Wojtowicz, 2005). Sachant que le gyrus dentelé comprend approximativement un million de cellules granulaires, ce phénomène est donc capable d'engendrer l'ajout quotidien d'un peu moins de 1% du total de cellules granulaires. Toutefois, la proportion de néoneurones qui survivent au-delà d'un mois n'atteint pas plus de 50% et cette production de nouvelles cellules pourrait s'équilibrer avec la perte quotidienne de cellules granulaires matures. Parmi les cellules qui survivent, se trouve majoritairement un phénotype neuronal (75%), principalement des cellules granulaires glutamatergiques mais aussi parfois des interneurones GABAergiques de type cellules en panier. Une plus faible proportion de ces cellules se différencie en astrocytes (15%), en oligodendrocytes ou en microglie (Steiner et al., 2004). Les étapes du développement des nouveaux neurones sont présentées à la Figure 21.

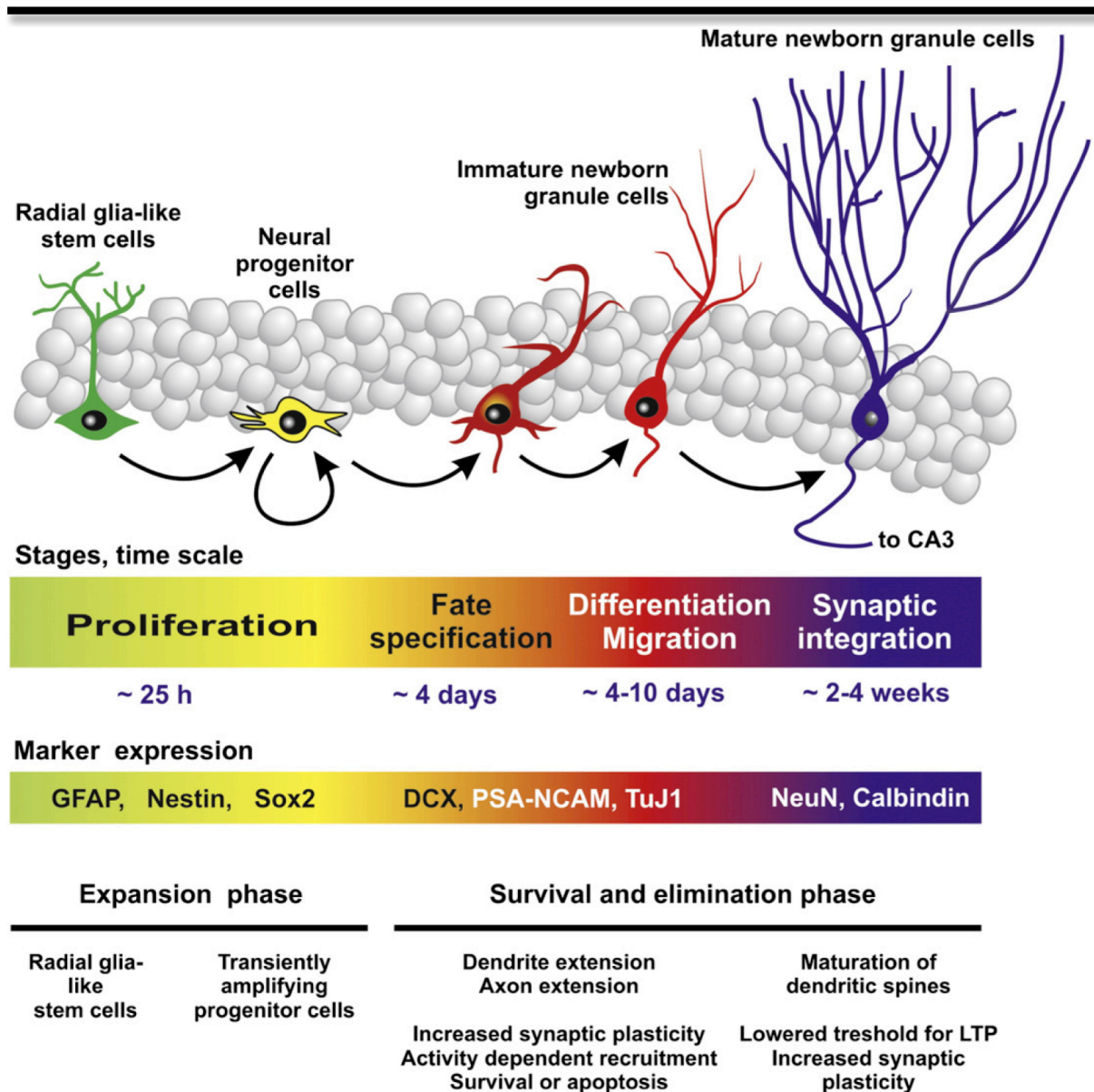


Figure 21- Etapes de la vie d'un nouveau neurone dans la zone subgranulaire du gyrus dentelé de l'hippocampe.

Un précurseur devenant neurone va exprimer de sa naissance à son état mature différents marqueurs cellulaires spécifiques qui sont modifiés au cours du temps. D'après (Lucassen et al., 2010).

1. Niche neurogénique

La neurogenèse hippocampique adulte est à l'origine d'un seul type neuronal : les cellules granulaires du gyrus dentelé. Ces cellules sont les principaux neurones excitateurs du gyrus dentelé (DG). Ils reçoivent des connexions du cortex entorhinal et envoient leurs projections le long des fibres moussues de la région CA3, où elles se terminent dans des structures riches en synapses et interneurons. Elles ont un rôle excitateur sur les cellules

pyramidales de la région CA3 et les neurones du hilus. Les précurseurs sont situés entre la zone granulaire et le hilus, aussi appelé zone subgranulaire (ZSG).

La ZSG contient un microenvironnement qui permet le développement neuronal. Par analogie aux autres systèmes de cellules souches dans le corps, ce microenvironnement est appelé niche neurogénique. Cette niche comprend les précurseurs, les neurones immatures, des cellules gliales et endothéliales, de la microglie et quelques cellules immunitaires. La niche est entourée par une membrane basale. A cause de l'importance du rôle de la vascularisation de cette région, cette niche est aussi appelée niche vasculaire (Palmer et al., 2000). Les précurseurs de type-1, de qui proviennent la neurogenèse, sont insérés à la vascularisation dans la ZSG (Filippov et al., 2003) ; le VEGF (pour « vascular endothelial growth factor ») est par conséquent un important régulateur de la neurogenèse adulte (Schanzer and Eisenberg, 2004), et une relation complexe existe entre les cellules endothéliales et les précurseurs. Dans tous les cas, cette niche fournit un milieu unique permettant le développement neuronal. Des études suggèrent que les astrocytes locaux ont un rôle clef pour la neurogenèse. *In vivo*, le développement des cellules présentent une relation spatiale privilégiée avec les astrocytes (Shapiro et al., 2005). *Ex vivo*, les astrocytes et les facteurs dérivés des astrocytes sont de puissants inducteurs de neurogenèse pour les précurseurs hippocampiques (Barkho et al., 2006).

La ZSG est aussi particulière puisqu'elle reçoit des connexions de plusieurs régions cérébrales : des fibres dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale, des projections sérotoninergiques des noyaux du raphé, des connexions acétylcholinergiques du septum, et des connexions GABAergiques d'interneurones locaux. La manipulations de ces systèmes de neurotransmetteurs a montré des effets régulateurs sur la neurogenèse (Bengzon et al., 1997 ; Cooper-Kuhn et al., 2004 ; Dominguez-Escriba et al., 2006).

2. Les stades cellulaires de la neurogenèse hippocampique

La neurogenèse peut être divisée en 4 étapes : la phase des cellules précurseurs, une première phase de survie, une phase de maturation post mitotique, et une phase tardive de survie. D'un précurseur radiale présentant une ressemblance de marqueurs astrocytaires (exprimant la GFAP), la neurogenèse adulte progresse vers 3 étapes de progéniteurs associées à une haute activité de prolifération, puis vers une étape de maturation postmitotique pour enfin donner une cellule granulaire (Encinas et al., 2006; Filippov et al., 2003). Après la sortie de l'état de précurseur, le processus devient de plus en plus qualitatif.

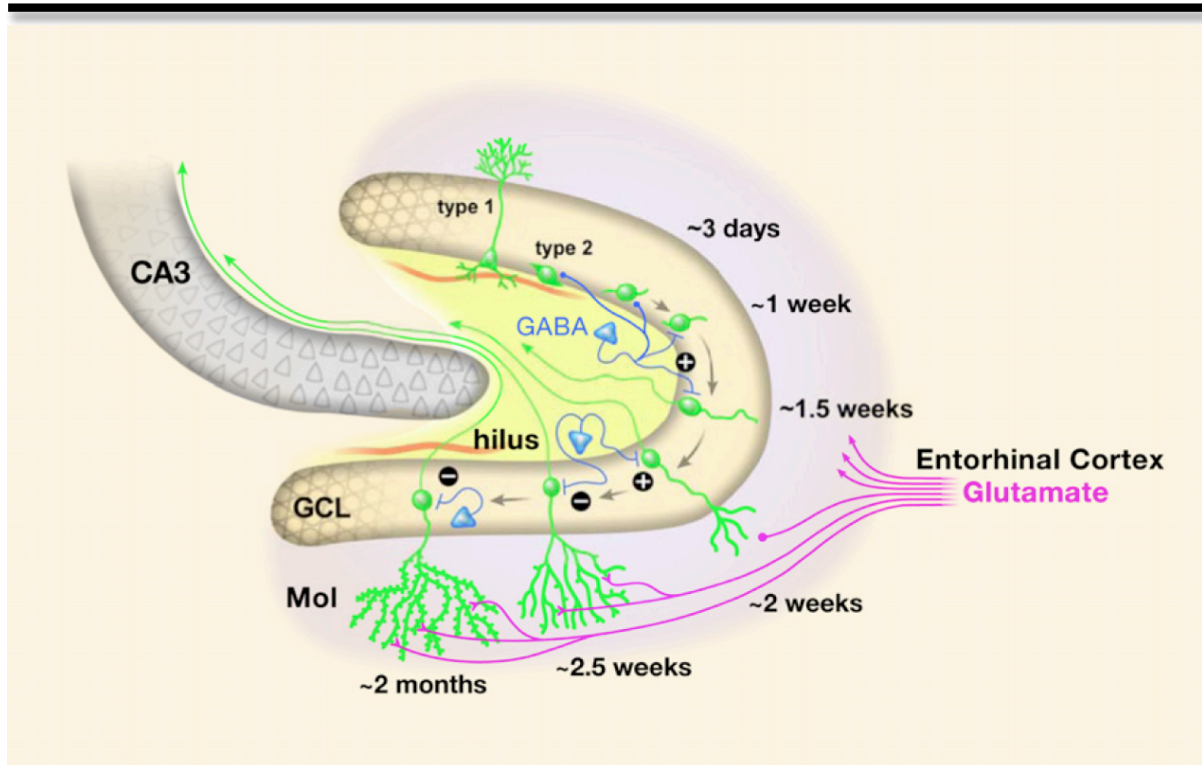


Figure 22 – Représentation schématique des stades cellulaires de la neurogenèse adulte dans l'hippocampe.

Les cellules de type-1 vont se différencier en type-2 à partir de la ZSG. Si la cellule exprime les marqueurs de type-2b, elle donnera une cellule granulaire de la couche granulaire (GCL). Pendant cette étape, les axones vont établir leur connexion au niveau de CA3. Le développement des dendrites vers la couche moléculaire (Mol) poursuit ce processus, pour finalement donner un neurone mature, intégré aux réseaux neuronaux existants. D'après (Zhao et al., 2008).

a. Le stade de cellule précurseur

Les précurseurs sont tout d'abord des cellules possédant des propriétés gliales. Un sous-ensemble des précurseurs présente des caractéristiques et morphologies de glie radiale. Le corps cellulaire se situe dans la ZSG, et les prolongements dendritiques s'étendent dans la couche moléculaire. La nature astrocytaire des précurseurs hippocampaux a été révélée par Seri et collaborateurs (2001).

Les cellules précurseurs de type-1 donnent ensuite un progéniteur intermédiaire, les cellules de type-2, qui ont une forte activité de prolifération. Un sous-ensemble de ces cellules continue l'expression de marqueurs gliaux, mais pas les caractéristiques morphologiques des cellules radiales (type-2a). Les cellules de type-2 qui expriment les filaments de nestine (comme les cellules de type-1) expriment également les marqueurs NeuroD1 et Prox1. Ce

phénotype particulier permet de classer les cellules en type-2b (Steiner et coll., 2006). Prox1 est spécifique du développement de cellule granulaire.

A l'étape cellulaire de type-2, les cellules en développement reçoivent des connexions GABAergiques (Tozuka et al., 2005). Ces cellules deviennent de plus en plus sensibles aux stimulations GABAergiques. De même, les cellules de type-1 répondent à ces stimulations en augmentant la prolifération cellulaire (Huttmann et al., 2003).

Parmi les premiers marqueurs neuronaux exprimés, la doublecortine (DCX) s'exprime sur les cellules de type-2b. L'expression de la DCX s'étend de la phase de prolifération à la maturation post mitotique, qui dure environ 2 à 3 semaines (Couillard-Despres et al., 2005; Rao and Shetty, 2004).

b. La première phase de survie

Rapidement après la sortie du cycle cellulaire, les nouveaux neurones expriment des marqueurs, tels NeuN (« neuronal specific nuclear protein ») et le marqueur transitoire calretinine (Brandt et al., 2003). Une majorité des cellules n'ayant pas réussi à établir des connexions avec la couche moléculaire meurent. En revanche, les cellules ayant établi des connexions stables, ont un développement de l'arborisation dendritique stable qui se prolonge de façon spécifique dans le temps. Dans les jours qui suivent la sortie du cycle cellulaire, les nouvelles cellules envoient leur axone vers leur cible de la région CA3 pour former des synapses appropriées. Cette période est jumelée à l'expression d'un médiateur protéique, TOAD-64 ou TUC-4, impliqué dans le guidage axonique.

Les premières connexions, GABAergiques, sont excitatrices, puis deviennent inhibitrices quand suffisamment de connexions glutamatergiques sont établies (Tozuka et al., 2005). L'action du GABA conduit les cellules à maturer en cellules glutamatergiques et les conduisent à l'intégration synaptique (Ge et al., 2007).

La plupart des régulations sont mises en place à l'étape du développement neuronal, et rarement pendant la phase d'expansion (Kempermann et al., 2006).

c. Le stade de maturation post mitotique

Les cellules matures augmentent l'activité du promoteur de pro-opiomelanocortin (POMC). Une lignée de souris transgéniques qui exprime la GFP (pour « green fluorescent

protein ») sous le contrôle du promoteur de POMC est utilisée pour l'étude des neurones immatures.

La même approche par lentivirus a permis d'étudier le développement des épines dendritiques dans des cellules en prolifération (Zhao et al., 2006). Cette technique a permis de mettre en évidence que la croissance axonique vers CA3 précède le développement de l'arborisation dendritique.

Les nouveaux neurones expriment une résistance à la formation de connexions jusqu'à pouvoir établir des connexions propres aux cellules granulaires matures (Couillard-Despres et al., 2006; Schmidt-Hieber et al., 2004; van Praag et al., 2002).

d. Le stade de maturation tardive

La période d'expression de la calrétinine de 3-4 semaines, est étroitement liée à la maturation dendritique. Après l'intégration complète aux circuits existant, les nouvelles cellules passent de la protéine liée au calcium calrétinine à la calbindin (Brandt et al., 2003). Le processus s'étend encore sur plusieurs semaines avant que les cellules ne soient plus distinguables électrophysiologiquement des neurones matures (van Praag et al., 2002). Il a été postulé que la période nécessaire à la complète fonctionnalité de ces jeunes neurones, considérant la formation active de synapses, est liée à la formation et au stockage de nouveaux éléments de mémoire (Aimone et al., 2006).

Il faut distinguer ce processus de développement neuronal des événements qui régulent la neurogenèse hippocampique. En effet, il existe de nombreux facteurs, aussi bien environnementaux, cellulaires, moléculaires, génétiques et pharmacologiques qui modulent la neurogenèse hippocampe.

Des études récentes, en utilisant des techniques d'ablation de la neurogenèse hippocampique par irradiation aux rayons X ou gamma, ont permis de montrer que la LTP en réponse à une stimulation du MPP (« medial perforant pathway ») recrute directement les jeunes neurones (Wang et al., 2008). En fait, l'enregistrement de cellules montre que les jeunes neurones sont plus excitables que les neurones matures de la couche granulaire (Schmidt-Weber, 2000). Il semblerait que les récepteurs NMDA contenant les sous-unités NR2B soit responsables de l'augmentation de la LTP (Ge et al., 2007).

C. *Régulation de la neurogenèse hippocampique*

Comme montré précédemment, la neurogenèse adulte provient de cellules progénitrices dans deux régions principales du système nerveux central chez les mammifères (Abrous et al., 2005; Lledo et al., 2006; Ming and Song, 2005). Ce processus particulier est régulé par de nombreux facteurs physiologiques tels que les systèmes de neurotransmission, les facteurs de croissance, les neuropeptides, les facteurs de transcription, les systèmes psychotropes endogènes, les hormones sexuelles, le stress et encore bien d'autres facteurs (pour revue (Balu and Lucki, 2009; McEwen, 2010)) mais aussi des tâches comportementales comme l'apprentissage ou l'exercice physique (Zhao et al., 2008). Dans cette section, je développerai essentiellement l'implication des neurotransmetteurs monoaminergiques, glutamatergiques, GABAergiques et des neurotrophines dans la neurogenèse hippocampique, qui sont davantage liés à la thématique de mon travail de thèse.

1. Les neurotransmetteurs

a. Implication des systèmes monoaminergiques

Une revue de l'implication des systèmes monoaminergiques dans la neurogenèse est présentée dans le Tableau 11.

1) Le système sérotoninergique

a) La sérotonine

Les terminaisons sérotoninergiques provenant du raphé dorsal et médian innervent, entre autres, le hilus, la couche moléculaire ainsi que la ZSG du gyrus dentelé. Les connexions du raphé vers l'hippocampe ont une part importante dans la régulation de la neurogenèse chez les mammifères adultes. Ainsi, la déplétion de sérotonine par l'inhibiteur de synthèse, parachlorophenylalanine (PCPA) ou par la neurotoxine sérotoninergique, 5,7-dihydroxytryptamine (5,7-DHT) chez des rats femelles adultes diminue la prolifération cellulaire et le nombre de neurones immatures dans l'hippocampe (Banasr et al., 2001; Brezun and Daszuta, 1999). Il en est de même chez des rats mâles puisque l'administration de 5,7-DHT diminue également la prolifération cellulaire, la survie, et le nombre de jeunes neurones (Jha et al., 2006).

b) Les récepteurs de la sérotonine

Le rôle de la sérotonine et de ses récepteurs dans la régulation de la neurogenèse hippocampique chez les mammifères adultes a été étudié par des approches pharmacologiques

et génétiques. Parmi les 15 récepteurs de la sérotonine identifiés, il n'est toujours pas établi lesquels d'entre eux sont primordiaux dans la régulation de ce processus. Les plus étudiés à ce jour restent le récepteur 5HT_{1A} et le récepteur 5HT_{2C} (Tableau 9).

L'activation des récepteurs 5-HT_{1A} par un agoniste comme 8-OH DPAT augmente la prolifération dans la ZSG chez les rongeurs (Banar et al., 2004; Klempin et al., 2010; Santarelli et al., 2003; Soumier et al., 2010). En revanche, ce même agoniste n'altère pas la différenciation, et sa capacité à réguler la survie n'est pas encore clair (Sahay and Hen, 2007). Les études pharmacologiques utilisant des antagonistes du récepteur 5-HT_{1A}, au contraire de l'approche génétique (Santarelli et al., 2003), confirment le rôle de ce récepteur dans la prolifération cellulaire, puisque qu'une diminution de cette étape est observée (Radley and Jacobs, 2002). Cependant, il est peu probable que les effets neurogénique de l'activation des récepteurs 5-HT₁ soit directe, puisque ces derniers ne sont que peu exprimés dans la ZSG chez le Rat (Sahay and Hen, 2007). Leur expression est restreinte aux cellules granulaires matures (Patel and Zhou, 2005).

Les récepteurs 5HT₂ semblent eux aussi avoir un rôle prépondérant dans la neurogenèse hippocampique. Il a en effet été montré que le blocage des récepteurs 5HT_{2A/2C} par un traitement chronique de kétansérine, augmente la prolifération cellulaire chez le Rat (Jha et al., 2008). Il est difficile de se prononcer quant à la participation respective de chaque récepteur dans ces effets neurogéniques, puisque les deux pris indépendamment augmente la prolifération cellulaire dans le gyrus dentelé. En effet, chez le Rat, le blocage des récepteurs 5-HT_{2A} diminue la prolifération cellulaire (Banar et al., 2004) et le blocage des récepteurs 5-HT_{2C} provoque une augmentation de la prolifération et de la survie des jeunes neurones (Soumier et al., 2010). Pourtant les premières études utilisant des ligands des récepteurs 5HT_{2C} étaient peu conclusives (Banar et al., 2004), mais la synthèse de nouveaux ligands plus sélectifs, comme le SB243,213 et le S32006, a permis de démontrer ces effets.

Il est encore difficile de se prononcer sur l'implication réelle des autres récepteurs sérotoninergiques dans la neurogenèse hippocampique, puisque très peu d'études sont réalisées. Par exemple, les conséquences de la modulation du récepteur 5-HT_{1B}, qui pourtant a été décrit comme un récepteur impliqué dans la pathologie des troubles anxio-dépressifs et la réponse aux traitements, ont peu été étudiées. Une seule étude à ce jour montre que ni l'activation, ni l'antagonisme des récepteurs 5-HT_{1B} chez le Rat n'affecte la prolifération cellulaire basale (Banar et al., 2004). La même étude conclue que l'effet neurogénique des agoniste des récepteurs 5-HT_{1B} est révélé, uniquement lorsque son administration suit une

déplétion sérotoninergique (Banasr et al., 2004).

D'autres récepteurs sérotoninergiques pourraient aussi être impliqués dans les effets neurogéniques de la sérotonine, comme par exemple les récepteurs 5-HT₄, 5-HT₆ et 5-HT₇. En effet, ces trois récepteurs lorsqu'ils sont activés, stimulent la cascade de l'AMPC-CREB, cascade qui au final stimule la production d'un facteur neurotrophique, le BDNF, bien connu pour ses effets neurogéniques. D'ailleurs, l'administration d'un agoniste 5-HT₄ augmente la prolifération cellulaire (Lucas et al., 2007).

Pour résumer, le rôle de la sérotonine dans la régulation de la neurogenèse est complexe, et dépend à la fois de l'expression des sous-types de récepteurs, mais aussi de l'état physiologique de l'organisme.

2) Le système noradrénergique

Il existe seulement à l'heure actuelle qu'un faible nombre d'études sur la relation entre ce système noradrénergique et la neurogenèse hippocampique adulte. Pourtant, tout laisse à penser que ce système pourrait jouer un rôle majeur dans la modulation de la neurogenèse hippocampique. D'une part les fibres noradrénergiques projettent du locus coeruleus vers le gyrus dentelé et d'autre part les agents pharmacologiques qui augmentent la transmission noradrénergique comme la cocaïne ou certains antidépresseurs comme l'imipramine, ont une activité neurogénique (Tableau 9). En fait, il semble qu'une modulation de la transmission noradrénergique aboutit à des changements de la prolifération cellulaire. En effet, une déplétion de noradrénaline par la lésion des corps cellulaires noradrénergiques en utilisant une neurotoxine, le N-éthyl-N-(2-chloro-éthyl)-2-bromobenzylamine (DSP-4), réduit la prolifération basale, sans modifier la différenciation ou la survie (Kulkarni et al., 2002). Par ailleurs, l'administration chronique d'un agoniste β_3 des récepteurs de la noradrénaline chez la souris, l'isoproterenol, augmente la prolifération cellulaire (Jhaveri et al., 2010). Si cette étude concluait que l'activation des récepteurs β_3 pouvait activer directement certaines populations de récepteurs et notamment les cellules souches, d'autres récepteurs noradrénergiques comme le récepteur α_2 semblent eux aussi jouer un rôle prépondérant sur la neurogenèse hippocampique. En effet, les récepteurs α_2 sont exprimés par les cellules progénitrices et leur activation conduit à une diminution de la prolifération cellulaire dans le gyrus dentelé (Yanpallewar et al., 2010). Le blocage de ces récepteurs par un antagoniste comme la yohimbine permet d'accélérer les effets neurogéniques des antidépresseurs.

Ainsi, de nombreuses études sont encore nécessaires pour statuer sur l'implication de ce

système dans la régulation de la neurogenèse hippocampique, même si les premières études soulignent déjà l'intérêt de molécules modulant la transmission noradrénergique.

3) Le système dopaminergique

De même que pour le système noradrénergique, le nombre d'études s'intéressant aux effets neurogéniques de la modulation du système dopaminergique reste faible (Tableau 9). Pourtant, les fibres dopaminergiques de l'aire tegmentale ventrale innervent la ZSG. Même si une déplétion en dopamine par l'administration d'une neurotoxine dopaminergique (1-méthyl-4-phényl 1, 2, 3, 6- tetrahydropyridine ; MPT) chez la Souris, diminue la prolifération cellulaire (Hoglinger et al., 2004), un traitement chronique par un antagoniste des récepteurs D2 halopéridol, n'a pas d'effet sur cette étape de la neurogenèse (Malberg et al., 2000). De plus, les effets d'un traitement chronique de cocaïne provoque des effets opposés entre le Rat et la Souris. Chez le Rat une diminution de la prolifération est observée, mais pas de la différenciation ou de la survie cellulaire dans le gyrus dentelé de l'hippocampe (Dominguez-Escriba et al., 2006), alors qu'aucun effet n'est retrouvé chez la Souris (Lloyd et al., 2010). Par ailleurs, les récepteurs D3 sont quant à eux impliqués dans la neurogenèse non-hippocampique (Van Kampen and Eckman, 2006).

Globalement, le rôle de la dopamine sur la neurogenèse hippocampique reste à approfondir, mais l'affecterait par des mécanismes indirects.

| Neurotransmetteurs/ ligand récepteur monoaminergiques | Espèce | Type de ligand | Molécules | Manipulation | Prolifération | Différentiation | Survie | Références |
|---|---|------------------------|----------------------------------|--|---------------|-----------------|--------|---|
| Sérotonine | Souris TDO -/- (tryptophan 2, 3- dioxygenase) | / | / | Manipulation génétique afin d'augmenter les taux plasmatiques de tryptophane et de 5-HIAA | ↑ | ∅ | ∅ | Kanai et al., 2009 |
| | Rats Wistar | Inhibiteur de Synthèse | 5,7-dihydroxytryptamine | Injections dans les noyaux du raphé dorsal et médian | ↓ | ∅ | ∅ | Brezun and Daszuta, 1999; 2000a; 2000b |
| | Souris C57Bl/6J - KO SERT | / | / | Manipulation génétique afin d'augmenter la sérotonine | = | = | = | Schmitt et al., 2007 |
| 5-HT _{1A} | Opposum | Agoniste | buspirone | Administration unique 1 heur avant sacrifice | ↑ | = | ∅ | Grabiec et al., 2009 |
| | Rats Sprague- Dawley | Antagoniste | NAN-190, p-MPPI et WAY-100635 | Administration chronique | ↓ | ∅ | ∅ | Radley et al., 2002 |
| | Souris 129/SvEv | Agoniste | 8-OHDPAT | Administration chronique | ↑ | ∅ | ∅ | Santarelli et al., 2003 |
| | Souris C57Bl/6 | Agoniste | 8-OHDPAT | Administration unique | ↑ | ↑ | = | Klempin et al., 2010 |
| | | Antagoniste | WAY 100135 | Administration chronique | = | ↓ | ↓ | |
| | Rats Wistar | Agoniste | 8-OHDPAT | Administration chronique | ↑ | ∅ | ↑ | Soumier et al., 2010 |
| | | Agoniste | 8-OHDPAT | Administration chronique | ↑ | = | ∅ | Banasr et al., 2004 |
| 5-HT _{1B} | Rats Wistar | Agoniste/Antagoniste | Sumatriptan/ GR 127935 | Administration unique | = | ∅ | ∅ | Banasr et al., 2004 |
| 5-HT ₂ | Souris C57Bl/6 | Agoniste | α-methyl-5- hydroxytryptamine | administration aigue/chronique | ↓ | ∅ | ∅ | Klempin et al., 2010 |
| | | Antagoniste | Cinanserin | Administration aigue | ↑ | ↓ | ∅ | |
| 5-HT _{2A/2C} | Rats Wistar | Antagoniste | Ketanserin/DOI | Administration unique | = | ∅ | ∅ | Banasr et al., 2004 |
| | | Agoniste | DOI /LSD | Administration unique/chronique | = | ∅ | ∅ | Jha et al., 2008 |
| | | Antagoniste | Ketanserine | Administration unique | ↓ | ∅ | ∅ | |
| | | Antagoniste | Ketanserine | Administration chronique | ↑ | = | ∅ | |
| 5-HT _{2C} | Rats Wistar | Agoniste | RO 600175 | Administration unique | = | ∅ | = | Banasr et al., 2004 |
| | | Antagoniste | SB 206553 | Administration unique | ↑ | ↑ | ∅ | |
| | | Antagoniste | S20098 | Administration chronique | ↑ | = | ↑ | Banasr et al., 2006 |
| | | Agoniste | RO600175 | Administration chronique | = | ∅ | = | Soumier et al., 2010 |
| | | Antagoniste | SB243,213 / S32006 | Administration chronique | ↑ | ∅ | ↑ | |
| | Souris C57Bl/6 | Agoniste | WAY161503 | Administration unique | ↓ | ∅ | = | Klempin et al., 2010 |

| Neurotransmetteurs/ ligand récepteur monoaminergiques | Espèce | Type de ligand | Molécules | Manipulation | Prolifération | Différentiation | Survie | Références |
|---|----------------|------------------------------|---|--------------------------|---------------|-----------------|--------|-------------------------|
| Noradrénaline | Rats | Neurotoxine | N-(2-Chloroethyl)-N-ethyl-2-bromobenzylamine) (DSP-4) | | ↓ | = | = | Kulkarni et al., 2002 |
| | | Antagoniste | Dexefaroxan | Administration chronique | = | ↑ | ↑ | Rizk et al., 2006 |
| | | Agoniste | Clonidine | Administration chronique | ↓ | = | = | Yanpallewar et al. 2010 |
| | | Agoniste | Guanabenz | Administration chronique | ↓ | = | = | |
| | | Antagoniste + antidépresseur | Yohimbine +imipramine | Administration chronique | ↑ | = | = | |
| | Souris C57Bl/6 | Agoniste | isoproterenol | Administration chronique | ↑ | ∅ | ∅ | Jhaveri et al., 2010 |
| Dopamine | Gerbil | Antagoniste | Haloperidol) | Administration unique | ↑ | ∅ | ∅ | Dawirs et al., 1998; |
| | Rats | Inhibition recapture | Cocaïne | Administration chronique | ↓ | = | ∅ | Yamaguchi et al., 2004 |
| | Rongeurs | | | Déplétion en dopamine | ↓ | ∅ | ∅ | Hoglinger et al., 2004 |
| | C57Bl/6 | Inhibition recapture | Cocaïne | Administration chronique | ↑ | ∅ | ∅ | Lloyd et al., 2010 |

Tableau 8 – Conséquence de la modulation des systèmes monoaminergiques sur la neurogenèse hippocampique adulte.

Légende : ↑, représente une augmentation ; ↓, représente une diminution ; =, représente l'absence d'effet ; ∅, n'a pas été étudié.

b. Le système glutamatergique

Il est bien connu que la transmission glutamatergique est impliquée dans la régulation de la neurogenèse hippocampique chez les mammifères adultes. L'action du glutamate s'effectue au travers de 3 types de récepteurs ionotropiques : les récepteurs NMDA (N-méthyl-D-aspartate), KA (acide kainique), et AMPA (alpha-amino-3-hydroxy-5-méthyl-isoxazole). Une injection de NMDA diminue rapidement la prolifération cellulaire dans le gyrus dentelé du Rat adulte alors que celle d'un antagoniste des récepteurs NMDA (MK-801) induit des effets opposés (Cameron et al., 1995; Nacher et al., 2001). La stimulation des récepteurs KA ou l'administration chronique d'un potentialisateur des récepteurs AMPA produisent quant à elles une forte augmentation de la neurogenèse (Bai et al., 2003; Jessberger et al., 2007). D'un autre côté, l'induction de la potentialisation à long terme, mécanisme impliquant les récepteurs AMPA ou NMDA, induit une prolifération des cellules progénitrices et une augmentation de la survie des jeunes neurones (Brüel-Jungferman et al., 2006). De plus, la lésion des fibres perforantes provenant du cortex entorhinal, et convergeant vers le gyrus dentelé chez le Rat, provoque l'augmentation de la prolifération cellulaire (Cameron et al., 1995; Gould et al., 1994).

Ces résultats soulignent la complexité des effets de la transmission glutamatergique sur la neurogenèse hippocampique. Cette régulation implique en fait la signalisation glutamatergique provenant des neurones immatures et celle provenant des circuits neuronaux préexistants (pour revue, (Ge et al., 2008)) (Figure 23).

Les études d'électrophysiologie suggèrent que les sous-unités NR1 et NR2 sont exprimées dès les premières étapes de la neurogenèse chez l'adulte sur les progéniteurs de type -1 -2 et -3 (Nacher et al., 2007). Les souris n'exprimant que 50% de la sous-unité NR1 des récepteurs NMDA présentent une augmentation de la neurogenèse hippocampique (Bursztajn et al., 2007). Ces résultats suggèrent que les connexions excitatrices dans l'hippocampe inhibent la neurogenèse par l'intermédiaire des précurseurs de type-1.

Finalement, la transmission glutamatergique a un rôle critique dans la régulation de la neurogenèse hippocampe, mais sa régulation est complexe et dépendante des réseaux entre ses différents récepteurs.

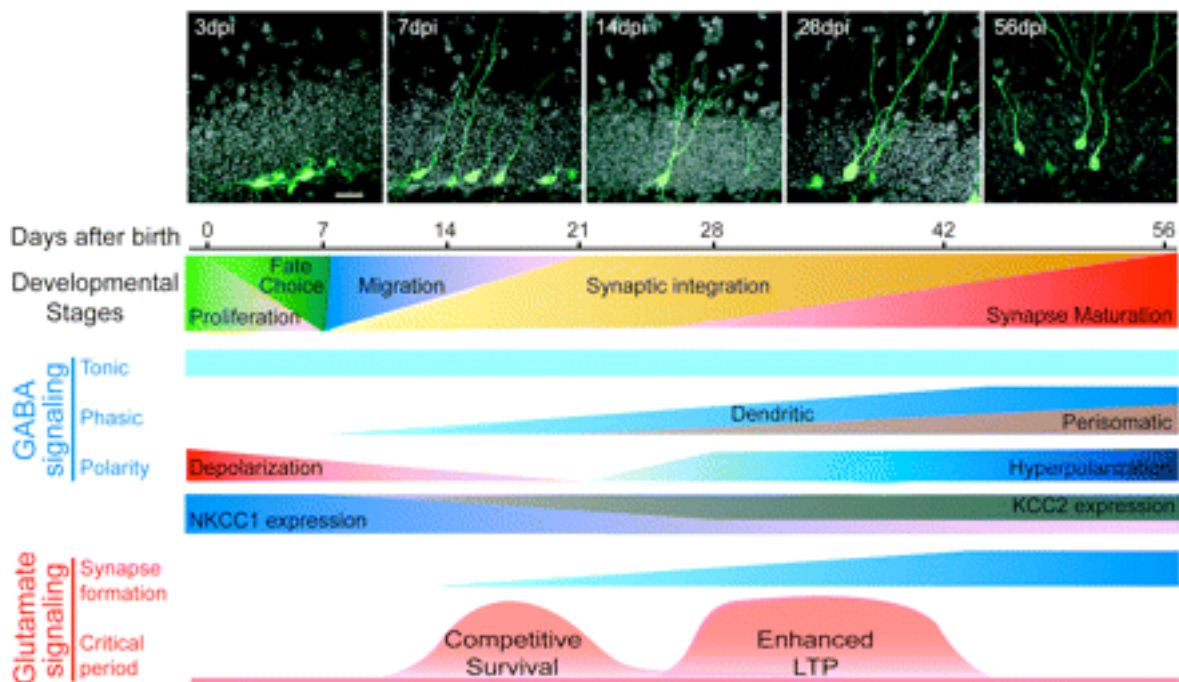


Figure 23 - Intégration synaptique des nouvelles cellules dans le gyrus dentelé de l'hippocampe adulte de souris.

Les synapses glutamatergiques commencent après la synaptogenèse des dendrites GABAergiques. Pendant la période de maturation, il existe deux périodes clefs pendant lesquelles les jeunes neurones sont particulièrement sensibles à la signalisation glutamatergique. La survie dépend de la sous unité NR1 alors que la plasticité synaptique est augmentée par l'intervention de la sous-unité NR2B. (D'après (Ge et al., 2008)).

c. Le système GABAergique

Le GABA est le neurotransmetteur qui possède la plus forte propriété inhibitrice dans le cerveau. Le système inhibiteur GABAergique est quant à lui un réseau local d'interneurones. De récentes données ont émergé et montrent que la signalisation GABAergique à travers l'activation des récepteurs GABA-A pourrait être un mécanisme essentiel au contrôle de la prolifération, de la maturation et de la survie des jeunes neurones dans le gyrus dentelé de l'hippocampe (Ge et al., 2006; Tozuka et al., 2005). Ces résultats ne sont pas surprenants quand on sait que le gyrus dentelé contient au moins 7 classes d'interneurones, qui modulent l'activité des cellules granulaires et contrôlent les niveaux locaux de GABA dans la ZSG (Ge et al., 2007). De plus, les progéniteurs neuronaux de type-1 -2 et -3 expriment les récepteurs GABA-A, dont le GABA est excitateur pendant les 2 à 3 premières semaines de développement de ces cellules. (Ge et al., 2006; Tozuka et al., 2005). La transition des effets

dépolarisant du GABA vers ces effets hyperpolarisant se produit pendant le processus de maturation neuronale avec un changement d'expression de deux canaux chlore (NKCC1 et KCC2), inversant ainsi le potentiel de membrane. Ce changement de potentiel de membrane est essentiel à une maturation structurelle et fonctionnelle normale ainsi qu'à l'intégration des jeunes neurones au réseau formé par les cellules granulaires.

Il a été montré que l'augmentation pendant un temps relativement court de la transmission GABAergique avec des barbituriques, accélérât la différenciation des progéniteurs neuronaux (Tozuka et al., 2005). De même l'application de GABA sur des coupes de cerveau augmente l'expression de NeuroD, un facteur de transcription qui facilite la différenciation cellulaire (Tozuka et al., 2005). Enfin, la délétion de 50% de l'expression de la sous-unité $\gamma 2$ du récepteur GABA-A dans les neurones immatures diminue la survie des jeunes neurones, sans modifier la prolifération (Earnheart et al., 2007).

Les mécanismes impliquant le GABA dans la neurogenèse hippocampique montrent que l'excitation des neurones immatures par le GABA induit une activation des canaux calciques de type L et des récepteurs au NMDA. Ainsi, l'augmentation de Ca^{2+} qui en résulte, active la voie de signalisation des kinases qui au final vont phosphoryler des facteurs de transcription comme CREB et donc promouvoir une maturation dendritique et une survie (Figure 24) (Jagasia et al., 2009; Nakagawa et al., 2002). Il semble aussi que les effets neurogéniques des antidépresseurs impliqueraient une augmentation de la transmission GABAergique (pour revue (Luscher et al., 2010)).

Le GABA est donc un autre élément clef du processus de neurogenèse hippocampique.

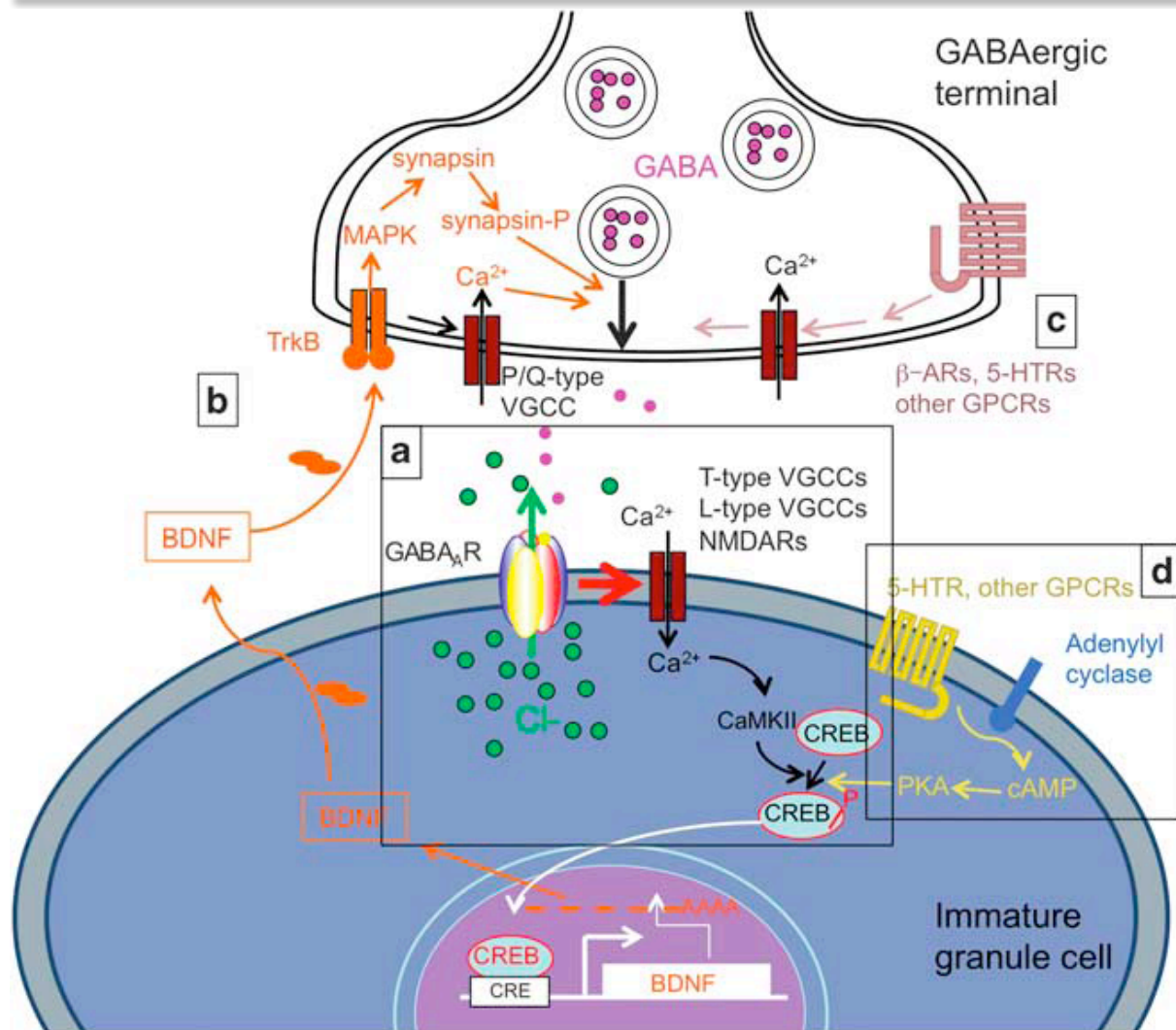


Figure 24 - Implication la transmission GABAergique dans le mécanisme d'action des antidépresseurs dans les neurones immatures du gyrus dentelé.

(A) Les récepteurs GABA-A présents sur les neurones immatures conduisent un courant d'ions Cl⁻ sortant. La dépolarisation de la membrane qui suit facilite l'entrée Ca²⁺ par des canaux ioniques voltage dépendants tels que les canaux de type T et L. L'augmentation du Ca²⁺ cytoplasmique accroît l'activité des protéines kinases (CaMKII, PKC, PKA, autres) qui phosphorylent CREB. CREB phosphorylé transloque vers le noyau où il active un certain nombre de gènes cibles, y compris ceux codant BDNF. (B) L'augmentation de la production et la libération de BDNF agit sur les terminaisons GABAergiques et favorise la libération du GABA par un mécanisme TrkB / MAPK induisant la phosphorylation des synapsines et donc la mobilisation des vésicules contenant le GABA (C) L'augmentation des monoamines dans l'hippocampe induite par un traitement par antidépresseur, agit sur les récepteurs β-adrénergiques et sérotoninergiques présynaptiques et qui activent des canaux Ca²⁺ voltage-dépendants sur les interneurons GABAergiques. (D) Certains effets des neurotransmetteurs monoaminergiques sont médiés par des RCPG sur les cellules granulaires. Toutefois, l'expression de ces récepteurs sur les cellules progénitrices neurales et les cellules immatures granulaires nécessite de plus amples études. AD, antidépresseur; BDNF, brain-derived neurotrophic factor; CaMKII, calmoduline-dépendante protéine kinase II; CREB, protéine de réponse AMPc élément de liaison; 5-HTR, récepteur à la 5-hydroxytryptamine; GABA, l'acide γ-aminobutyrique; GPCR, récepteur couplé aux protéines G; MAPK, protéine kinase ;

NMDAR, récepteurs N-méthyl-D-aspartate; PKA, protéine kinase A; PKC, protéine kinase C. (D'après (Luscher et al., 2010)).

2. Les neurotrophines et facteurs de croissance

Les effets des neurotrophines et des facteurs neurotrophiques sur la neurogenèse hippocampique sont présentés dans le Tableau 9.

| Factors and pathways | Proliferation | Differentiation | Survival | Neurogenesis | Other functions | References |
|---|-----------------|---------------------|----------|--------------|---------------------|--|
| <i>Growth factors & neurotrophins</i> | | | | | | |
| Amphiregulin | + | | | | | Falk and Frisen, 2002 |
| BDNF | + (SVZ) | | + (SGZ) | + | | Henry et al., 2007; Sairanen et al., 2005; Scharfman et al., 2005; Young et al., 2007 |
| EGF | + | | | | maintenance of NSCs | Doetsch et al., 2002; Ghashghaei et al., 2007; Kuhn et al., 1997; Reynolds and Weiss, 1992 |
| FGF2 | + | | | | maintenance of NSCs | Jin et al., 2003; Palmer et al., 1995; Zhao et al., 2007 |
| NGF | | | + | + | | Frielingsdorf et al., 2007 |
| IGF-1 | + (aging brain) | + (oligodendrocyte) | | | | Hsieh et al., 2004a; Lichtenwalner et al., 2001 |
| PDGF | + | + (astrocyte) | | | | Jackson et al., 2006 |
| PEDF | + | | | | | Ramirez-Castillejo et al., 2006 |
| TGF α | + | | | | | Cameron et al., 1998 |
| TGF β | | | | + | | Battista et al., 2006 |
| VEGF | + | + (neuron) | | + | | Cao et al., 2004; Fabel et al., 2003; Jin et al., 2002 |

Tableau 9 – Principaux facteurs de croissances neurotrophiques et leurs effets sur la neurogenèse hippocampique.

D'après (Zhao et al., 2008).

a. Le BDNF et son implication dans la neurogenèse

Les neurotrophines sont des substances capables de stimuler la croissance et la survie de neurones pendant le développement et les maintiennent à l'âge adulte. Ils sont aussi capables d'augmenter la survie de neurones endommagés et de relancer la croissance des axones et des dendrites. (Zhao et al., 2008) Pendant la période embryonnaire et adulte de neurogenèse, le soutien neurotrophique est un élément essentiel de la cascade de signalisation qui contrôle la création de nouveaux neurones, à partir des cellules progénitrices. La famille des neurotrophines se constitue du « nerve growth factor » (NGF), du « brain-derived neurotrophic factor » (BDNF), de NT-3 et NT-4/5. Les neurotrophines sont impliquées dans le développement et le maintien d'une variété de types neuronaux à travers un large spectre de mécanismes. Classiquement, les neurotrophines sont libérées par les structures cibles, agissant comme des molécules attractrices de neurites (Lewin and Barde, 1996). Les neurones deviennent rapidement dépendants des neurotrophines pour leur survie.

Les études sur les neurotrophines autre que le BDNF sont moins abondantes, aussi je focaliserai mon développement principalement sur cette neurotrophine. A noter qu'il a été montré que la NT-3 est impliquée dans la neurogenèse chez la souris, puisque des animaux déficients pour cette neurotrophine, présentent une diminution de la différenciation des cellules granulaires dans le gyrus dentelé, en dépit d'une prolifération normale. En outre, le

NGF augmente la survie des nouveaux neurones hippocampiques en augmentant le ton cholinergique (Frielingsdorf et al., 2007).

De l'ensemble de ces études il ressort que le BDNF joue clairement un rôle direct sur le processus de neurogenèse chez l'adulte dans l'hippocampe ventral. Si l'implication du BDNF sur l'étape de prolifération cellulaire reste controversée, il semble plus clair que le BDNF agisse sur l'étape de différenciation et de survie (Rossi et al., 2006; Scharfman et al., 2005). Le rôle du BDNF dans ce processus a été caractérisé chez les souris hétérozygotes mutées pour le BDNF (BDNF +/-) (Lee et al., 2002). Les souris BDNF +/- présentent une diminution de la prolifération cellulaire associée à une diminution de la survie de ces cellules néoformées. Une étude récente vient de caractériser l'expression temporelle du récepteur TrkB au cours du phénomène de neurogenèse (Donovan et al., 2008). Le récepteur TrkB serait fortement exprimé par les cellules matures et en revanche peu exprimé par les cellules progénitrices ce qui suggère un rôle du BDNF dans la différenciation et la survie plutôt que dans la prolifération cellulaire. Des injections intra-hippocampiques de BDNF induisent une augmentation du nombre de cellules positives à la fois au BrdU (analogue de la thymidine, intégré dans l'ADN au moment de la phase S du cycle cellulaire) et la Neuréguline N (NeuN) (Scharfman et al., 2005). Ces résultats indiquent que le BDNF a une action positive sur le phénomène de neurogenèse global.

Contrairement à l'étude de Lee et collaborateurs (2002), Sairanen et collaborateurs (2005) ont rapporté que la prolifération cellulaire est identique entre les souris mutées pour le BDNF (BDNF +/-) ou surexprimant la forme tronquée du récepteur TrkB et les souris contrôles. Cette étude rapporte en revanche que la survie des neurones est diminuée à la fois chez les souris BDNF +/- et chez les souris surexprimant la forme tronquée du récepteur TrkB comparée à leurs contrôles respectifs (Sairanen et al., 2005).

b. Les facteurs de croissance

Les facteurs de croissance se lient spécifiquement aux récepteurs de haute affinité à la surface de cellules répondantes, comprenant des cascades de signalisation avec pour effet principal, l'activation de la prolifération et de la différenciation cellulaire. Un exemple de facteurs de croissance neuronale est le « fibroblast growth factor-2 » (FGF-2). Comme d'autres facteurs, le FGF-2 agit distinctement selon le type cellulaire, et concernant les cellules progénitrices, il agit à différentes concentrations. A faible concentration (2 ng/ml), il améliore la survie et la différenciation sur des cultures de progéniteurs neuronaux (Walicke et al., 1986), alors qu'à une concentration supérieure (10 ng/ml), il induit la prolifération des

progéniteurs (Ray et coll., 1993). La présence endogène de FGF-2 provient de la production et de la libération par les astrocytes (Gomez-Pinilla et al., 1992). Des infusions de FGF-2 dans les ventricules conduisent à une augmentation de la neurogenèse, alors que les souris déficiente pour le récepteur FGF-1 ont une neurogenèse diminuée dans l'hippocampe (Zhao et al., 2007).

De façon analogue le « epidermal growth factor » (EGF), le « transforming growth factor- β 1 » (TGF- β 1), le « leukemia-inhibiting factor » (LIF) et le « pigment épithélium-derived factor » (PEDF), agissent uniquement sur la prolifération et l'auto-renouvellement des cellules souches neuronales (Craig et al., 1996; Jin et al., 2002; Kuhn et al., 1997; Ramirez-Castillejo et al., 2006; Wachs et al., 2006).

D'autres facteurs peptidiques, comme le FGF-2, le « vascular endothelial factor » (VEGF), et le « pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide » (PACAP) (Ohta et al., 2006; Schanzer et al., 2004; Zhu et al., 2003), ont aussi bien des effets sur la prolifération et l'activité neurotrophique. D'un autre côté, l'érythropoïétine, le « granulocyte-colony-stimulating factor » (G-CSF), et l'« insulin-like growth factor-1 » (IGF-1) ont été identifiés comme responsables d'une augmentation de la neurogenèse au travers de leurs effets d'amélioration de la survie (Aberg et al., 2000; Lichtenwalner et al., 2006; Shingo et al., 2001).

Les effets des facteurs de croissance et des neurotrophines sur la neurogenèse hippocampique adulte en font autant de combinaisons possibles, de paramètres à prendre en compte pour obtenir une vision globale des régulations de ce processus si particulier.

3. Le stress et les glucocorticoïdes

Le stress est l'un des composants environnementaux les plus impliqués dans la diminution de la neurogenèse chez plusieurs espèces, et dans plusieurs paradigmes. Qu'ils s'agissent de stress psychosociaux ou physiques, tous inhibent une ou plusieurs phases du processus de neurogenèse hippocampique. L'exposition à un stress aigu ou chronique diminue la neurogenèse, indiquant que la durée n'est pas nécessairement un facteur prédominant dans ces effets (Czeh et al., 2002; Gould et al., 1997; Heine et al., 2004). En effet, le stress semble agir sur toutes les étapes du renouvellement neuronal dans l'hippocampe, en inhibant à la fois la prolifération et la survie (Tableau 10).

| Stress | Espèce | Durée | Prolifération | Différenciation | Survie | Références |
|--------------------------------|-------------|----------|---------------|-----------------|--------|-------------------------------|
| Social/subordination | Marmoset | | ↓ | ∅ | ∅ | Gould et coll., 1998 |
| Social/subordination | Tree Shrews | | ↓ | ∅ | ∅ | Czeh et coll., 2001 |
| Social/subordination | Tree Shrews | | ↓ | ∅ | ∅ | Gould et coll., 1997 |
| Social/subordination | Tree Shrews | | ↓ | ∅ | ∅ | Van der Hart et coll., 2002 |
| Social/subordination | Rat | | ↓ | ∅ | ∅ | Czeh et coll., 2002 |
| Odeur de prédateur | Rat | | ↓ | ∅ | ∅ | Tanapat et coll., 2001 |
| Contention | Rat | | ↓ | ∅ | ∅ | Pham et coll., 2003 |
| Immobilisation | Rat | | ↓ | ∅ | ∅ | Vollmayr et coll., 2003 |
| Stress Chronique imprédictible | Souris | | ↓ | ∅ | ∅ | Alonso et coll., 2004 |
| Chocs électriques | Rat | | ↓ | ∅ | ∅ | Malberg et Duman, 2003 |
| Chocs électriques | Rat | | ↓ | ∅ | ∅ | Vollmayr et coll., 2003 |
| Stress prénatal | Rat | | ↓ | ∅ | ∅ | Lemaire et coll., 2000 |
| Stress prénatal | Rhesus | | ↓ | ∅ | ∅ | Coe et coll., 2003 |
| Corticostérone | Rat | | ↓ | ∅ | ∅ | Cameron et coll., 1998 |
| Corticostérone | Rat | | ↓ | ∅ | ∅ | Gould et coll., 1992 |
| Adrénalectomie | Rat | | ↓ | ∅ | ∅ | Cameron et McKay, 1999 |
| Contention | | 14 jours | ↓ | ∅ | ∅ | Rosenbrock et coll., 2005 |
| Bulbectomie | Rat Wistar | | ↓ | ∅ | ∅ | Keilhoff et coll., 2006 |
| Privation de sommeil | Rat Wistar | 12h | ↑ | = | ↑ | Grassi Zucconi et coll., 2006 |

| Stress | Espèce | Durée | Prolifération | Différenciation | Survie | Références |
|--------------------------------|----------------|----------|---------------|-----------------|--------|---|
| Bulbectomie | Rat Wistar | | ↓ | ↓ | ↓ | Jaako-Movits et coll., 2006 |
| Stress Chronique imprédictible | Rat Wistar | 21 jours | ∅ | ↓ | ∅ | Holderbach et coll., 2007 |
| Stress Chronique imprédictible | Rat Wistar | 14 jours | ↓ | ↓ | ↓ | Silva et coll., 2008 |
| Stress Chronique imprédictible | Souris CD1 | 49 jours | ↓ | = | ↓ | Kong et al., 2009 |
| Stress Chronique imprédictible | | 21 jours | ↓ | = | ↓ | Liu et coll., 2008 |
| Séparation maternelle | Souris BALB/cJ | 24 jours | = | = | = | Navailles et coll., 2008 |
| Séparation maternelle | Rat Wistar | | ↑ | ∅ | ∅ | Petersen et coll., 2008 |
| Séparation maternelle | Souris C57BL/6 | 24 jours | = | = | = | Navailles et coll., 2008 |

Tableau 10 – Effet de différents modèles de stress sur les étapes de la neurogenèse hippocampique adulte.

Légende : ↑, représente une augmentation ; ↓, représente une diminution ; =, représente l'absence d'effet ; ∅, n'a pas été étudié.

La réduction induite par le stress peut résulter de l'apoptose des cellules progénitrices, ou de l'arrêt dans le cycle cellulaire. Après un stress aigu, la réduction de la prolifération est accompagnée de l'augmentation du nombre de cellules apoptotiques.

A la suite d'un stress chronique, à la fois la prolifération et l'apoptose sont réduites, et parallèlement, l'inhibiteur du cycle cellulaire p27Kip1 est augmenté, indiquant que la plupart des cellules ont stoppé leur cycle cellulaire, et que le renouvellement des cellules granulaires est diminué (Heine et al., 2004).

Le processus exact du mécanisme cellulaire inhibiteur induit par le stress sur la neurogenèse n'est pas encore clairement identifié. Les glucocorticoïdes semblent être l'une des composantes clefs de ce mécanisme (Wong and Herbert, 2004; Wong and Herbert, 2005). En effet, aussi bien les récepteurs MR et GR sont exprimés sur les cellules progénitrices. Il existe plusieurs exemples d'une inhibition persistante de la neurogenèse hippocampique après l'exposition à un stress, en dépit d'une normalisation tardive des niveaux de glucocorticoïdes (Czeh et al., 2002; Mirescu and Gould, 2006). Ces résultats suggèrent que pendant que les glucocorticoïdes semblent impliqués dans la suppression initiale de la prolifération cellulaire, ils ne sont pas toujours nécessaires au maintien de cet effet.

D'autres facteurs modulent l'inhibition de la neurogenèse hippocampique chez l'adulte induite par le stress. En effet, le stress augmente la libération de glutamate, qui, en activant son récepteur NMDA devient un acteur dans ce processus (Gould et al., 1997; Nacher and McEwen, 2006). En outre, le stress est également à l'origine d'effets sur les niveaux de neurotransmetteurs impliqués dans la neurogenèse : Le GABA (Ge et al., 2007), la sérotonine (Djavadian, 2004) la noradrénaline (Joca et al., 2007), et la dopamine (Dominguez-Escriba et al., 2006), entre autres (pour revue, Balu and Lucki, 2009). Le stress module également l'expression de facteurs de croissance et de neurotrophines, comme le BDNF, l'IGF-1, le NGF, l'EGF, le VEGF, qui ont un rôle actif dans la neurogenèse hippocampique (pour revue, Schmidt and Duman, 2007). La proximité des cellules précurseurs et des vaisseaux sanguins implique une forte interaction avec la vascularisation et de sa population cellulaire, elle-même sensible au stress (Heine et al., 2005). Dans ce sens, les astrocytes sont importants dans le support de la survie et du développement neuronal, qui expriment des récepteurs aux glucocorticoïdes et sont sensibles à certains stress (Czeh et al., 2006; Oomen et al., 2009).

Ainsi, le stress par l'intermédiaire notamment des glucocorticoïdes apporte des hypothèses intéressantes dans l'étude de la neurogenèse hippocampique et son lien avec la dépression.

D. La neurogenèse et la dépression majeure et ses traitements

1. Les états anxio/dépressifs et la neurogenèse hippocampique

L'hypothèse neurogénique de la dépression postule qu'une diminution de la production de nouvelles cellules granulaires dans le gyrus dentelé de l'hippocampe est liée à la pathophysiologie de la dépression et que l'augmentation de la neurogenèse hippocampique est nécessaire aux effets comportementaux des traitements antidépresseurs (Sheline et al., 1996). Le peu d'études de la neurogenèse hippocampique chez les patients dépressifs publiées à ce jour sont principalement appuyées sur l'examen histologique *post mortem* des tissus cérébraux et des études d'imagerie par résonance magnétique. Ainsi, une réduction du volume de l'hippocampe chez les patients dépressifs est bien établie, et l'apport de deux méta-analyses a confirmé cette réduction du volume de l'hippocampe chez les patients atteints de dépression (Videbech and Ravnkilde, 2004). La fréquence des épisodes dépressifs et la période durant laquelle ils ne sont pas traités coïncident avec la sévérité de la diminution du volume hippocampique. Cependant, des études pathophysiologiques sur des tissus cérébraux *post mortem* indiquent que le changement du nombre des cellules neuropiles et gliales peut être responsable de la réduction du volume de l'hippocampe (Czeh and Lucassen, 2007). Ces résultats d'imagerie, impliquant la neurogenèse hippocampique dans la pathophysiologie des épisodes dépressifs majeurs, ont été remis en cause par une récente étude d'histologie. Cette étude n'a en effet pas détecté de différence sur la prolifération des cellules souches (par KI-67) dans l'hippocampe entre des patients atteints de dépression et des volontaires sains. Les résultats de cette étude sont cependant limités, puisque les patients étaient sous traitements antidépresseurs au moment de leur décès, ce qui a pu masquer les effets propres de la dépression sur la prolifération cellulaire. De plus, en l'absence d'études toxicologiques, il n'est pas certain que les patients observent leur traitement. Par ailleurs, compte tenu de la diversité dans les étapes de la neurogenèse, il est difficile de conclure d'une quelconque implication de la neurogenèse après la seule observation de la prolifération cellulaire.

Les études précliniques sont utiles pour prouver des liens de causalités entre la neurogenèse hippocampique et le comportement. En utilisant des expositions à différents types de stress, tels le stress chronique ou la soumission sociale, ceux-ci provoquent une diminution de la prolifération cellulaire dans la ZSG de l'hippocampe (Tableau 11). Cependant, l'analyse de la relation causale entre la neurogenèse et le comportement est venue de l'ablation des cellules progénitrices. Plusieurs méthodes à ce jour ont été développées afin de diminuer ou d'abolir la neurogenèse :

- Une irradiation par rayons X ou γ , soit du cerveau entier, soit localement (Santarelli et al., 2003) ;
- Un traitement systémique avec un agent anti-mitotique comme le méthylazoxyméthanol acétate (MAM) (Jayatissa et al., 2009) ;
- Par manipulation génétique, comme les souris GFAP-TK, chez lesquelles les progéniteurs GFAP+ sont sensibles à un traitement au ganciclovir et ne se divisent donc plus (Saxe et al., 2006).

Il est important de garder à l'esprit les inconvénients de ces méthodes, tels que les effets non spécifiques de l'ablation qui peuvent impliquer d'autres structures que l'hippocampe, et donc, d'autres fonctions. La dysfonction de la neurogenèse hippocampique est supposée faire partie de la pathogenèse des troubles dépressifs majeurs (Duman et al., 2000 ; Kempermann et Kronenberg, 2003). La suppression de la neurogenèse hippocampique par ces méthodes ne modifie pas les comportements anxieux évalués dans des tests comportementaux de conflits, comme le test du champ ouvert (open field), le test de la double enceinte éclairée, le labyrinthe en croix surélevée (elevated plus maze), ou encore dans le test de la faim supprimée par la nouveauté (novelty suppressed feeding) (David et al., 2007; Santarelli et al., 2003; Saxe et al., 2006). Ainsi, l'irradiation par rayons X dans l'hippocampe n'a pas d'effets dans les paradigmes précédemment cités, suggérant que la perte de la neurogenèse hippocampique n'est pas suffisante pour induire un phénotype comportemental de type anxio/dépressif, et n'aggrave pas ceux induits par le stress. De même, l'ablation de la neurogenèse par l'agent pharmacologique MAM ne suffit pas à induire un comportement anhédonique chez le rat (Jayatissa et al., 2009). Airan et collaborateurs (2007) ont exploré plus en détail le lien entre la dépression et la neurogenèse hippocampique. Il ressort de leur étude que le stress chronique chez le Rat n'est pas associé à une diminution de la neurogenèse, et que l'ablation de celle-ci n'induit pas un comportement de type dépressif (Airan et al., 2007). Cependant, d'autres études suggèrent que les mécanismes sont plus complexes. Récemment, il a été montré que la neurogenèse hippocampique adulte joue un rôle important dans la régulation des états affectifs (Revest et al., 2009). En effet, les souris transgéniques qui surexpriment la protéine apoptotique Bax dans les cellules progénitrices et qui ont donc un déficit de neurogenèse, présentent un phénotype anxieux.

En résumé, il existe des évidences qui indiquent que la neurogenèse n'est pas un élément majeur du développement de l'état dépressif, mais pourrait être nécessaire pour les effets comportementaux des antidépresseurs (Sahay and Hen, 2007).

2. Les antidépresseurs et la neurogenèse hippocampique adulte

L'un des principaux constats du rôle de la neurogenèse hippocampique adulte dans la dépression est l'observation que les antidépresseurs confèrent des effets comportementaux par la stimulation de cette neurogenèse chez les rongeurs et chez l'Homme. Une étude récente a montré pour la première fois que dans le gyrus dentelé chez l'Homme, il y a davantage de cellules progénitrices exprimant la nestine, et davantage de cellules en division, après un traitement par un antidépresseur ISRS (sertraline, fluoxétine) ou tricycliques (nortriptyline, clomipramine) chez les patients dépressifs, en comparaison de patients non traités (Boldrini et al., 2009).

a. En conditions physiologiques.

Un résumé des études sur la neurogenèse et l'effet de traitements antidépresseurs est présenté dans le Tableau 11.

| Antidépresseur | Espèce | Dose (mg/kg) | Durée | Prolif. | Diff. | Survie | Références |
|----------------|-------------------------|--------------|----------|---------|-------|--------|---------------------------|
| Fluoxétine | Rat Sprague Dawley | 5 | 25 jours | = | ∅ | = | Cowen et coll., 2008 |
| | | | 21 jours | ↑ | ∅ | ∅ | Kodama et coll., 2004 |
| | | | 7 jours | = | ∅ | ∅ | |
| | | | 1 jour | = | ∅ | ∅ | |
| | | | 5 jours | = | ∅ | ∅ | Malberg et coll., 2000 |
| | | | 14 jours | ↑ | ∅ | ∅ | |
| | | | 28 jours | ↑ | ∅ | ∅ | |
| | | 0.6 | 28 jours | ↑ | ∅ | ∅ | Nasrallah et coll., 2010 |
| | Rat Wistar | 10 | 28 jours | ↑ | ↑ | ∅ | Marcussen et coll., 2008 |
| | Rats Lister | 7 | 14 jours | ↑ | ↑ | ∅ | Huang et Herbert., 2006 |
| | Souris (BALB/c * DBA/2) | 10 | 21 jours | ↑ | ∅ | ∅ | Sairanen et coll., 2005 |
| | | | 10 jours | ↑ | ∅ | ∅ | |
| | | | 5 jours | = | ∅ | ∅ | |
| | | ? | ? | ↑ | | | |
| | Souris 129 SvEv | 10 | 5 jours | = | ∅ | ∅ | Manev et coll., 2001 |
| | | | 11 jours | ↑ | ∅ | ∅ | |
| | | | 28 jours | ↑ | ∅ | ↑ | |
| | | 18 | 5 jours | = | = | = | Santarelli et coll., 2003 |
| | | | 28 jours | ↑ | ↑ | ↑ | |
| | | 18 | 5 jours | = | = | = | Wang et coll., 2008 |
| | | | 28 jours | ↑ | ↑ | ↑ | |
| | Souris 129Sl | 18 | 21 jours | ↑ | ∅ | ∅ | Miller et coll., 2008 |
| | Souris A/J | 18 | 21 jours | = | ∅ | ∅ | |
| | Souris BALB/cJ | 18 | 28 jours | = | = | ∅ | Holick et coll., 2008 |
| | | 10 | 28 jours | = | = | = | Huang et coll., 2008 |
| | | 16 | 24 jours | = | = | = | |
| | Souris C57BL/6 | 16 | 24 jours | = | = | = | Navailles et coll., 2008 |
| | Souris CD1 | 10 | 28 jours | ↑ | = | ↑ | Kong et al., 2009 |
| | Souris DBA/2 | 18 | 21 jours | ↑ | ∅ | ∅ | Miller et coll., 2008 |
| | Souris SWR/J | 18 | 21 jours | = | ∅ | ∅ | |
| Agomelatine | Rat Wistar | 40 | 21 jours | ↑ | ↓ | ↑ | |
| | | | 7 jours | = | ∅ | ∅ | Banasr et coll., 2006 |
| | | | 1 jour | = | ∅ | ∅ | |

| Antidépresseur | Espèce | Dose (mg/kg) | Durée | Prolif. | Diff. | Survie | Références |
|----------------------------------|-------------------------|----------------------------------|----------|---------|-------|--------|-----------------------------|
| AMPA | Rongeur | ? | ? | ↑ | ∅ | ∅ | Bai et coll., 2003 |
| Antagoniste glutamate R | Rongeur | ? | ? | ↑ | ∅ | ∅ | Yoshimizu et coll., 2004 |
| Antagoniste interleukine beta 1R | Rongeur | ? | ? | ↑ | ∅ | ∅ | Koo et coll., 2006 |
| Citalopram | Rat Wistar | 10 | 28 jours | = | = | = | Jaako-Movits et coll., 2006 |
| Chocs électroconvulsifs | Rat Wistar | 1 fois par jour | 5 jours | ↑ | ↑ | ∅ | Ekstrand et coll., 2008 |
| Fluoxétine/adolescence | Souris BALB/cJ | 16 | 24 jours | ↑ | = | = | Navailles et coll., 2008 |
| | Souris C57BL/6 | 16 | 24 jours | ↑ | ↑ | ↑ | |
| | Rat Wistar | 5 | 56 jours | ↑ | ∅ | ∅ | |
| Imipramine | Souris (BALB/c * DBA/2) | 30 | 21 jours | ↑ | ∅ | ↑ | Sairanen et coll., 2005 |
| | Souris 129 SvEv | 20 | 28 jours | ↑ | ∅ | ↑ | |
| | Rat Wistar | 2,5 | 14 jours | ↑ | ↑ | ↑ | |
| Lithium | Souris C57BL/6 | 2,4 g/kg | 28 jours | ↑ | = | ↑ | Chen et coll., 2000 |
| | Rat Sprague Dawley | 2 | 21 jours | ↑ | ∅ | ∅ | |
| Olanzapine | | 2 | 7 jours | = | ∅ | ∅ | Kodama et coll., 2004 |
| | | | | | | | |
| Reboxétine | Rat Sprague Dawley | 20 (2 fois par jour) | 21 jours | ↑ | ∅ | ∅ | Malberg et coll., 2000 |
| Riluzole | Rongeur | ? | ? | ↑ | ∅ | ∅ | Katoh-Semba et coll., 2002 |
| Rolipram | Souris 129 SvEv | ? | ? | ↑ | | ∅ | Nakagawa et coll., 2002 |
| Tetofensine | Rat Wistar | 3 | 5 jours | = | ∅ | = | Larsen et coll., 2007 |
| | | 3 | 14 jours | ↑ | ∅ | ↑ | |
| Tianeptine | Tree Shrews | 50 | 28 jours | = | ∅ | ∅ | Czeh et coll., 2001 |
| Tranylcypromine | Rat Sprague Dawley | 7,5, puis 10 (14 derniers jours) | 21 jours | ↑ | ∅ | ∅ | Malberg et coll., 2000 |
| Venlafaxine | Rat Wistar | 10 | 14 jours | = | ∅ | ∅ | Mostany et coll., 2008 |
| | | 40 | | ↑ | ∅ | ∅ | |

Tableau 11 – Principaux effets d'un traitement antidépresseurs sur la neurogenèse hippocampique chez le rongeur.

Légende : ↑, représente une augmentation ; ↓, représente une diminution ; =, représente l'absence d'effet ; ∅, n'a pas été étudié.

1) Effets des antidépresseurs sur la prolifération et la survie cellulaire

En plus des effets de la fluoxétine (18 mg/kg) sur l'augmentation de la prolifération cellulaire chez la souris 129/SvEvTAc (Santarelli et al., 2003), elle augmente également la survie des cellules granulaires post-mitotique. Ces effets des ISRS sur la prolifération et la survie cellulaire ont également été révélés chez le Rat (Encinas et al., 2006 ; Malberg et al., 2000). Il est important de noter que ces effets neurogéniques des antidépresseurs ne s'expriment qu'après un traitement chronique (David et al., 2007 ; Duman et al., 2001 ; Malberg et al., 2000 ; Santarelli et al., 2003 ; Wang et al., 2008). De plus, d'autres traitements, tels que l'antidépresseur atypique tianeptine, la thérapie électroconvulsive, les stabilisateurs de l'humeur comme le lithium, et le nouvel antidépresseurs, agomélatine, augmentent la prolifération et la survie cellulaire dans l'hippocampe adulte (Banar et al., 2006 ; Chen and Manji, 2006). Par ailleurs, l'agomélatine modifie la neurogenèse sélectivement dans l'hippocampe ventral (Banar et al., 2006), région davantage impliquée dans la réponse émotionnelle (Fanselow and Dong, 2010).

Il semble que la prolifération et la survie soient régulées par des mécanismes distincts. Par exemple, un environnement enrichi augmente la survie des cellules immatures, sans affecter la prolifération (Kempermann et al., 1997). Par opposition, l'exercice physique volontaire augmente la prolifération et la survie, sans modifier la maturation (Plumpe et al., 2006), ou la morphologie dendritique des nouveaux neurones (van Praag et al., 2005). Enfin, une étude récente montre que la fluoxétine cible une catégorie de progéniteurs neuronaux en augmentant les divisions symétriques (Encinas et al., 2006).

2) Effets des antidépresseurs sur la maturation

Jusqu'à récemment, il n'était pas clair que les ISRS ciblent aussi les neurones immatures en influençant leur maturation et leur intégration fonctionnelle au réseau. Wang et collaborateurs (2008) ont mis en évidence qu'un traitement chronique de fluoxétine stimule la maturation des jeunes neurones. En effet, ces derniers présentent une arborisation dendritique plus complexe que ceux présents chez des animaux non traités, suggérant un effet accélérateur de la fluoxétine sur la maturation neuronale hippocampique (Wang et al., 2008). La durée de survenue des effets de la fluoxétine sur la maturation, coïncide aussi avec le temps nécessaire à l'apparition des effets comportementaux de ce traitement chez la Souris. De la même façon, la thérapie électroconvulsive (ECT), qui offre un effet thérapeutique très rapide, stimule la neurogenèse, plus rapidement que la fluoxétine (Warner-Schmidt and Duman, 2006). De plus,

l'ECT stimule le développement dendritique et la maturation (Overstreet-Wadiche et al., 2006). En effet, après ECT, les jeunes neurones expriment une augmentation de la croissance dendritique, et commencent à recevoir des connexions synaptiques glutamatergiques précocement. Ces résultats suggèrent que les molécules qui augmenteraient la maturation des nouveaux neurones, seraient des cibles pour le développement de futurs traitements (Soumier et al., 2009).

3) Effets des antidépresseurs sur la différenciation

Quatre semaines après leur naissance, les cellules progénitrices acquièrent les propriétés des cellules granulaires matures ; par exemple, les nouvelles cellules n'expriment plus le marqueur neuronal immature comme DCX, ou PSA-NCAM, et reçoivent les mêmes afférences GABAergiques et glutamatergiques que les cellules granulaires matures du gyrus dentelé (Laplagne et al., 2006; Toni et al., 2007; Zhao et al., 2008). Cependant, ces nouvelles cellules continuent leur maturation morphologique et physiologique. Les épines dendritiques d'un neurone de 4 semaines sont davantage associées à de multiples boutons synaptiques que les neurones plus anciens, et leur densité continue à augmenter même après 8 semaines (Laplagne et al., 2006). De plus, les neurones âgés de 2 à 4 semaines présentent une augmentation de leur excitabilité et un seuil faible d'induction d'une potentialisation à long terme (PLT), alors qu'à 4 ou 6 semaines, les neurones présentent une PLT de plus grande amplitude (Schmidt-Hieber et al., 2004). En outre, une forme de PTL (ACSF-PTL), nécessite la neurogenèse hippocampique : cette forme de PTL est bloquée après l'ablation de la neurogenèse (Saxe et al., 2006). Cette période critique chez les jeunes neurones coïncide avec le développement de l'expression du récepteur NR2B du NMDA (Ge et al., 2008).

Suivant la différenciation, les jeunes neurones traversent des stades de développement avec des caractéristiques morphologiques et physiologiques distinctes. Pareillement aux nouveaux neurones du cerveau en développement, les cellules granulaires naissantes de moins de 3 semaines se dépolarisent en réponse au GABA, à cause de leur forte concentration intracellulaire d'ions chlore (Ge et al., 2006). De 2 à 4 semaines après leur naissance, la réponse du GABA change d'une dépolarisation à une hyperpolarisation, une période identique durant laquelle les jeunes cellules développent leurs épines dendritiques, et reçoivent des connexions glutamatergiques (Ge et al., 2006). De plus, les nouvelles cellules granulaires commencent à établir des connexions avec le hilus et la région CA3, pendant que leur complexité synaptique se rapproche de celle des neurones matures (Faulkner et al., 2008).

4) Influence de la souche chez la souris, dans l'effet des antidépresseurs sur la neurogenèse hippocampique adulte

Des études sur différentes souches chez la Souris ont conduit à des résultats contradictoires quant aux effets des antidépresseurs sur la neurogenèse hippocampique (David et al., 2010). Par exemple, certains résultats ont montré que chez la Souris 129SvEv, la fluoxétine augmente la neurogenèse hippocampique (Santarelli et al., 2003), alors que chez la souche BALB/cJ, il n'y a aucun effet (Holick et al., 2008). Une étude récente confirme ces données, indiquant que la neurogenèse hippocampique chez l'adulte n'est pas toujours nécessaire pour l'obtention des effets comportementaux de la fluoxétine, du moins chez la souche BALB/cJ (Huang et al., 2008). Pour ces raisons, la souche de souris est un facteur à prendre en compte pour étudier les effets neurogéniques de nouveaux composés. Il est possible que ces 2 souches utilisent des mécanismes cellulaires et moléculaires distincts, en réponse à un traitement chronique antidépresseur. L'effet de la souche sur la neurogenèse, est-elle observée en condition normale, ou après un stress ? Des études ont montré que chez les souris femelle BALB/cJ et 129SvJ, les niveaux en conditions normales sont sensiblement identiques pour tous les stades de la neurogenèse (Kempermann et al., 1997). En revanche, des études de prolifération et de différenciation ont révélé de nettes différences entre les souches BALB/cJ et C57Bl/6 (avec davantage de cellules en prolifération pour la souche C57Bl/6) (Navailles et al., 2008).

Afin d'étudier les effets des antidépresseurs chez les animaux non stressés, le choix de la souche est essentiel. Il est à noter que la souche 129SvEv, exprime un faible niveau basal de cellules en prolifération dans la ZSG, et par conséquent, est plus pertinente pour étudier une augmentation induite par un traitement antidépresseur dans des conditions sans stress, que la souche BALB/cJ, qui elle exprime une prolifération cellulaire plus importante (Holick et al., 2008) ainsi que la souche C57Bl/6. Au contraire, l'étude de l'impact du stress sur la neurogenèse hippocampique est davantage pertinente chez ces deux dernières.

b. Effets neurogéniques dépendants et indépendants dans l'action des antidépresseurs

Récemment Boldrini et collaborateurs (2009) ont suggéré que les futures études chez l'homme devraient déterminer à partir de quel niveau les antidépresseurs devraient affecter la neurogenèse pour obtenir une réponse. Les études précliniques chez le rongeurs, utilisant des approches fonctionnelles qui annulent la neurogenèse, sont utilisées pour établir la relation

entre l'activité neuronale et l'apport de la neurogenèse hippocampique sur les effets comportementaux des antidépresseurs, chez des animaux stressés et non stressés.

a) En conditions physiologiques

L'étude de Santarelli et collaborateurs (2003) a soulevé de nombreuses questions sur la contribution de la neurogenèse hippocampique dans l'amélioration comportementale induite par les antidépresseurs, chez des souris non stressées.

Depuis cette étude, il a été montré que l'effet comportemental des ISRS est dépendant de la présence de la neurogenèse hippocampique (Wang et al., 2008). Cependant, chez la souche de souris BALB/cJ, l'abolition de la neurogenèse par rayons X ne bloque pas la réponse comportementale induite par les ISRS dans différents paradigmes comportementaux liés à l'anxiété/dépression, comme notamment dans le NSF (Holick et al., 2008). En effet, un traitement chronique avec de la fluoxétine n'a pas permis d'augmenter la neurogenèse hippocampique (Holick et al., 2008 ; Huang et al., 2008). Plus généralement, selon les conditions expérimentales et les traitements, les effets comportementaux anxiolytiques /antidépresseurs semblent médiés par des voies dépendantes ou non de la neurogenèse. En effet, les apports bénéfiques d'un environnement enrichi, de l'exercice physique, de l'apprentissage, et du comportement lié à l'anxiété semblent être indépendants d'une augmentation de neurogenèse chez la souris adulte (Meshi et al., 2006).

Afin d'examiner si l'augmentation induite par un traitement antidépresseur peut être simplement un épiphénomène, l'étude par des modèles animaux d'anxiété/dépression où la neurogenèse hippocampique est réduite semble être une bonne alternative. Le modèle animal que nous avons développé (David et al., 2009 - Article 1 de la thèse), qui consiste à apporter de la corticostérone exogène chez la souris, montre que la fluoxétine chez ces animaux engendre des effets neurogéniques plus important qu'en condition basale (David et al., 2009).

b) En conditions pathologiques

Afin de comprendre si une neurogenèse altérée est importante pour le traitement de la dépression, Deisseroth et collaborateurs ont étudié l'activité hippocampique chez le Rat après un stress chronique, et en particulier la neurogenèse (Airan et al., 2007). Utilisant l'irradiation afin d'abolir la neurogenèse, ils ont mis en évidence que l'efficacité comportementale des antidépresseurs, nécessite une neurogenèse fonctionnelle dans le test de la nage forcée (Airan et al., 2007).

Globalement, un traitement antidépresseur est suffisant pour augmenter transitoirement

la neurogenèse et exercer des bénéfices comportementaux longtemps après l'arrêt du traitement, cet effet étant absent quand la neurogenèse est manquante ([Airan et al., 2007](#); [Bessa et al., 2009](#)).

TRAVAIL EXPERIMENTAL

TRAVAIL EXPERIMENTAL

I. Etudes comportementales chez la souris

A. Mesures de l'activité dans un environnement familier

Au préalable, les animaux sont hébergés par groupe de 5 dans leur cage de vie. Chaque animal testé pour l'activité locomotrice est isolé 24 heures avant le début de l'enregistrement. Au moment de la mesure, l'animal est placé sur un dispositif développé par la société BIOSEB (ActiV-meter, BIOSEB, Vitrolles, France) qui se constitue d'un boîtier d'acquisition sur lequel repose un plateau. La cage est placée sur le plateau afin de calibrer le dispositif. La calibration consiste à placer un poids fixe à chacun des coins de la cage afin d'informer le logiciel de la dimension de cette dernière. L'acquisition est effectuée à l'aide de capteurs de poids qui enregistrent les modifications dans la cage à chaque instant, ce qui permettra de déterminer l'activité de l'animal (Figure 25).

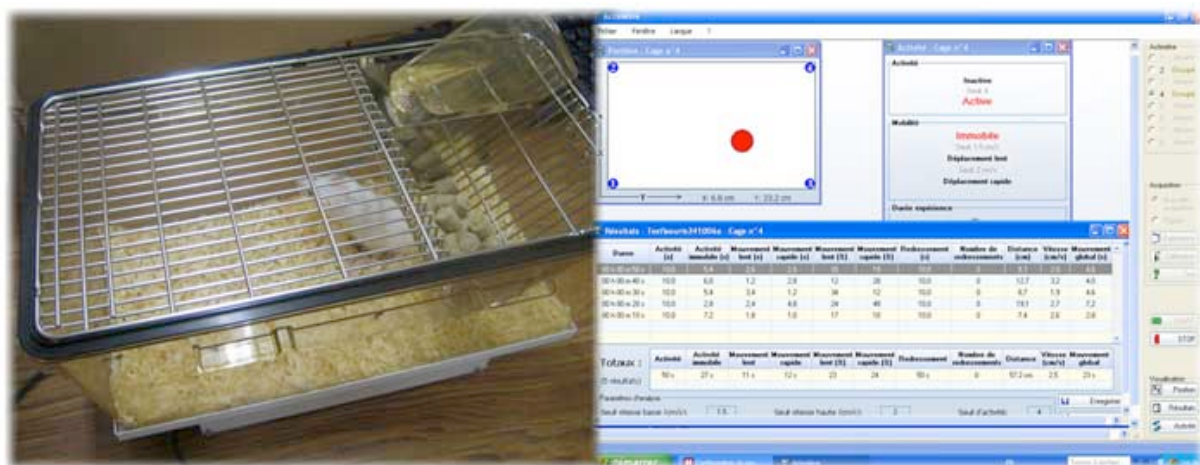


Figure 25 – Dispositif d'acquisition de l'activité dans la cage de vie chez la souris.

L'animal est libre de ses mouvements et dispose d'eau et de nourriture ad libitum (photo gauche). Le logiciel enregistre l'intensité des déplacements de l'animal dans sa cage (photo droite).

A la fin de l'expérience, l'animal est replacé dans sa cage initiale avec ses congénères. Les résultats sont exprimés en durée totale d'activité locomotrice, activité immobile (toilette ou prise alimentaire) ainsi que l'inactivité (repos). Cette analyse sur 24 heures permet de séparer l'activité en période diurne et nocturne, et de calculer le ratio d'activité.

B. Tests prédictifs d'un phénotype ou d'une activité de type anxiolytique

1. Le test du champ ouvert ou test de l'« open field »

Le test de champ ouvert est l'un des plus utilisés en psychopharmacologie. Il est réalisé en plaçant l'animal dans une cage de 40x40 cm, ouverte pendant 30 minutes. Les mouvements de l'animal sont mesurés par un système de suivi de l'animal par des capteurs infrarouge (Activity Monitor, MED associates, Georgia, VT, USA). L'open field est utilisé afin de prédire une activité de type anxiolytique (Figure 26). Pour cela, une aire virtuelle représentant un carré de 12,3 cm de côté est définie. En général, les animaux présentent un haut degré d'évitement de l'aire centrale par rapport à la périphérie. L'administration unique d'un anxiolytique, comme une benzodiazépine ou chronique d'un antidépresseur augmentent le nombre d'entrées et le temps passé dans cette aire centrale (Prut and Belzung, 2003). Au final, les variables mesurées dans l'open field sont l'activité ambulatoire totale, le nombre d'entrées dans l'aire centrale, le temps passé dans le centre de l'arène. Ce test peut être utilisé pour une mesure simple de l'activité locomotrice et donc permettre également l'interprétation des résultats du test de la nage forcée, afin de rechercher les effets sédatifs ou hyperlocomoteurs éventuels des antidépresseurs.

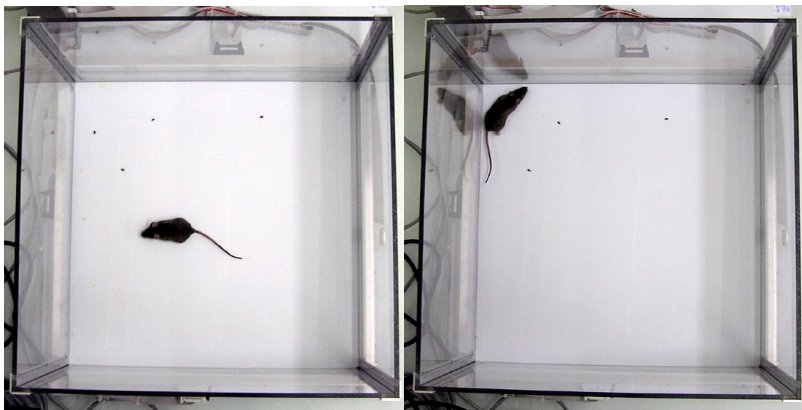


Figure 26 - Test de Champ Ouvert chez la Souris.

Une administration unique d'anxiolytique augmente le nombre d'entrées et le temps passé dans l'aire centrale de l'arène chez la Souris (photo gauche) tandis que classiquement les Souris se déplacent sur les cotés de la cage (photo droite).

2. Le labyrinthe en croix surélevée

Ce paradigme est un test de mesure d'un comportement de type anxieux développé d'abord chez le Rat (Pellow and File, 1986) puis chez la Souris (Figure 27). Le labyrinthe est composé de 2 bras ouverts et 2 bras fermés reliés par une plateforme centrale, à 50 cm au dessus du sol et éclairé par une lampe de faible puissance (20 watts). Les souris sont placées individuellement sur la plateforme centrale, face à un bras ouvert et peuvent explorer librement l'ensemble du labyrinthe pendant 5 minutes. Une caméra placée au dessus du dispositif et reliée à un logiciel de suivi (ANY-maze, Stoelting Co, IL, USA) permet l'enregistrement des déplacements. Afin de discriminer un effet anxiolytique d'un effet sédatif, le nombre total d'entrées dans les 4 bras est mesuré. Un phénotype anxieux se caractérise par une diminution du temps passé dans les bras ouverts par rapport au temps passé dans les bras fermés. Une administration aiguë de benzodiazépine augmente le temps passé dans les bras ouverts.



Figure 27 – Test du labyrinthe en croix surélevée.

Un traitement aigu par des anxiolytiques augmente le nombre d'entrées et le temps passé dans les bras ouverts (photo gauche) et diminue le temps passé dans les bras fermés (photo droite)

3. Le test d'alimentation supprimée par la nouveauté ou « novelty suppressed feeding »

Ce test induit une situation de motivations conflictuelles chez l'animal, entre celle dirigée vers la nourriture et la peur de s'aventurer au centre de l'enceinte fortement éclairée. Ce test a montré son aptitude à mettre en évidence des changements dans le comportement des rongeurs comme le Rat et la Souris, après un traitement anxiolytiques (traitement aigu) et antidépresseurs (traitement chronique) (Santarelli et al., 2003). L'animal à jeun depuis 24 heures est placé dans une cage rectangulaire de 2500 cm² (50x50x20 cm). Au centre de cette cage est disposé un cercle blanc éclairé dans lequel sont déposés 2 granulés de nourriture.

L'animal est alors placé dans un coin du dispositif la tête face à la paroi, puis un chronomètre est immédiatement lancé. La latence pour mordre manifestement le granulé (croquer dans le granulé en utilisant ses pattes avant) est enregistrée. Les animaux sont testés individuellement pendant une période de 10 minutes (David et al., 2009 ; Santarelli et al., 2003). On mesure le temps de latence mis par l'animal pour aller se nourrir (Figure 28). Une administration aigüe d'anxiolytique ou chronique d'antidépresseur réduit la latence à se nourrir. A la suite de ce test, l'animal est replacé dans sa cage et on mesure sa consommation de nourriture pour vérifier que les variations du temps de latence entre des animaux traités et des animaux non traités sont dues à l'activité anxiolytique/antidépresseur des molécules étudiées et non à ses effets sur l'appétence.



Figure 28 - Test du Novelty Suppressed Feeding.

Un traitement chronique par antidépresseur diminue le temps de latence des animaux pour se nourrir. Le dispositif est constitué d'une enceinte dont le sol est recouvert de sciure, et dans le centre duquel est placée de la nourriture sur un disque blanc cartonné (photo gauche). La latence de la prise alimentaire est mesurée (photo droite).

C. Tests prédictifs d'un phénotype ou d'une activité de type antidépressive

1. Index d'état dépressif : quantification de l'état du pelage

L'état du pelage peut servir d'index du niveau « dépressif-like » chez la souris (Ducottet et al., 2003 ; Griebel et al., 2002). Cette mesure est un bon indicateur de la dégradation de l'activité de toilettage chez la souris et par corrélation de son état « dépressif » (Figure 29). Le score du pelage est évalué dès le début de l'expérience et répété une fois par semaine, le même jour, jusqu'à la fin du protocole. Ce score est défini après l'évaluation par l'expérimentateur sur 5 zones du corps de l'animal : la tête, le cou, le dos, le ventre, les pattes.

Un score de 0 est attribué pour un pelage en bon état, 0.5 si le pelage est peu dégradé, et 1 pour un pelage dégradé. Le score global est ensuite calculé.

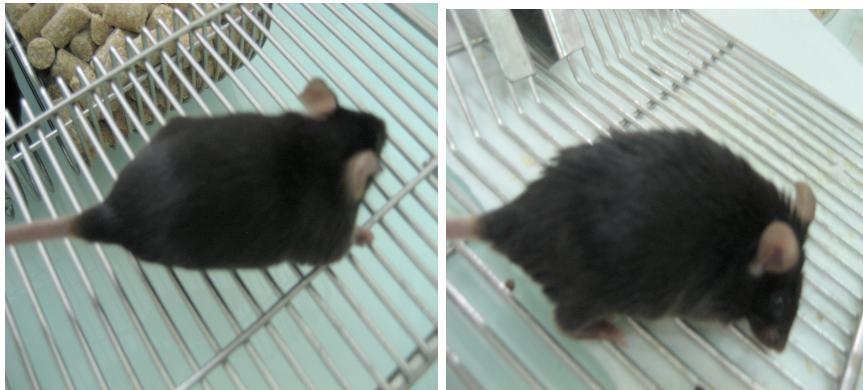


Figure 29- Dégradation de l'état du pelage.

En conditions standards (photo gauche), l'animal présente un pelage lisse et brillant. Après 4 semaines d'exposition à la corticostérone dans l'eau de boisson, le pelage de l'animal se dégrade en paquet disparate (photo droite).

2. Le splash test

Ce test est assimilé au caractère dépressif puisqu'il met en œuvre la capacité de toilettage chez le rongeur. Les animaux d'une même cage sont placés 30-60 min dans une nouvelle cage (cage de pré-test). Au moment du test, on vaporise une fois et de façon modérée une solution de saccharose à 10% sur le cou de l'animal. Cette solution est non seulement collante, mais également appétante, ce qui doit initier un toilettage chez le rongeur. L'animal est directement introduit dans sa cage initiale sans nourriture ni eau pour la durée du test. Un chronomètre est lancé simultanément. Plusieurs paramètres sont mesurés : la latence à initier un toilettage (qui doit durer plus de deux secondes et comprend une action des pattes avant sur la face, ou un léchage du pelage ventral ou dorsal), le temps total ainsi que la fréquence des toilettages (sur une période de 5 minutes). A la fin du test, la souris est introduite dans une cage temporaire le temps que les souris de la même cage soient toutes passées dans le test.

3. Cas particuliers

Les deux tests présentés ci-dessous sont en lien avec la modélisation de la dépression mais ne sont pas prédictifs d'un état « dépressif-like ». Ils sont en revanche utilisés pour déterminer l'efficacité d'un traitement antidépresseur.

a. Le test de la nage forcée ou test de Porsolt

Le test de la nage forcée a été établi par Porsolt en 1977 (Porsolt et al., 1977) (Figure 30): c'est un test prédictif de l'activité des antidépresseurs, reconnu et fiable (Petit-Demouliere et al., 2005). Il consiste à placer une souris dans un bocal de 19 cm de diamètre et de 25 cm de profondeur qui sont remplis d'eau (à une température de +23-25°C). Une caméra placée au-dessus des béciers permet l'enregistrement du test. Le logiciel X'PERT FST (Bioseb, Vitrolles, France) corréle les informations entre la caméra et le capteur. Après une calibration faite par le même expérimentateur, l'appareil effectue une analyse automatique des enregistrements. Le test dure 6 minutes et consiste à comptabiliser le temps d'immobilité des animaux sur les 4 dernières minutes de test. Après une période de nage d'échappement, l'animal s'immobilise et adopte un comportement dit de désespoir. Les souris sous traitement antidépresseur (administré 30 min avant le test) ont classiquement un temps d'immobilité réduit en comparaison des souris non traitées. Dans le FST chez la Souris, il existe une très bonne corrélation entre l'activité « antidépressive-like » prédite pour une molécule et son effet avéré en clinique puisque 94% des molécules, dont le test montre une baisse du temps d'immobilité, se révèlent être de futurs antidépresseurs alors que ce chiffre n'est que de 89% pour le FST chez le Rat. Cette corrélation entre l'effet antidépresseur dans le FST et l'effet thérapeutique n'est retrouvé dans aucun autre modèle (Thiebot et al., 1992).

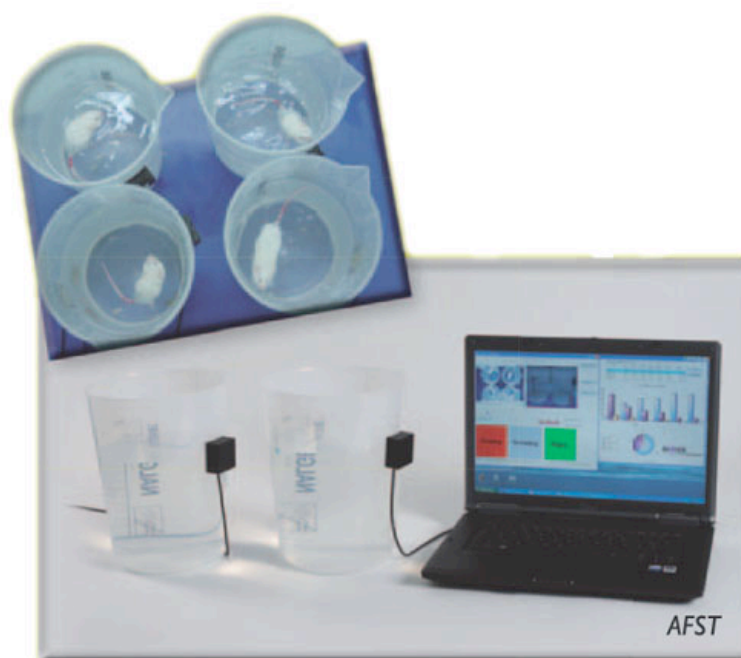


Figure 30 – Dispositif d'enregistrement du test de la nage forcée chez la souris.

Une souris traitée par un antidépresseur voit son temps d'immobilité diminué.

b. Le test de la suspension par la queue

De la même façon que le test de la nage forcée, le test de suspension par la queue développé initialement par Steru et collaborateurs en 1985 (Steru et al., 1985) mesure l'immobilité chez l'animal. Un scotch doux est placé au bout de la partie caudale de l'animal, ce qui permet de le suspendre par la queue à un crochet. Le crochet est relié à un capteur qui enregistre les variations de mouvements (Bio-TST2, Bioseb, Vitrolles, France) (Figure 31). L'enregistrement des données est effectué sur la période totale du test, qui dure 6 minutes.

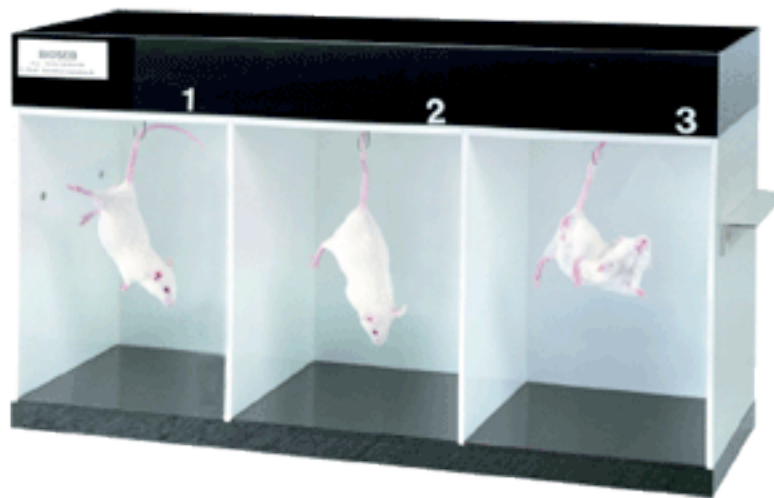


Figure 31 – Dispositif d'enregistrement du test de suspension par la queue.

Une souris traitée par un antidépresseur voit son temps d'immobilité diminué.

II. Etudes de la neurogenèse hippocampique chez la souris adulte

A. Préparation des tissus

1. Perfusion intra cardiaque

La souris est anesthésiée à l'aide d'un mélange kétamine/ xylasine (120 mg/kg et 10 mg/kg, respectivement). On contrôle l'anesthésie en effectuant une pression sur la patte arrière de l'animal. L'absence de réaction permet d'entreprendre la chirurgie. L'animal est fixé sur une planche en liège, sur le dos. Une incision au niveau médian de l'abdomen permet d'introduire les ciseaux de chirurgie et de remonter jusqu'au diaphragme par les flans de l'animal. Le diaphragme sectionné laisse entrevoir le cœur. La peau qui recouvrait l'abdomen est rabattue en arrière puis fixée, permettant un accès dégagé jusqu'au cœur. Il est primordial

d'opérer rapidement l'animal pour conserver la propriété pulsatile du cœur. Cette capacité va permettre de rincer et fixer les tissus cérébraux, ce qui est nécessaire pour obtenir des marquages sans pollution par des cellules sanguines résiduelles. Un cathéter relié à une pompe péristaltique (pompe péristaltique 0,4-85 ml/min, W40578, Fischer Scientific SAS, Illkirch, France) est inséré dans le ventricule gauche du cœur. Cette pompe a pour fonction de perfuser en premier lieu une solution de NaCl 0.9% conservée dans la glace. Une fois le cathéter en place, une incision de l'oreillette droite va permettre au cœur et à la pompe d'évacuer le sang du corps de l'animal. Après 5 minutes, on peut constater une décoloration de certaines zones du corps de l'animal tels que : le foie, les pattes avant, la langue, les oreilles etc. Ces indicateurs permettent de poursuivre le processus de perfusion en changeant le NaCl 0.9% par une solution de paraformaldéhyde 4% dans 0,2M de solution de Sørensen pendant 10 minutes. Cette solution va permettre de fixer les tissus et de stopper toutes activités cellulaires. Le cerveau est ensuite prélevé et conservé pendant la première journée dans une solution de paraformaldéhyde 4% à 4°C. Elle sera ensuite substituée par une solution de tampon phosphate (PBS) + sucrose 30% + azide 0.1% à 4 °C ce qui permettra de protéger et conserver les tissus jusqu'à leur prochaine utilisation.

2. Préparation des cerveaux

Les cerveaux sont placés à l'envers dans des blocs en plastique individuels préalablement remplis avec de l'OCT (Tissue-Tek, Optimal Cutting Temperature). Ainsi préparés, les blocs sont plongés dans une boîte en polystyrène contenant de la carboglace (-60 °C). La propriété de l'OCT à se solidifier à basse température va contenir le cerveau dans un bloc. Ils sont ensuite démoulés puis conservés au congélateur à -80°C.

Le bloc d'OCT est fixé sur une platine amovible encore une fois à l'aide d'OCT, à l'intérieur d'un dispositif réfrigéré à -20°C (Leica CM 3000). Cet appareil va permettre de faire des sections du bloc, ici définies à 35 µm d'épaisseur. On équilibre ensuite le cerveau par rapport à la lame du couteau du cryostat de façon à obtenir une morphologie symétrique des structures cérébrales. Après l'identification du début de l'hippocampe à l'aide de l'atlas pour Souris (Bregma -1.20 to -3.80 mm; [Franklin et Paxinos, 2007](#)), chaque section de l'hippocampe est collectée (Figure 32).

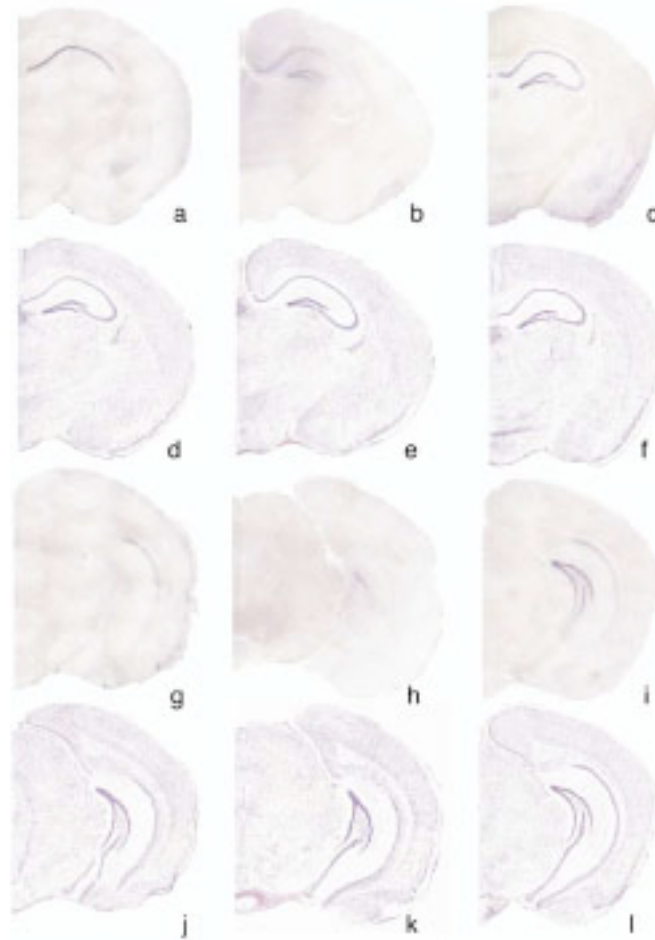


Figure 32 – Section coronale de l’hippocampe chez la souris adulte.

Les sections sont présentées de la partie la plus dorsale (a) à la partie la plus ventrale (l) de l’hippocampe. D’après (Leonardo et al., 2006).

Le stockage des coupes de cerveaux se fait à l’aide d’une boîte de 24 puits. Chaque ligne correspond à un cerveau. Les puits sont remplis par une solution de PBS + sodium azide (0.1%) qui préservera les tissus d’une éventuelle dégradation par les bactéries ou champignons. L’hippocampe se subdivisera par 13 séries de 6 coupes. On place dans chaque puits 1 coupe sur 6 ce qui permet d’obtenir 6 « cerveaux partiels » dont chaque section est espacée de la suivante par 210 μm . Cette méthode permet d’économiser le nombre d’animaux en utilisant différents marqueurs immunohistochimiques pour le même cerveau.

B. Prolifération et survie des cellules progénitrices

L’étude de la prolifération cellulaire dans l’hippocampe de la souris adulte nécessite une injection de 5-bromo-2-deoxyuridine (BrdU) 2 heures avant son sacrifice (150 mg/kg). L’étude de la survie cellulaire diffère de la prolifération dans le sens où le BrdU est

administré 2 fois par jour pendant 3 jours 3 semaines avant le sacrifice de l'animal. Le BrdU est un analogue synthétique de la thymine. Au moment de la réplication de l'ADN (pendant la phase S du cycle cellulaire) le BrdU va s'incorporer au nouveau brin formé et permet de marquer ainsi les cellules nouvellement formées. Les anticorps spécifiques anti-BrdU vont permettre de révéler ces jeunes cellules en suivant le protocole suivant.

Les sections de cerveaux sont montées sur des lames (lames adhésives super Frost plus, Fischer Scientific SAS, Illkirch, France), puis placées pendant 5 minutes dans une solution d'acide citrique (pH 6.0) à 96°C. Après des rinçages successifs avec du PBS, les tissus sont traités avec de la trypsine (0.01%) dissoute dans du Tris/CaCl₂ pendant 10 minutes. Suite à une nouvelle série de rinçage, du 2N HCl est déposé sur les lames pendant 30 minutes. Le blocage des lames est effectué à l'aide d'une préparation de sérum de Chèvre (normal goat serum, NGS) 5% dans du PBS. Pendant la nuit, on dépose sur les lames une solution d'anticorps anti-souris BrdU (1 :100). Après une série de rinçage au PBS, les lames sont recouvertes d'une solution d'anticorps secondaire (1: 200 chèvre anti-souris biotinyllé) pendant une heure, suivie d'une amplification par un complexe avidin/biotine. Le marquage est visualisé par le 3,3'-Diaminobenzidine (DAB). Les tissus sont plongés dans des bains successifs permettant le contremarquage par FAST-RED (Vector Nuclear Fast Red H-3403, ABCYS, Paris, France) pendant 2 min puis un rinçage à l'eau ultrapure (1min) ainsi qu'une déshydratation progressive (dans de l'éthanol 70% puis 100% pendant 5 et 10 minutes, respectivement). Les lames sont recouvertes par une lamelle entre lesquelles on dépose un milieu de montage qui permet de fixer définitivement les tissus. La quantification des cellules marquées se fait comme précédemment décrite par Malberg et coll. (2000) à l'aide d'un microscope (Olympus BX51 microscope, Allemagne) au grossissement 40X.

C. Etude de la maturation neuronale

L'étude de la maturation neuronale ne nécessite pas d'injecter un marqueur exogène. En effet, on utilise l'expression endogène d'un marqueur de neurone immature la Doublecortine (DCX) exprimé à la membrane des cellules neuronales, qui permet de révéler les neurones nouvellement formés dans la couche granulaire de l'hippocampe (Couillard-Despres et al., 2005). La procédure suit celle décrite par Wang et collaborateurs, 2008 (Wang et al., 2008). Les sections de cerveaux sont rincées avec du tampon tri-phosphate (TBS), puis traitées dans une solution de H₂O₂ 1% (qsp TBS) pendant 15 minutes. Les tissus sont incubés dans une préparation à 10% de sérum d'âne avec 0.3% de Triton X- 100 pendant 30 minutes. Les tissus

sont maintenus toute la nuit avec l'anticorps primaire doublecortine (chèvre 1 :500 ; Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, USA). L'anticorps secondaire est biotinylé selon la construction âne anti-chèvre (1 :500 ; Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) dans du TBS pendant 2 heures à température ambiante. Le marquage est révélé par un complexe avidine/biotine (Vector USA) et un kit DAB (SK-4100 DAB kit, Vector, USA). Une fois la révélation effectuée, les coupes de cerveaux sont montées sur lames et recouvertes par une lamelle. Les cellules marquées avec l'anticorps doublecortine (DCX+) sont catégorisées selon leur morphologie dendritique (Figure 33) : DCX+ sans arborisation tertiaire et celles avec une arborisation plus complexe. L'index de maturation est défini comme le ratio entre les cellules avec arborisation complexe sur le total des cellules DCX+.

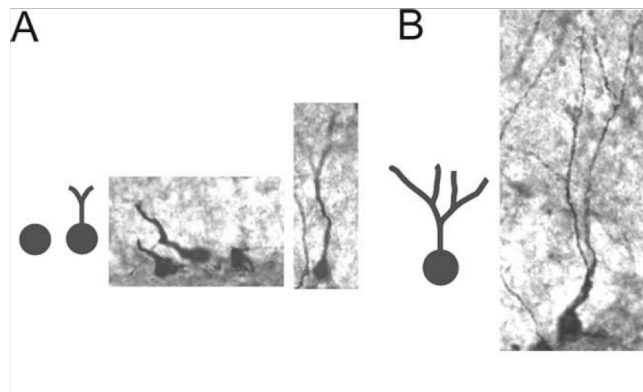


Figure 33 – Catégorie des jeunes neurones exprimant la doublecortine.

Les neurones sont classés en fonction de leur arborisation dendritique. Neurones sans arborisation tertiaire (photo A). Neurone présentant une arborisation tertiaire (photo B). D'après (Wang et al., 2008).

III. Etudes neurochimiques par microdialyse intracérébrale *in vivo* chez la Souris éveillée, libre de ses mouvements

A. Chirurgie

Les souris sont anesthésiées (hydrate de chloral, 400 mg/kg; i.p.), puis placées sur un appareil stéréotaxique, maintenues par des barres d'oreilles et un étau buccal fixant la mâchoire supérieure. L'appareil stéréotaxique permet le déplacement du bras portant la sonde de dialyse dans les 3 dimensions (Antériorité, Postériorité et Ventralité). Après incision longitudinale de la peau du crâne, celle-ci est écartée et l'os crânien nettoyé avec de l'eau oxygénée (10 volumes). Le bregma, point d'intersection des lignes de suture des os du crâne

est alors visible et sert de point de référence (point « zéro ») antéropostérieur et latéral. On vérifie avant chaque implantation que la ventralité du lambda et du bregma ne diffère pas de plus de 0,03 mm afin d'assurer le bon placement de l'animal sur l'appareil stéréotaxique (Figure 34).



Figure 34 - Description des repères anatomiques nécessaires à l'implantation correcte des sondes de microdialyse.

La photo représente un animal placé sur l'appareil de stéréotaxie en vue de l'implantation de la sonde de dialyse. Le schéma indique les repères physiques permettant l'évaluation des coordonnées d'implantation dans les structures cibles.

A partir de ce point et grâce aux coordonnées stéréotaxiques données par l'atlas de (Hof et al., 2000) (Tableau 12), l'os est percé manuellement à l'aide d'une aiguille Terumo (gauge 23G), en un point pour l'hippocampe, et en un seul point pour le NRD (Figure 35). La surface de la dure mère constituant le point de coordonnée "zéro" de l'axe ventral, la sonde est descendue manuellement et **très lentement** à raison d'un millimètre (mm) par minute, puis collée à l'os crânien avec du ciment dentaire (GACD, Paris, France). Après cette étape de chirurgie, les souris sont placées dans des cages cylindriques en plexiglas dans lesquelles elles sont libres de leurs mouvements et ont accès ad libitum à de l'eau et à de la nourriture. Environ 20 heures après la chirurgie, les animaux sont prêts à être utilisés pour les expériences de dialyse.

| Structures cérébrales | Coordonnées stéréotaxiques (en mm / Bregma) | | |
|-----------------------|---|------------|------------|
| | Antériorité | Latéralité | Ventralité |
| Hippocampe | - 3,4 | ± 3 | - 3,5 |
| Noyau du Raphé Dorsal | - 4,5 | 0 | - 4 |

Tableau 12 - Coordonnées stéréotaxiques des régions sérotoninergiques centrales étudiées chez la Souris.

D'après (Hof et al., 2001).

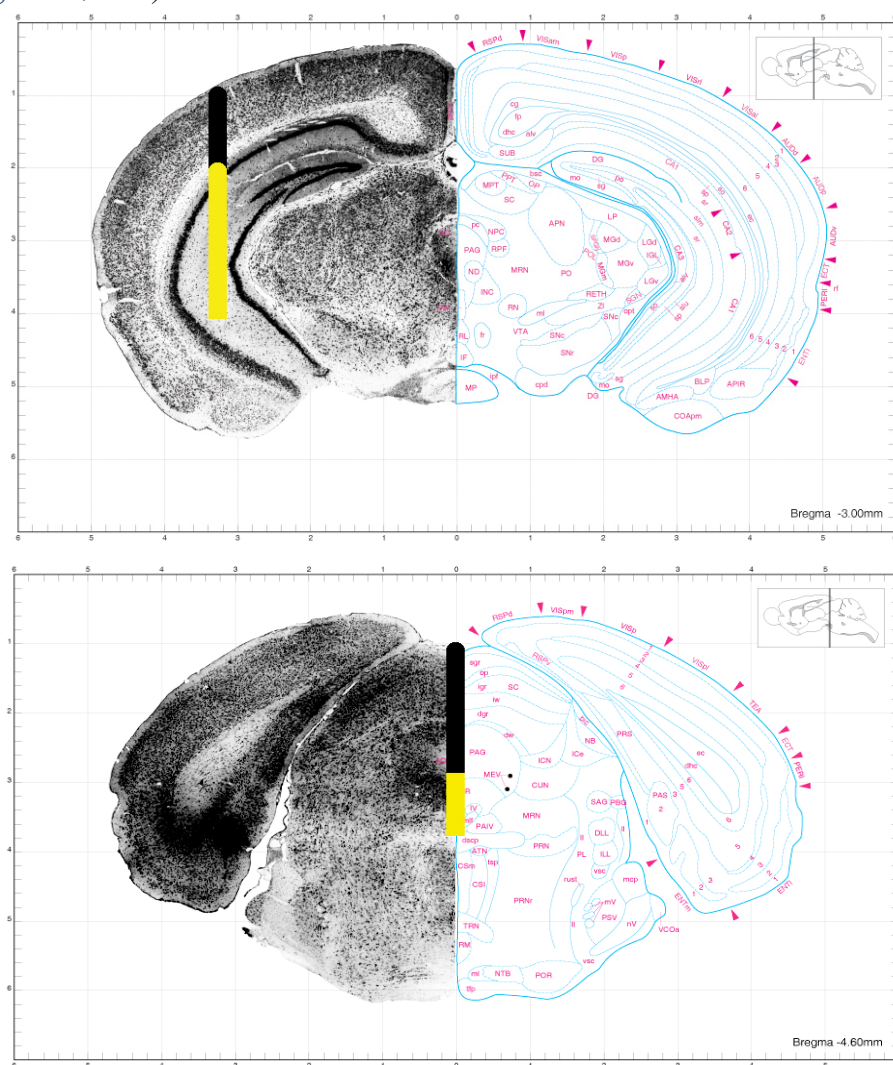


Figure 35- Coupes coronales de l'atlas stéréotaxique de Souris correspondant aux différentes régions sérotoninergiques implantées avec une sonde de microdialyse.

La partie jaune de la sonde correspond à la zone d'échange de la membrane de dialyse. D'après (Hof et al., 2001).

B. Microdialyse

L'ensemble de la procédure est indiqué à la Figure 36. Le jour de la microdialyse, l'entrée des sondes est reliée à un perfuseur automatique (CMA 100, Phymep, Paris) délivrant une solution tampon préparée et filtrée (filtre HATF 0,45 μm , Millipore) par nos soins et dont la composition est proche de celle du liquide céphalorachidien (LCR) (Tableau 13).

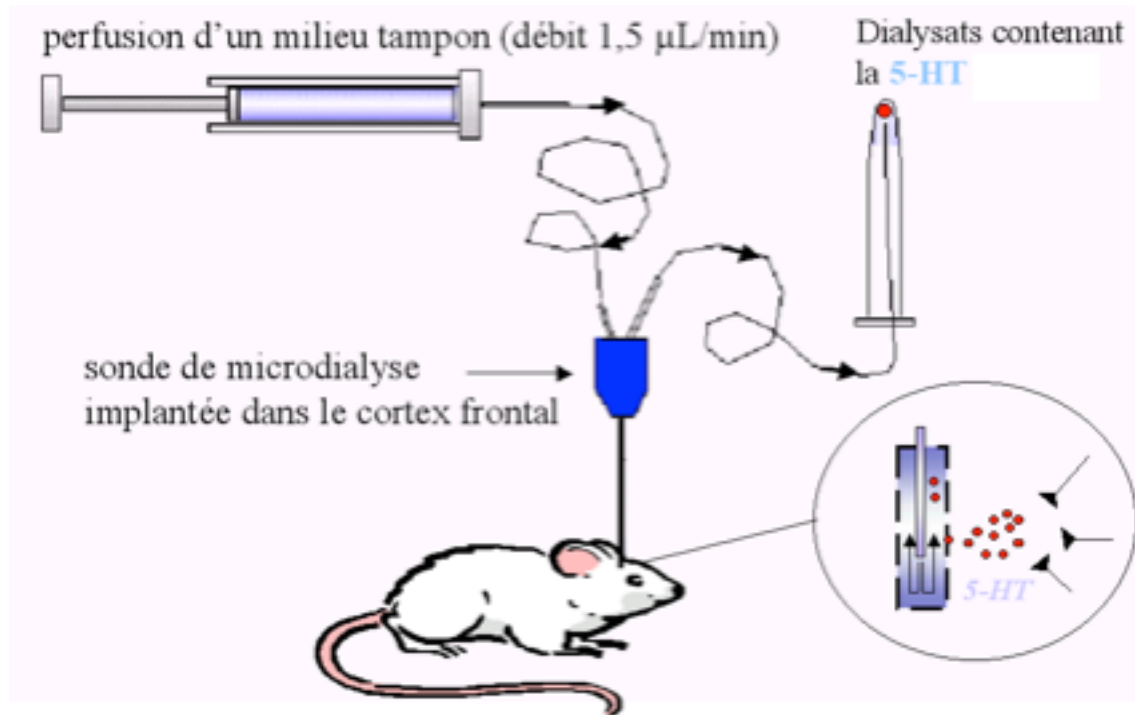


Figure 36 - Schéma représentant une expérience de microdialyse intracérébrale in vivo.

La seringue, installée sur un perfuseur, permet de délivrer le milieu tampon à un débit constant (1,5 $\mu\text{L}/\text{min}$ pour l'hippocampe, 0,5 $\mu\text{L}/\text{min}$ dans le raphé) par le biais de la membrane placée dans l'aire cérébrale étudiée. D'après la thèse de Jean-Philippe Guilloux.

| Composants | Quantités (en nM) |
|---|-------------------|
| Chlorure de sodium (NaCl) | 147 |
| Chlorure de potassium (KCl) | 3,5 |
| Chlorure de Magnésium (MgCl₂) | 1,2 |
| Chlorure de Calcium (CaCl₂) | 1,26 |
| Hydrogénocarbonate de sodium (NaHCO₃) | 25 |
| Dihydrogénophosphate de sodium (NaH₂PO₄) | 1 |
| Avec Escitalopram (Article 3) | 0.5 μ M |
| Eau Millipore | qsp 500 ml |
| PH | 7,4 \pm 0,2 |

Tableau 13 - Composition du Liquide Céphalo-Rachidien de synthèse.

Cette solution tampon artificiel est donc délivré de manière continue (débits : 1,5 μ L/min pour le cortex et l'hippocampe, et 0,5 μ L/min pour le noyau (NRD) du raphé dorsal) et diffuse à travers la membrane de dialyse. Après 1 à 2 heures de stabilisation, les 4 premiers échantillons sont recueillis toutes les 15 minutes pour le cortex et l'hippocampe (volume total par dialysat : 22,5 μ L), et toutes les 30 minutes pour le NRD (volume total par dialysat: 15 μ L) par un capillaire de sortie, de manière à établir la moyenne des concentrations extracellulaires basales de 5-HT ([5-HT]_{ext}) de chaque Souris. Les agents pharmacologiques à étudier sont ensuite administrés et leurs effets sont déterminés en fonction des variations des [5-HT]_{ext} au cours des 2 à 3 heures suivantes. Les dialysats peuvent être conservés au congélateur à -80 °C jusqu'à leur analyse chromatographique.

C. Dosage de la sérotonine par chromatographie liquide à haute performance

L'analyse des dialysats contenant la 5-HT et son métabolite, est effectuée selon une méthode décrite par notre laboratoire (Malagie et al., 2001). Le système chromatographique est constitué d'une pompe LC-118 (Beckman Coulter, Roissy, France) qui permet d'assurer un débit fixe (0,7 ml/min) de la phase mobile - préalablement filtrée (filtre HA 0,22 μ m, Millipore, Saint-Quentin en Yvelines)- dans la colonne (phase stationnaire, Nucleoside C18, 5 μ m) (Tableau 14).

| Composants | Quantités |
|--|-------------|
| Dihydrogénophosphate de sodium (NaH_2PO_4) | 31,05 g |
| Acide éthylènedinitrilotétraacétique (EDTA) | 0,1125 g |
| Acide octanosulfonique ($\text{C}_8\text{H}_{17}\text{NaO}_3\text{S}$) | 0.35 g |
| Méthanol (pureté : 99,8%) | 350 ml |
| Eau Millipore | qsp 1750 ml |

Tableau 14 - Composition de la phase mobile permettant le dosage de la sérotonine par CHLP.

Le dégazage de cette phase mobile est assuré par un passage continu d'hélium. Le pH de cette solution ajusté à 4,3 (avec de l'acide orthophosphorique) permet d'obtenir la séparation des composés endogènes d'intérêts (L'acide-5-hydroxyindolacétique (5-HIAA) et la 5-HT) avec un détecteur ampérométrique (HP 1049A, Hewlett Packard, France). Dans ces conditions, un chromatogramme est obtenu en 7 min environ. Le temps de rétention de la 5-HIAA et de la 5-HT sont respectivement d'environ 3 min et 5,5 min.

Avant d'analyser les dialysats, une courbe de calibration est réalisée à partir de l'injection de 3 solutions de concentrations connues (5-HT : 3,6 fmol/ μl ; 5-HIAA : 0,287 fmol/ μl) (Sigma-Aldrich, France). Chaque volume d'injection étant analysé en triplicata, nous obtenons une courbe de calibration à 9 points pour chaque composé permettant de déterminer un coefficient de corrélation R^2 entre la hauteur des pics et la concentration (Figure 37).

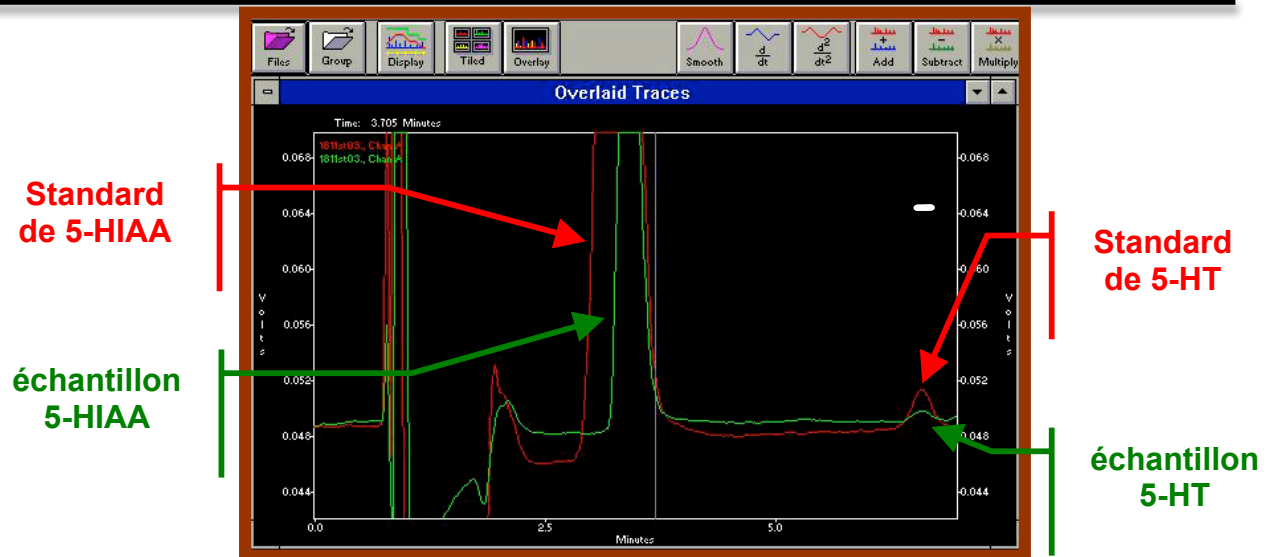


Figure 37 - Superposition de deux chromatogrammes.

Les hauteurs de pics reflètent les concentrations extracellulaires de 5-HT. En rouge, un chromatogramme correspondant à un échantillon standard de 5-HT, en vert correspondant à un dialysat. Les dialysats ne sont analysés que lorsque le coefficient de corrélation de la courbe de calibration est supérieur ou égal à 0,998.

Les concentrations extracellulaires de 5-HT ($[5-HT]_{ext}$) dosées dans les dialysats sont exprimées en pourcentage des variations par rapport aux valeurs basales qui correspondent à la moyenne calculée à partir des 8 premiers échantillons pour l'hippocampe (4 échantillons pour le raphé) recueillis pendant les deux premiers heures de microdialyse. On calcule également les aires sous la courbe (ASC) en pourcentage de la valeur basale de $[5-HT]_{ext}$ correspondante à la valeur totale de 5-HT recueillie pour chaque souris sur la période de 0 à 120 minutes qui suivent l'injection de 8-OHDPAT.

IV. Etudes du statut fonctionnel des neurones serotoninergiques

A. Test de l'hypothermie induite par une injection de 8-OH-DPAT

Ce test permet d'évaluer le statut de sensibilité du récepteur $5-HT_{1A}$ pré-synaptique chez la Souris. Le 8-OH-DPAT (tertraline 8-hydroxy-2- (Di-n-propylamino)) est un agoniste sélectif de ce récepteur. Une injection sous-cutanée aigue diminue la température du corps si les récepteurs sont disponibles. La température corporelle basale est évaluée le matin, pendant les 30 premières minutes (une prise toutes les 10 minutes). Les animaux sont ensuite injectés à la dose de 0.1 mg/kg par administration sous-cutanée. Après l'administration du 8-OH-DPAT, la température est mesurée toutes les 10 minutes pendant 1 heure à l'aide d'un thermomètre BIO-TK9882 et d'une sonde rectale BIO-BRET-3 (Bioseb, Vitrolles, France).

B. Electrophysiologie chez la souris anesthésiée

Enregistrement extracellulaire des neurones sérotoninergiques du raphé dorsal : Les enregistrements extracellulaires ont été effectués avec des micropipettes de verre à un seul baril préchargé avec des filaments de fibres de verre afin de faciliter le remplissage. La pointe a été brisée à 2-4 μm et rempli d'une solution 2 M de NaCl saturée avec du Pontamine Sky Blue pour colorer l'emplacement du dernier enregistrement. Les souris ont été placées dans un appareil stéréotaxique et un trou de trépan a été foré sur le lambda du crâne. Les neurones sérotoninergiques présumés du DRN ont été rencontrés sur une distance de 1 mm à partir du dessous du bord ventral de l'aqueduc Sylvius. Ces neurones ont été identifiés en utilisant les critères de Aghajanian (1978): une cadence de décharge lente (0,5-2,5 Hz) et régulière et de longue durée (0,8 à 1,2 ms) des potentiels d'action positif, leur localisation a également été vérifié. Une courbe dose-réponse des effets supprimeurs de décharge sur des neurones 5-HT de 8-OHDPAT a été construite. À cette fin, pour chaque souris un seul neurone a été étudié avec du 8-OHDPAT et une dose de WAY 100635 (N-(2 - éthyl [4 (2-méthoxyphényl)-1-pipérazinyl])-N-(2-pyridinyl) trichlorhydrate cyclohexanecarboxamide; 3 mg / kg, sc) pour inverser l'effet supprimeur de 8-OHDPAT sur l'activité des neurones 5-HT du DRN. Pour les études de toxicité chronique, afin de déterminer les changements possibles de l'activité de décharge spontanée des neurones du raphé dorsal 5-HT, quatre à cinq descentes d'électrodes ont été réalisées, chez la souris avec traitement véhicule/véhicule, véhicule/fluoxétine, corticostérone / véhicule ou corticostérone/fluoxétine. Finalement, le nombre de neurones enregistrés par descente à également été déterminé.

V. Génotypage des Souris mutantes

Le génotypage des souris mutantes (5-HT_{1A} -/-, 5-HT_{1B} -/-, 5-HT_{1A/1B} -/-) a été réalisé grâce à la technique de « Polymerase Chain Reaction » (PCR) à partir de prélèvements de fragments de queues prélevés lors du sevrage et du marquage des animaux.

A. Digestion des queues

Les queues sont digérées dans un tampon de lyse (EDTA 50 mM, Tris 100 mM, sarcosyl 10%, protéinase K 0,2 mg/ml) pendant 9 à 12 heures à 50°C.

B. Purification de l'ADN

Les digestats sont ensuite centrifugés pendant 10 min à 15000 tours/min. Le surnageant est ensuite mélangé à une solution hypersalée (> 5M) de NaCl (Rapport NaCl:Surnageant 1:4)

puis dilué au 1/2 dans de l'éthanol permettant la précipitation de l'ADN. La pelote formée est ensuite re-suspendue dans de l'eau et conservée à 4°C.

C. Amplification par « Polymerase Chain Reaction »

La PCR s'effectue sur 2 µl d'ADN re-suspendus, en présence de 100 µl d'un « Prémix » (Tampon 10X [In vitrogen, France], MgCl₂, oligonucléotide 0,2 mM [In vitrogen, Cergy Pontoise, France], amorces spécifiques du gène recherché 0,5µM [Eurogentech, Seraing, Belgique], Taq Polymerase 0,5µL/échantillon [In vitrogen, France]). La réaction débute par une étape de dénaturation de l'ADN de 2 min à 92°C et se poursuit par 35 cycles d'amplification dont les caractéristiques sont les suivantes : 1 min 30 à 94°, 2 min à 55°C puis 2 min à 72°C. Les couples d'amorces PCR permettent de déterminer le caractère sauvage (couples 1-2 et 3-4) ou muté (couples 1-5 et 3-5) pour les récepteurs 5-HT_{1A} et/ou 5-HT_{1B} (Tableau 15, Figure 38).

| N° | Nom | Séquence (5'-3') | Taille | PM (g/mol) | Tm (°C) |
|----|----------|----------------------|--------|---------------|------------|
| 1 | 1AJPEGDA | AACGTGACCTTCAGCTACC | 19 | 5810 | 60 |
| 2 | 1AJPEGFA | GTCCTTGCTGATGGTGCAC | 19 | 5732 | 58 |
| 3 | 1BJPEGDA | CCCATCAGCACCATGTACAC | 20 | 5990 | 62 |
| 4 | 1BJPEGFA | GACTTGGTTCACGTACACAG | 20 | 6117 | 60 |
| 5 | HenNEO | CTTCTATCGCCTTCTTGACG | 20 | 6009 | 60 |

Tableau 15 - Descriptif des amorces utilisées en PCR pour le génotypage des souris mutées.

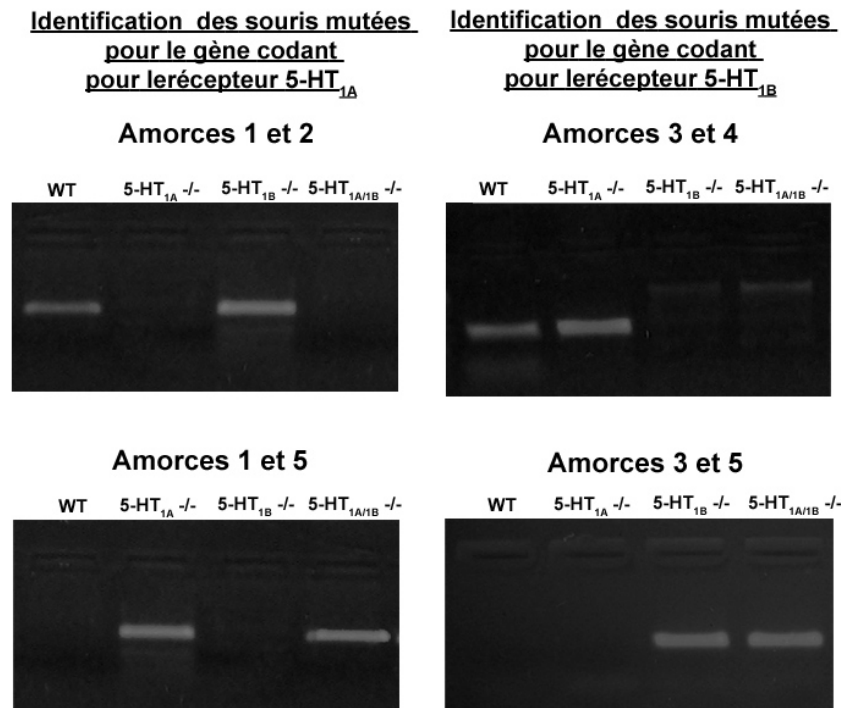


Figure 38 - Génotypage des souris 5-HT_{1A} -/-, 5-HT_{1B} -/- et 5-HT_{1A/1B} -/-

D. Electrophorèse

Les produits PCR obtenus sont séparés par migration électrophorétique en gel d'agarose à 2% (Sigma-Aldrich), immergés dans un tampon (Tris-Borate + BET). 18 µl de produits PCR + 2 µl de tampon de charge sont déposés dans chaque puits du gel. Sous l'effet du champ électrique (60 V, 70 mA), les différents fragments d'ADN chargés négativement migrent vers la cathode et sont séparés en fonction de leur poids moléculaire. Leur coloration par le bromure d'ethidium (BET) permet de visualiser chaque fragment sur un table à UV.

RESULTATS EXPERIMENTAUX

Article 1

**Effets neurogenèse dépendants et indépendants de la fluoxétine
dans une modèle animal d'anxiété/dépression**

Résultats expérimentaux

Article 1

Effets neurogène dépendants et indépendants de la fluoxétine dans un modèle animal d'anxiété/dépression

David DJ, Samuels BA, Rainer Q, Wang JW, Marsteller D, Mendez I, Drew M,
Craig DA, Guiard BP, Guilloux JP, Artymyshyn RP, Gardier AM, Gerald C,
Antonijevic IA, Leonardo ED, Hen R.

Neuron, (2009) 62:479-493

Résumé

Les inhibiteurs sélectifs de recapture de la sérotonine (ISRS) sont les antidépresseurs plus couramment prescrits pour le traitement des épisodes dépressifs majeurs ou de l'anxiété généralisée. Leur découverte représente un progrès important, mais beaucoup de questions restent en suspens concernant les mécanismes moléculaires et cellulaires qui sous-tendent leurs effets, également l'étiologie de ces troubles. Le développement de modèles animaux est nécessaire dans l'étude de la compréhension de la pathologie et de la réponse aux antidépresseurs. L'importance de travailler sur un modèle animal reproduisant les altérations comportementales, cellulaires et moléculaires chez l'Homme est primordiale. A partir de l'observation qu'un niveau élevé de glucocorticoïdes est présent chez les patients souffrant de dépression, l'administration prolongée de corticostérone exogène chez l'animal est utilisée pour induire un phénotype anxio/dépressif chez la souris. De plus, il a été montré que ce phénotype comportemental et l'altération de la prolifération cellulaire dans le gyrus dentelé de l'hippocampe par une élévation de corticostérone, peuvent être contrés par un traitement chronique d'ISRS.

L'objectif de cette étude a été de modéliser un état anxio/dépressif chez la Souris par un excès de glucocorticoïdes, afin d'étudier les conséquences comportementales, cellulaires et

moléculaires de l'administration chronique d'antidépresseurs (ISRS : la fluoxétine et un tricyclique : l'imipramine).

En outre, le deuxième objectif de ce travail a été d'utiliser ce modèle CORT pour faire le lien entre le phénotype comportemental résultant de l'administration d'antidépresseurs et les conséquences cellulaires et moléculaires, notamment sur la neurogenèse hippocampique chez la souris adulte.

Enfin, pour étudier les mécanismes neurogenèse indépendants dans les effets antidépresseurs de la fluoxétine, nous avons analysé le profil d'expression génique dans l'hypothalamus, l'amygdale et l'hippocampe, des régions connues impliquées dans la réponse au stress.

Ma contribution à ce travail collaboratif, entre l'équipe du Pr. Alain Gardier et du Pr. René Hen, a consisté à compléter la caractérisation du modèle CORT en permettant de caractériser le phénotype dépressif des animaux traités chroniquement par de la corticostérone. Ce phénotype a été évalué à l'aide de nouveaux tests comportementaux (évaluation de l'état du pelage, splash test) que j'ai pu mettre en place au laboratoire. J'ai également mis en place le modèle d'étude permettant l'évaluation de l'activité journalière en environnement familial, des animaux traités par la corticostérone. En outre, j'ai mis en place le protocole d'administration chronique. Afin de compléter l'approche neurogénique, j'ai pu compléter les résultats immunohistochimiques obtenus dans l'étude de la prolifération et inclure des données originales sur l'étape de survie cellulaire.

Neurogenesis-Dependent and -Independent Effects of Fluoxetine in an Animal Model of Anxiety/Depression

Denis J. David,^{1,6,*} Benjamin Adam Samuels,^{2,3,6} Quentin Rainer,¹ Jing-Wen Wang,^{2,3} Douglas Marsteller,⁴ Indira Mendez,^{2,3} Michael Drew,^{2,3} Douglas A. Craig,^{4,5} Bruno P. Guiard,¹ Jean-Philippe Guilloux,¹ Roman P. Artymyshyn,⁴ Alain M. Gardier,¹ Christophe Gerald,^{4,5} Irina A. Antonijevic,⁴ E. David Leonardo,² and René Hen^{2,3,*}

¹Univ Paris-Sud EA 3544, Faculté de Pharmacie, Châtenay-Malabry Cedex F-92296, France

²Department of Psychiatry

³Department of Neuroscience

Columbia University, New York, NY 10032, USA

⁴Lundbeck Research USA, 215 College Road, Paramus, NJ 07652, USA

⁵Present address: Transcription Diagnostic Incorporated, Mahwah, NJ 07430, USA

⁶These authors contributed equally to this work

*Correspondence: denis.david@u-psud.fr (D.J.D.), rh95@columbia.edu (R.H.)

DOI 10.1016/j.neuron.2009.04.017

SUMMARY

Understanding the physiopathology of affective disorders and their treatment relies on the availability of experimental models that accurately mimic aspects of the disease. Here we describe a mouse model of an anxiety/depressive-like state induced by chronic corticosterone treatment. Furthermore, chronic antidepressant treatment reversed the behavioral dysfunctions and the inhibition of hippocampal neurogenesis induced by corticosterone treatment. In corticosterone-treated mice where hippocampal neurogenesis is abolished by X-irradiation, the efficacy of fluoxetine is blocked in some, but not all, behavioral paradigms, suggesting both neurogenesis-dependent and -independent mechanisms of antidepressant action. Finally, we identified a number of candidate genes, the expression of which is decreased by chronic corticosterone and normalized by chronic fluoxetine treatment selectively in the hypothalamus. Importantly, mice deficient in one of these genes, β -arrestin 2, displayed a reduced response to fluoxetine in multiple tasks, suggesting that β -arrestin signaling is necessary for the antidepressant effects of fluoxetine.

INTRODUCTION

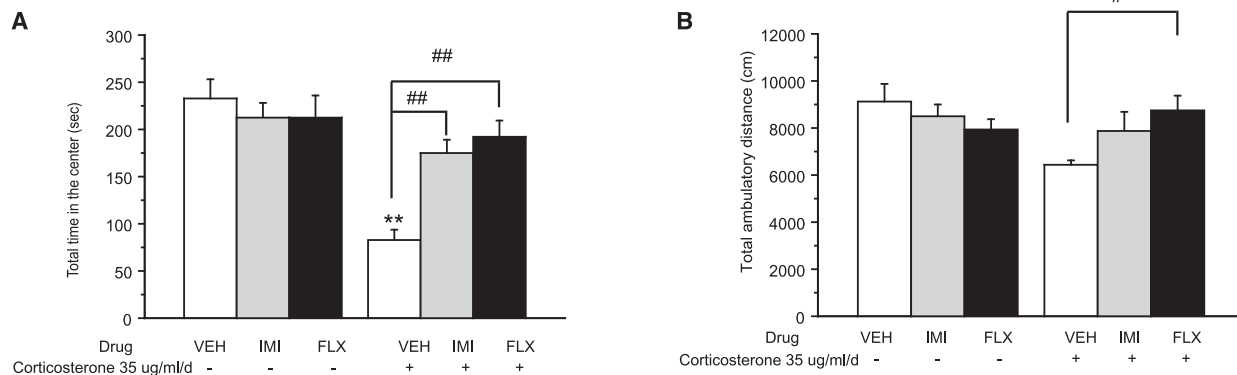
Depression and anxiety are distinct psychiatric disorders with a high comorbidity. Selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) are the most commonly prescribed drugs for the treatment of depression and several anxiety disorders. However, the actions of SSRIs at the molecular and cellular level still remain poorly understood. Furthermore, successful develop-

ment of animal models displaying features of depression/anxiety disorders that are responsive to treatment remains in its infancy. Recently, compelling work has suggested that SSRIs exert their behavioral activity in rodents through cellular and molecular changes in the hippocampus as well as other brain structures (Santarelli et al., 2003; Airan et al., 2007; Surget et al., 2008; Wang et al., 2008; David et al., 2007).

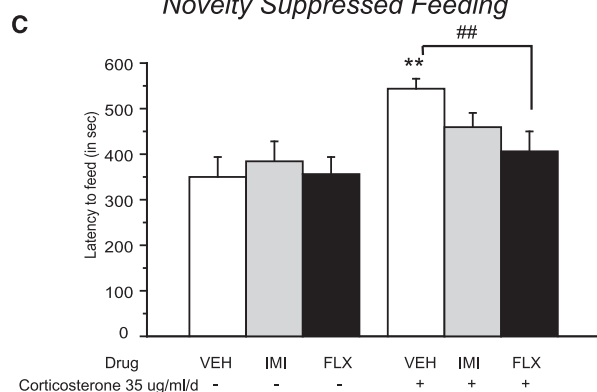
The hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis, a crossroad between central and peripheral pathways, is also known to play a key role in the pathogenesis of mood disorders (de Kloet et al., 2005). Similarities between features of depression/anxiety and disorders associated with elevated glucocorticoid levels have been reported (Sheline, 1996; Gould et al., 1998; McEwen, 1999; Airan et al., 2007; Grippo et al., 2005; Popa et al., 2008). Based on these findings, long-term exposure to exogenous corticosterone (4-pregnen-11 β -DIOL-3 20-DIONE 21-hemisuccinate) in rodents has been used to induce anxiety/depression-like changes in behavior, neurochemistry, and brain morphology (Ardayfio and Kim, 2006; Murray et al., 2008; Gourley et al., 2008). Recent results demonstrated that behavioral deficits and decreased cell proliferation in the dentate gyrus of adult mice induced by elevation of glucocorticoid levels are reversed by chronic monoaminergic antidepressant treatment (Murray et al., 2008). In addition, in a chronic stress paradigm, the behavioral effects of some, but not all, antidepressants are blocked by the ablation of hippocampal neurogenesis (Surget et al., 2008).

In this study we model an anxiety/depressive-like state in mice by studying the consequences of excess glucocorticoids in an attempt to investigate both neurogenesis-dependent and -independent mechanisms required for the functions of monoaminergic antidepressants. To this end, we show that chronic treatment with fluoxetine and imipramine in mice reverses the behavioral dysfunction induced by long-term exposure to corticosterone in the Open Field (OF) paradigm, Novelty Suppressed Feeding (NSF) test, Forced Swim test (FST), and splash test of grooming behavior.

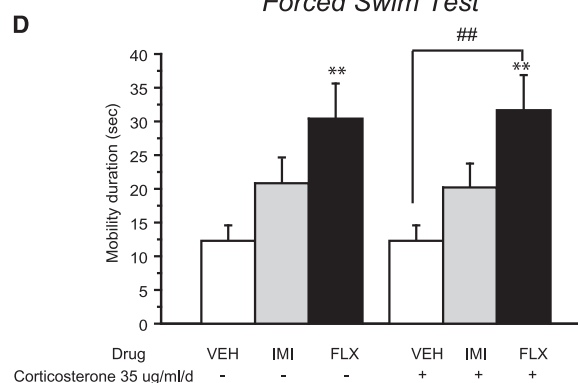
Open Field



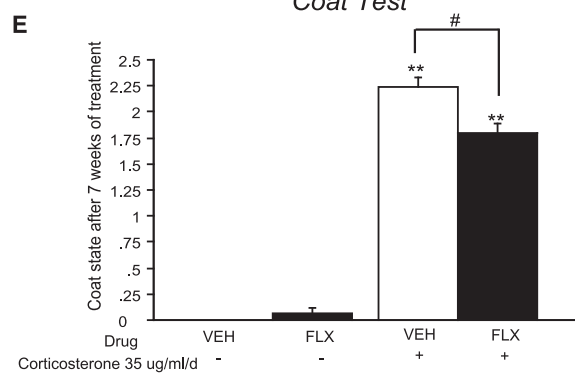
Novelty Suppressed Feeding



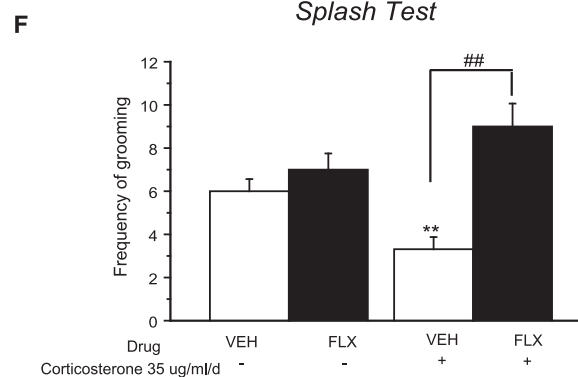
Forced Swim Test



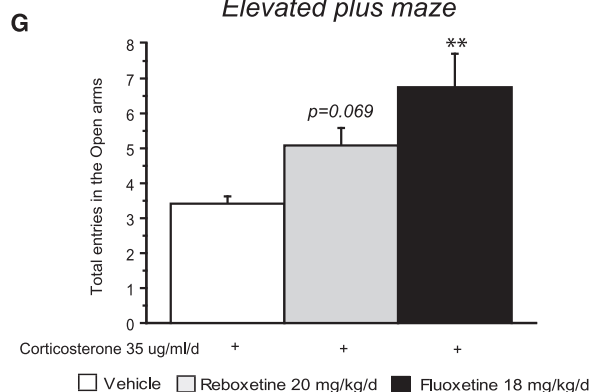
Coat Test



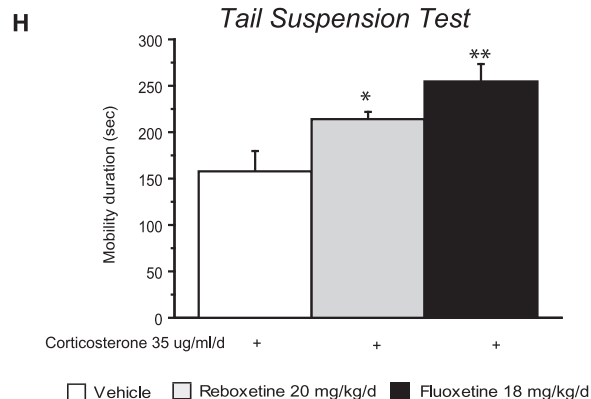
Splash Test



Elevated plus maze



Tail Suspension Test



Chronic antidepressant treatment also stimulates the proliferation, differentiation, and survival of neural progenitors in the dentate gyrus. Focal X-irradiation that ablates neurogenesis in the hippocampus while leaving other brain areas intact (Santarelli et al., 2003; David et al., 2007), coupled with behavioral tests, indicates that there are neurogenesis-dependent and -independent mechanisms mediated by chronic fluoxetine in our model of an anxiety/depression-like state.

The neurogenesis-independent mechanisms underlying antidepressant efficacy may be linked to changes in signaling in brain areas other than the hippocampus, as we show that three genes related to G protein receptor coupling, β -arrestin 1, β -arrestin 2, and *Gir2* proteins, have decreased expression in the hypothalamus that is reversed by fluoxetine. Genetic ablation of β -arrestin 2 blocked several effects of fluoxetine on behavior, suggesting that β -arrestins are necessary for the anxiolytic/antidepressant activity of this drug.

RESULTS

A complete statistical summary is included in Tables S2–S4, available online.

Effects of a 3 Week Antidepressant Treatment in a Stress-Related Model of Anxiety/Depression

Recently, multiple studies have confirmed that long-term exposure to glucocorticoids induces anxiety and depressive-like states in rodents (Stone and Lin, 2008; Gourley et al., 2008; Murray et al., 2008). Using a low dose of corticosterone (35 μ g/ml/day or 5 mg/kg/day), we found that C57BL/6Ntac and CD1 mice treated for 4 weeks developed an anxiety-like phenotype in both the OF and NSF test (Figure 1 and Figures S2 and S5, available online).

We first tested the effects of 3 week treatment with two distinct antidepressants, a tricyclic (imipramine 40 mg/kg/day) and an SSRI (fluoxetine 18 mg/kg/day), in our model of corticosterone-induced anxiety/depression-like behavior in C57BL/6Ntac mice

(see experimental design, Figure S1). In the OF, chronic exogenous corticosterone had a marked effect on all anxiety parameters, resulting in decreased time spent in the center (Figure 1A) and decreased number of entries to the center (data not shown). Interestingly, this anxiety phenotype was reversed by chronic antidepressant treatment (two-way ANOVA, $^{**}p < 0.01$, Figures 1A and S7, significant effects of pretreatment, treatment factors, and sampling pretreatment \times treatment interactions during the OF sessions [$^{**}p < 0.01$]). Regarding the total ambulatory distance, chronic corticosterone treatment showed a nonsignificant trend that was abolished by chronic fluoxetine treatment (Figure 1B). Since this trend may affect interpretation of results, we also checked the ratio of total distance in center divided by total distance (or percent path in the center). We found that corticosterone still induced an anxiety-like phenotype as it decreased this measure (Figure S7B). Both fluoxetine and imipramine significantly reversed this phenotype. These data suggest that chronic corticosterone treatment can model an anxious-like state that is responsive to treatment with distinct classes of antidepressants.

In the NSF test, we found that chronic corticosterone treatment led to a significant increase in latency to feed (Figure 1C). We then explored whether antidepressants were able to reverse this anxiety/depressive-like state observed in the NSF. Similar to the OF, the change (+36%) in latency to feed induced by chronic corticosterone was reversed by chronic fluoxetine (18 mg/kg/day) and imipramine (40 mg/kg/day) (Figure 1C, Kaplan-Meier survival analysis, Mantel-Cox log-rank test, $^{**}p < 0.01$, Figure S7C), without affecting the home food consumption (Figure S7). These data further suggest that chronic corticosterone models a state of anxiety/depression that is responsive to antidepressant treatment.

In the mouse FST, two-way ANOVA revealed that chronic corticosterone had no effect, while both fluoxetine and imipramine treatment decreased the duration of mobility during the last four minutes of the test (Figure 1D; significant treatment factor effect [$^{**}p < 0.01$]). The increase in mobility duration with both

Figure 1. Chronic Antidepressant Treatment following Corticosterone-Induced Behavioral Changes

(A and B) Effects of 3 weeks of antidepressant treatment (IMI: imipramine; FLX: fluoxetine), started after 4 weeks of corticosterone (35 μ g/ml/day), on anxiety behaviors in the Open Field test. Anxiety is measured as mean of the total time spent in the center in seconds (A). Locomotor activity is measured as total ambulatory distance traveled (B). Values plotted are mean \pm SEM ($n = 10$ – 12 per group). $^{**}p < 0.01$, $\#p < 0.05$, $\#\#p < 0.01$, versus control group and corticosterone/vehicle group, respectively.

(C) Effects of chronic antidepressant treatment on anxiety- and depression-like behaviors in the Novelty Suppressed Feeding paradigm after 7 weeks of corticosterone. Results are expressed as mean of latency to feed in seconds. Values plotted are mean \pm SEM ($n = 10$ – 12 per group). $^{**}p < 0.01$, $\#\#p < 0.01$, versus control group and corticosterone/vehicle group, respectively.

(D) Effects of chronic antidepressant treatment in the mouse Forced Swim Test after 7 weeks of corticosterone. Results are expressed as mean of mobility duration in seconds. Values plotted are mean \pm SEM ($n = 10$ – 12 per group). $^{**}p < 0.01$, $\#\#p < 0.01$, versus control group and corticosterone/vehicle group, respectively.

(E) Effects of chronic antidepressant treatment on corticosterone-induced deterioration of the coat state. Results are expressed as the total resulting from the sum of the score of five different body parts. Values plotted are mean \pm SEM ($n = 10$ – 12 per group). $^{**}p < 0.01$, $\#p < 0.05$, versus vehicle group and corticosterone/vehicle group, respectively.

(F) Effects of chronic antidepressant treatment on corticosterone-induced anxiety- and depression-related behaviors in the splash test. Results are expressed as mean frequency of grooming after receiving a 10% sucrose solution on the snout. Values plotted are mean \pm SEM ($n = 10$ – 12 per group). $^{**}p < 0.01$, $\#\#p < 0.01$, versus control group and corticosterone/vehicle group, respectively.

(G) The effects of 3 weeks of antidepressant treatment (reboxetine 20 mg/kg/day; fluoxetine, 18 mg/kg/day), started after 4 weeks of corticosterone (35 μ g/ml/day), on anxiety behaviors in the elevated plus maze. Anxiety is expressed as mean total entries in the open arms. Values plotted are mean \pm SEM ($n = 12$ – 15 per group). $^{**}p < 0.01$, versus corticosterone/vehicle group.

(H) Effects of chronic antidepressant treatment on corticosterone-induced behavior in the Tail Suspension Test. Results are expressed as mean of mobility duration in seconds. Values plotted are mean \pm SEM ($n = 12$ – 15 per group). $^{*}p < 0.05$, $^{**}p < 0.01$, versus corticosterone/vehicle group.

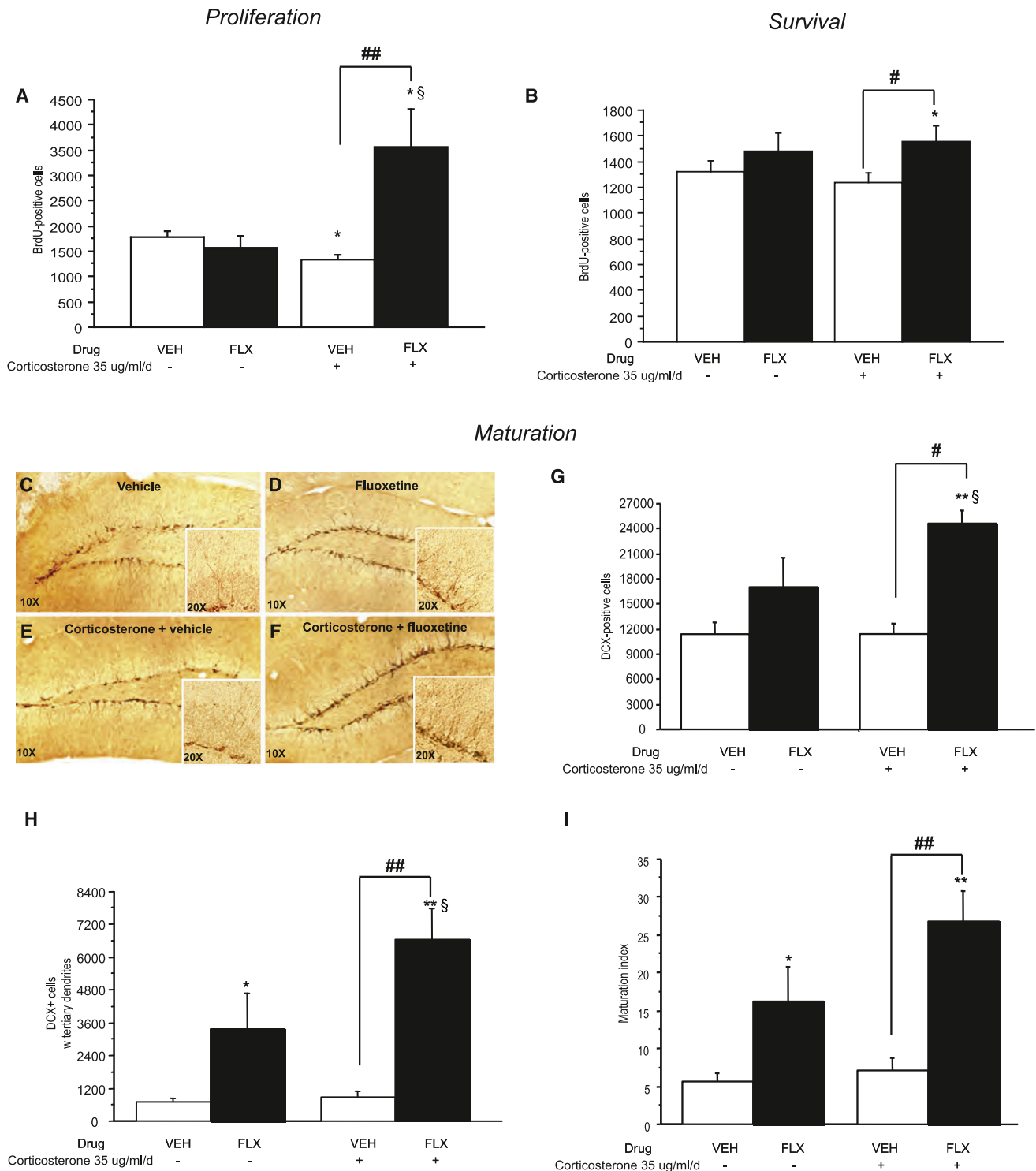


Figure 2. Fluoxetine Stimulates Cell Proliferation, Survival, and Dendritic Maturation of Young Neurons in the Dentate Gyrus of the Adult Hippocampus

(A) BrdU (150 mg/kg) was given 2 hr before sacrifice to examine the effects of 7 weeks of corticosterone (35 ug/ml/day) \pm fluoxetine (FLX, 18 mg/kg/day) during the last 3 weeks. Data are the mean \pm SEM of the BrdU-positive cell counts from 3–4 animals per treatment group for the subgranular zone and adjacent zone, defined as a two-cell-body-wide zone along the hilar border (40x magnification). * $p < 0.05$, ## $p < 0.01$, § $p < 0.05$, versus vehicle group, corticosterone/vehicle group, and fluoxetine/vehicle group, respectively.

antidepressants was observed in corticosterone-treated (from 12.2 ± 2.3 s in corticosterone group to 31.7 ± 5.1 s and 20.3 ± 3.3 s in corticosterone/fluoxetine and corticosterone/imipramine group, respectively) and non-corticosterone-treated animals (from 12.2 ± 2.4 s in vehicle [hydroxypropyl- β -cyclodextrin, or β -CD] to 30.3 ± 5.3 s and 20.7 ± 3.6 s in fluoxetine and imipramine group, respectively).

We next assessed the coat state of the animals. This measure has been described as a reliable and well-validated index of a depressed-like state (Griebel et al., 2002; Santarelli et al., 2003). Long-term glucocorticoid exposure, similar to chronic stress (Surget et al., 2008), induced physical changes including deterioration of coat state (Figures 1E and S3A) and altered body weight (Figure S3B). Importantly, a 3 week fluoxetine regimen significantly reversed the deterioration of the coat state (Figure 1E) induced by chronic corticosterone (from 2.23 ± 0.09 to 1.80 ± 0.08) (two-way ANOVA with significant effect of pretreatment, treatment factors, and sampling pretreatment \times treatment interactions [$**p < 0.01$]).

We then investigated whether the deterioration of the coat state was linked to changes in grooming behavior (Figure 1F). We observed that after squirting a 10% sucrose solution on the mouse's snout, the decreased grooming frequency (-55% , Figure 1F) induced by corticosterone treatment was reversed with 3 weeks of fluoxetine treatment (18 mg/kg/day) (from 3.3 ± 0.5 to 9 ± 1) [two-way ANOVA with significant treatment and pretreatment factors [$*p < 0.05$ and $**p < 0.01$]]. Taken together, these results suggest through multiple behavioral readouts that chronic antidepressant treatment is effective in reversing an anxiety/depression-like phenotype induced by excess glucocorticoids.

To further validate our model, we next tested the effects of fluoxetine and a norepinephrine reuptake inhibitor (NRI) (reboxetine 20 mg/kg/day) in chronic corticosterone-treated animals using two additional behavioral measures. In the elevated plus maze, a test associated with anxiety, we found that chronic fluoxetine increased entries into the open arms, while mice treated with reboxetine displayed a strong trend in this measure (Figure 1G; one-way ANOVA, significant effect of treatment [$**p < 0.01$]). Furthermore, in the Tail Suspension Test (TST), a test of response to antidepressants, both chronic fluoxetine and reboxetine significantly increased mobility (Figure 1H; one-way ANOVA, significant effect of treatment [$**p < 0.01$, $*p < 0.05$]).

We also looked at the effects of chronic corticosterone treatment on the response of the HPA axis to an acute stress. The increase of corticosterone elicited by stress in the control mice was markedly attenuated in corticosterone-treated animals (Figure S3E) (two-way ANOVA with significant effect of

pretreatment, treatment factor, and pretreatment \times treatment interaction for corticosterone levels [$**p < 0.01$]). Fluoxetine and imipramine had no effect on stress-induced corticosterone levels, both in baseline conditions and after chronic corticosterone treatment.

Chronic Fluoxetine Treatment after Long-Term Corticosterone Exposure Affects All Stages of Adult Hippocampal Neurogenesis

To investigate the potential cellular mechanisms underlying the behavioral effects of fluoxetine, we next evaluated changes in adult hippocampal neurogenesis hypothesized to be relevant for antidepressant action (Santarelli et al., 2003; Airan et al., 2007).

In agreement with previous observations (Murray et al., 2008; Qiu et al., 2007), chronic corticosterone exposure mimicked the effect of chronic stress on cell proliferation (Surget et al., 2008), decreasing the number of BrdU-positive cells in the dentate gyrus of the adult mouse hippocampus (-25%) (Figure 2A) (two-way ANOVA with significant effect of treatment factor and sampling pretreatment \times treatment interactions [$**p < 0.01$]). This change in cell proliferation induced by corticosterone was completely reversed by 3 weeks of fluoxetine treatment (18 mg/kg/day). Interestingly, fluoxetine induced a very large and significant effect on proliferation in corticosterone-treated mice, but not in non-corticosterone-treated animals (BrdU-positive cells: from 1335 ± 98.3 in corticosterone-treated animals to 3570 ± 733.1 in corticosterone/fluoxetine group).

Although chronic corticosterone treatment alone altered cell proliferation, it did not affect the survival of newborn neurons (Figure 2B) or the number of dendrites and dendritic morphology in doublecortin-positive cells (Figures 2C–2F, 2H, and 2I). A similar lack of effect on cell survival has been observed after chronic mild stress in rats (Heine et al., 2004; Airan et al., 2007). Furthermore, as we previously described, chronic fluoxetine increased the number of doublecortin-positive cells with tertiary dendrites and the maturation index in control animals (Figures 2H and 2I) (Wang et al., 2008). However, the effect of fluoxetine is more pronounced in the presence of corticosterone when assessing survival (Figure 2B, two-way ANOVA with significant effect of treatment factor, $*p < 0.05$) as well as when counting the number of doublecortin-positive cells and assessing their dendritic morphology [Figure 2G; significant effect of treatment factor [$**p < 0.01$]; Figure 2H; two-way ANOVA with significant effect of treatment factor [$**p < 0.01$]]. These results indicate that antidepressants stimulate all stages of adult neurogenesis in an animal model of an anxiety/depression-like phenotype.

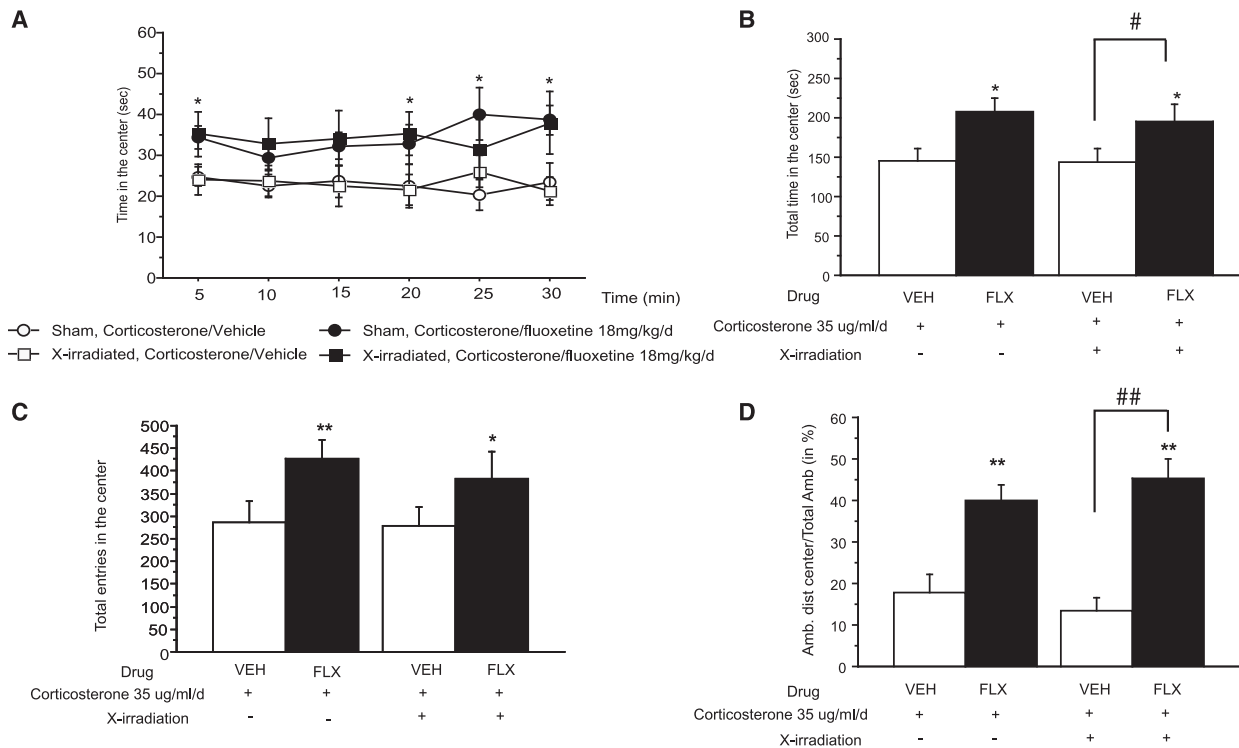
(B) BrdU was given twice a day for 3 days prior to drug treatment to examine the effects of 7 weeks of corticosterone \pm fluoxetine during the last 3 weeks. Data are the mean \pm SEM of the BrdU-positive cells from 5–6 animals per treatment group. $*p < 0.05$, $\#p < 0.05$, versus vehicle group and corticosterone/vehicle group, respectively.

(C–F) Images of doublecortin staining following corticosterone for 7 weeks \pm chronic fluoxetine treatment for the last 3 weeks. 10 \times magnification and 20 \times for the inset. Left panels (C and E) are vehicle and right panels (D and F) are fluoxetine-treated groups.

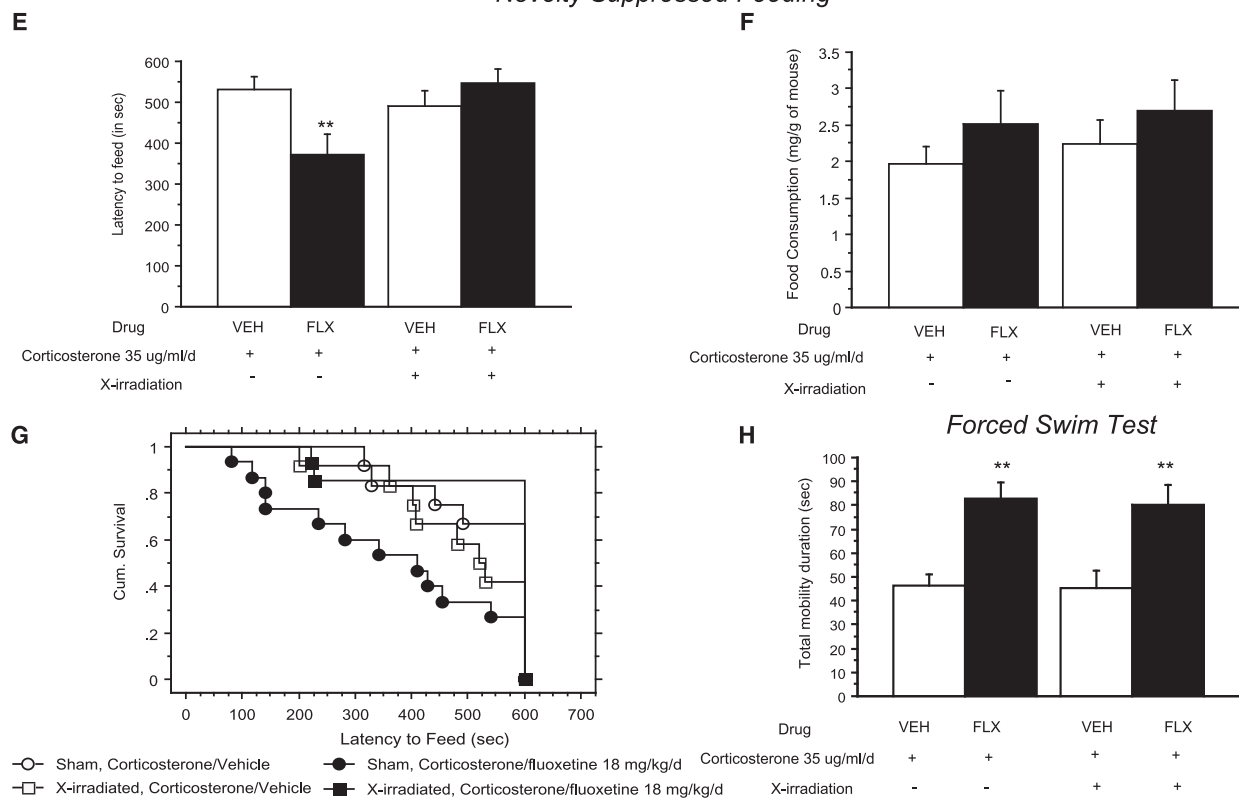
(G) Effects of fluoxetine treatment on total number of doublecortin-positive cells (mean \pm SEM; $n = 4$ per group) were measured after 7 weeks of corticosterone. $**p < 0.01$, $\#p < 0.05$, $\$p < 0.05$, versus vehicle group, corticosterone/vehicle group, and fluoxetine group, respectively.

(H and I) Doublecortin-positive cells were categorized as to whether they exhibited tertiary dendrites. Effects of fluoxetine treatment on the doublecortin-positive cells with tertiary dendrites (H) and maturation (I) of newborn granule cells were measured after 7 weeks of corticosterone. Values are mean \pm SEM ($n = 5$ per group). $**p < 0.01$, $##p < 0.01$, $\$p < 0.05$, versus vehicle group, corticosterone/vehicle group, and fluoxetine/vehicle group, respectively.

Open Field



Novelty Suppressed Feeding



Forced Swim Test

The Behavioral Effects of Fluoxetine in the Chronic Corticosterone Model Are Mediated by Both Neurogenesis-Dependent and Neurogenesis-Independent Mechanisms

To assess whether adult neurogenesis is required for the antidepressant-mediated reversal of chronic corticosterone treatment in several behavioral tasks, we next submitted animals to focal hippocampal X-irradiation prior to a chronic corticosterone regimen alone or in combination with fluoxetine (see timeline, Figure S1).

In the OF paradigm, the complete loss of hippocampal neurogenesis did not impact the anxiety/depression-like effects of chronic corticosterone. Moreover, the efficacy of fluoxetine was not modified in irradiated mice for all the OF parameters tested (Figures 3A–3D). Thus, the total decrease in the time spent in the center (sham: 144.7 ± 16.2 s; X-ray: 143.2 ± 18.4 s in corticosterone-treated animals), the total number of entries (sham: 285 ± 45.1 ; X-ray: 275.2 ± 40.1 in corticosterone-treated animals), and the ratio of center/total distance traveled (sham: $17.9\% \pm 4.4\%$; X-ray: $13.2\% \pm 3.2\%$ in corticosterone-treated animals) for all sessions after 7 weeks of corticosterone treatment were reversed by chronic fluoxetine treatment regardless of whether the mice were exposed to X-irradiation (Figures 3A–3D; two-way ANOVA with significant treatment factor [$p < 0.05$]).

In contrast, the effects of fluoxetine to reverse the anxiety/depressive-like state induced by chronic corticosterone in the NSF paradigm was completely abolished with hippocampal irradiation (from 371.3 ± 50.29 s in sham corticosterone/fluoxetine group to 546.2 ± 36.5 s in irradiated corticosterone/fluoxetine group) (Figures 3E and 3G; two-way ANOVA with significant interaction between irradiation and treatment [$p < 0.01$]), suggesting a dependence on adult hippocampal neurogenesis. Home cage food consumption was not affected by fluoxetine or irradiation (Figure 3F). In the mouse FST, the fluoxetine-induced decrease in immobility duration in corticosterone-treated animals was not affected by focal irradiation (Figure 3H).

Taken together, these results demonstrate that hippocampal neurogenesis is required for the behavioral activity of fluoxetine in the NSF test but not in the OF and FST, suggesting distinct underlying mechanisms. Interestingly, this report indicates that fluoxetine mediates its effects through distinct neurogenesis-dependent and -independent mechanisms. A recent report has suggested that antidepressants utilize both mechanisms, but fluoxetine was suggested to be neurogenesis dependent while distinct compounds that are V1B and corticotropin-releasing

factor type 1 (CRF1) antagonists were suggested to be neurogenesis-independent (Surget et al., 2008).

Chronic Fluoxetine Treatment Restored Normal Levels of β -arrestin 1 and 2 and *Gi2* mRNA in the Hypothalamus, but Not in the Amygdala and the Hippocampus, of Corticosterone-Treated Animals

We next wanted to further explore the distinct neurogenesis-dependent and -independent mechanisms responsible for the anxiolytic/antidepressant-like activity of fluoxetine. To this end, we used a candidate-based approach to assess whether there were changes in the expression of genes previously linked to mood disorders (Avisar et al., 2004; Schreiber and Avisar, 2007; Perlis et al., 2007; de Kloet et al., 2005) in different brain regions. Among a panel of more than 20 genes involved in mood disorders, we only found 3 that were changed in our corticosterone model.

Long-term exposure to corticosterone (35 ug/ml/day) significantly decreased β -arrestin 1 expression in the hypothalamus and there was a similar trend in the amygdala (Figures 4A and 4D), but exposure did not affect expression in the hippocampus (Figure 4G) (one-way ANOVA for gene expression in the hypothalamus [$p < 0.01$]). Expression of *Gi2* is also significantly decreased with chronic corticosterone treatment in the hypothalamus and the amygdala (Figures 4C and 4F) (one-way ANOVA for gene expression in the hypothalamus and the amygdala [$p < 0.01$]). Interestingly, the decrease of β -arrestin 1 (Figure 4A) and *Gi2* (Figure 4C) gene expression after 7 weeks of corticosterone treatment was totally reversed by chronic fluoxetine treatment in the hypothalamus, but not in the amygdala and the hippocampus (Figures 4D, 4F, 4G, and 4I) (one-way ANOVA for gene expression in the hypothalamus [$p < 0.01$]). We also found that with β -arrestin 2 expression, a trend of decreased expression (-16%) was reversed with fluoxetine treatment in the hypothalamus, but not in the amygdala (Figures 4B, 4E, and 4H) (corticosterone/vehicle group versus corticosterone/fluoxetine group in the hypothalamus [$p < 0.05$]). Interestingly, in the hippocampus, fluoxetine had an opposite effect on β -arrestin 2 levels (Figure 4H).

From these three genes, we were particularly interested in β -arrestin 2 because the gene expression profile was affected differentially in the hippocampus and hypothalamus, which may indicate an involvement in neurogenesis-dependent and -independent effects of fluoxetine. Interestingly, β -arrestin 2 has been implicated in pathways associated with responsiveness to the mood stabilizer lithium (Beaulieu et al., 2008). There is also

Figure 3. Neurogenesis-Dependent and -Independent Effects of Chronic Fluoxetine on Corticosterone-Induced Behavioral Changes

(A–D) The effects of fluoxetine (FLX, 18 mg/kg/day) treatment after focal X-irradiation of the mouse hippocampus on corticosterone (35 ug/ml/day)-induced anxiety-like behaviors in the Open Field test. Anxiety is expressed as mean total time spent in seconds for each 5 min period (A) and for the entire session (B), and also as the mean total of the number of entries (C). Locomotor activity is reported as percentage ambulatory distance in the center over total ambulatory distance traveled (D). Values are mean \pm SEM ($n = 10$ – 12 per group). $*p < 0.05$, $**p < 0.01$, $\#p < 0.05$, versus control group and corticosterone/vehicle group, respectively.

(E–G) Effects of fluoxetine treatment after focal X-irradiation on corticosterone-induced anxiety- and depression-related behaviors in the Novelty Suppressed Feeding paradigm. Results are mean of latency to feed in seconds (E) or cumulative survival of animals that have not eaten over 10 min (G). Feeding drive was assessed by returning the animals to their home cages and measuring food consumed over a period of 5 min (mg/g of mouse) (F). Values are mean \pm SEM ($n = 10$ – 12 per group). $**p < 0.01$ versus sham corticosterone/vehicle group.

(H) Effects of 3 weeks of fluoxetine treatment in 7 weeks corticosterone-treated animals after X-irradiation on behavior in the Forced Swim Test. Results are mean of mobility duration in seconds. Values are mean \pm SEM ($n = 10$ – 12 per group). $**p < 0.01$ versus control group.

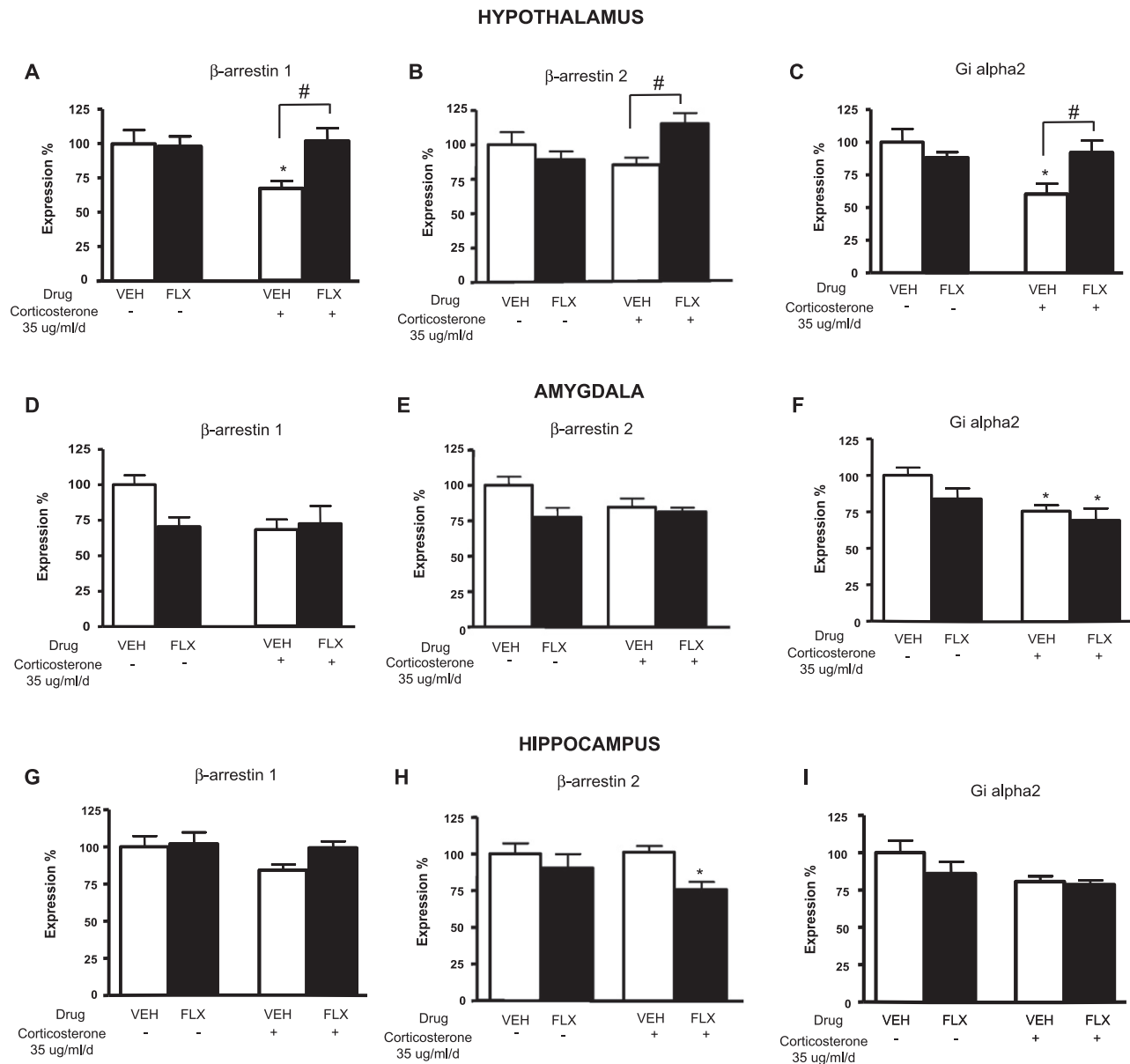


Figure 4. Effects of Chronic Fluoxetine Treatment on Corticosterone-Induced Changes in β -arrestin 1, β -arrestin 2, and $G\alpha 2$ Gene Expression in Mouse Hypothalamus, Amygdala, and Hippocampus

(A–C) Effects of fluoxetine (FLX, 18 mg/kg/day) treatment in corticosterone (35 ug/ml/day)-treated animals on the mean β -arrestin 1, β -arrestin 2, and $G\alpha 2$ gene expression (in percent normalized to cyclophilin and GAPDH gene expression) \pm SEM ($n = 10$ – 12 per group) in the mouse hypothalamus. * $p < 0.05$, # $p < 0.05$, versus control group and corticosterone/vehicle group, respectively.

(D–F) Same as above, performed for the mouse amygdala. * $p < 0.05$ versus control group.

(G–I) Same as above, performed for the mouse hippocampus. * $p < 0.05$ versus control group.

evidence in humans implicating β -arrestins in depression and in response to stress, and that these changes are reversible by antidepressant treatment (Dwivedi et al., 2002; Avissar et al., 2004).

β -arrestin 2 Is Necessary for the Anxiolytic/Antidepressant Effects of Chronic Fluoxetine

We next proceeded to investigate the contribution of β -arrestin 2 to the behavioral effects of a 3 week treatment with fluoxetine

(18 mg/kg/day). We started with the OF, where we found that β -arrestin-2-deficient mice (mixed background 129/Sv x C57BL/6J) in the control group display an anxious-like phenotype evidenced by a decrease in the amount of the time spent in the center (Figure 5A) as well as a decreased number of entries into the center relative to those of the untreated wild-type mice (data not shown). Similar to a previous report (Beaulieu et al., 2008), and like the corticosterone-treated C57BL/6Ntac mice,

we found a nonsignificant trend toward decreased ambulatory activity in the β -arrestin-2-deficient mice. We therefore checked the percent path in the center of the OF for these mice, and using this normalized data found that the β -arrestin 2 mice were indeed more anxious-like than their wild-type littermates (Figure S7F).

Chronic fluoxetine treatment had an effect on all anxiety parameters in wild-type animals, resulting in a trend toward increased time spent in the center (Figure 5A) and total number of entries in the center (data not shown). Interestingly, planned comparisons unveiled that this effect of fluoxetine treatment is abolished in β -arrestin 2 knockout mice (two-way ANOVA [$**p < 0.01$], Figure 5A, significant effects of pretreatment [$**p < 0.01$]). This absence of effects of fluoxetine in β -arrestin 2 knockout mice is also observed with the total number of entries in the center (data not shown) and the total ambulatory distance (Figure 5B, significant effect of pretreatment [$**p < 0.01$]). Therefore, similar to the chronic corticosterone model, β -arrestin 2 knockout mice display an anxiety phenotype in the OF. However, unlike the chronic corticosterone-treated mice, β -arrestin 2 knockout mice do not respond to fluoxetine treatment in the OF.

We next tested the β -arrestin-2-deficient mice in the Light-Dark test, a behavioral paradigm also associated with anxiety. Unlike in the OF, vehicle-treated β -arrestin 2 knockout mice did not display an anxious-like phenotype as assessed by entries in the light (Figure 5C). This is similar to a previous report, wherein the β -arrestin 2 knockout mice did not display a phenotype in latency to cross using this test (Beaulieu et al., 2008). However, we found a trend for fluoxetine to increase entries into the light from control mice that was absent in the β -arrestin 2 knockout mice. Planned comparisons unveiled that the two groups of mice were indeed responding differently to fluoxetine (Figure 5C, two-way ANOVA, significant interaction pretreatment \times treatment [$p = 0.04$]). Importantly, there was no significant difference observed in ambulatory distance in the dark among any of the groups (Figure 5D, two-way ANOVA, no effect for pretreatment or treatment). These data further demonstrate a behavioral measure in which β -arrestin 2 knockout mice are not responsive to fluoxetine.

We next tested the effects of fluoxetine in β -arrestin 2 knockout mice using the NSF paradigm. Importantly, untreated β -arrestin 2 knockout mice display an anxious/depressive phenotype evidenced by an increased latency to feed relative to that of the untreated wild-type mice. Furthermore, while in wild-type mice fluoxetine significantly decreased the latency to feed in the novel environment, fluoxetine had no effect in mutant mice (Figures 5E and S7G: Kaplan-Meier survival analysis, Mantel-Cox log-rank test [$**p < 0.01$]). Food consumption in the home cage was not altered (Figure 5F; two-way ANOVA [$p > 0.4$]). Taken together, these data indicate that β -arrestin 2 is required for the behavioral effects of fluoxetine in the OF, Light-Dark, and NSF tests.

To further understand the effects of fluoxetine in β -arrestin 2 knockout mice, we assessed behavior in the FST. Interestingly, we found that β -arrestin 2 knockout mice treated with fluoxetine behaved similarly to wild-type mice in that they displayed an increase in mobility relative to the control group. Therefore, in contrast to the OF, Light/Dark, and NSF results, β -arrestin 2 is not necessary for the behavioral effects of chronic fluoxetine in

the mouse FST (two-way ANOVA, Figure 5G, significant effects of treatment [$**p < 0.01$]).

Finally, we tested whether fluoxetine was effective in β -arrestin 2 knockout mice using the sucrose splash test of grooming. While fluoxetine significantly increased grooming in control littermates, β -arrestin 2 knockout mice did not respond (Figure 5H).

Gene Expression Profiles in β -arrestin-2-Deficient Mice Indicate a Lack of Response to Fluoxetine

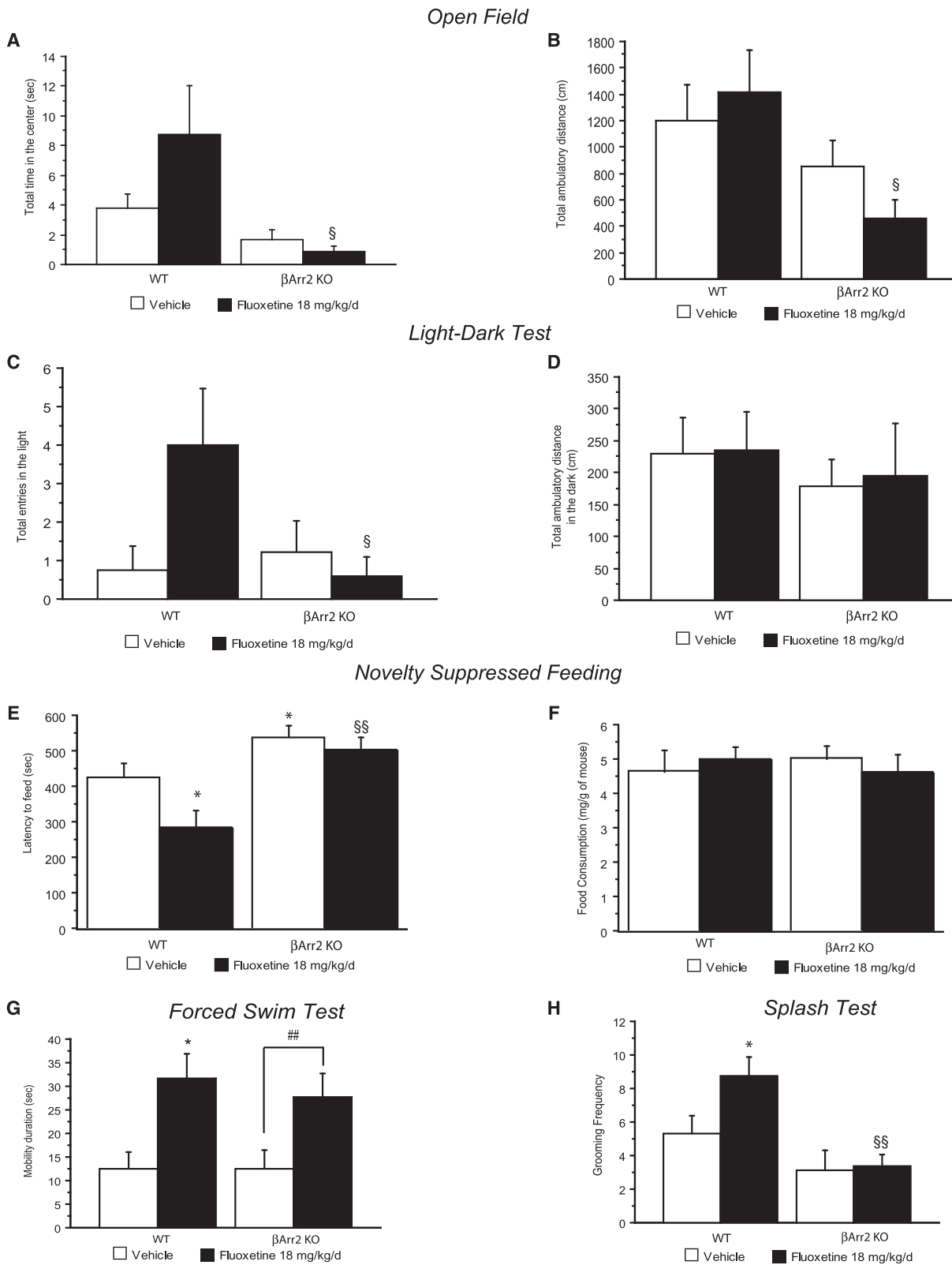
We next assessed gene expression profiles in β -arrestin 2 knockout mice and wild-type littermates treated with vehicle or fluoxetine. We did not detect significant differences in β -arrestin 1 levels, suggesting that there is not compensation among the arrestin proteins in the areas that we studied (hypothalamus, amygdala, hippocampus) (Figures S8A, S8F, and S8K). Interestingly, we did find that fluoxetine increased CREB1 levels in the hippocampus in wild-type mice, but not in β -arrestin 2 knockouts (Figure S8M). Likewise, fluoxetine increased Erk-1 levels in the hypothalamus of wild-type mice, but not β -arrestin 2 knockouts (Figure S8E). Taken together, these data suggest a differential response to fluoxetine in the β -arrestin-2-deficient mice.

DISCUSSION

Our data indicate that the behavioral activity of antidepressants such as fluoxetine requires both neurogenesis-dependent and -independent mechanisms. We also provide evidence that some of the effects of fluoxetine are mediated by a β -arrestin signaling pathway.

Elevation of Glucocorticoids Levels Induces an Anxiety/Depressive-like State in Mice that Is Reversed by Chronic Antidepressants

Enhanced activity of the HPA axis involving elevated glucocorticoid levels is considered a key neurobiological alteration in major depression (for review, see Antonijevic, 2006). In depressed patients, many studies have shown that successful antidepressant therapies are associated with normalization of impairments in the HPA axis negative feedback (Greden et al., 1983; Linkowski et al., 1987; Heuser et al., 1996; Holsboer-Trachsler et al., 1991). This elevation of glucocorticoid levels in human has been modeled in rodent to reproduce an anxiety and depressive-like state (Ardayfio and Kim, 2006; Murray et al., 2008; Zhao et al., 2008; Gourley et al., 2008). Our model of elevated glucocorticoids was able to blunt the response of the HPA axis as shown by the markedly attenuated stress-induced corticosterone levels observed in these mice (Figure S3E). This is probably a consequence of the negative feedback exerted by corticosterone on the HPA axis. Consistent with previous findings, our results demonstrate that an elevation of glucocorticoid levels is sufficient to induce anxiety in C57BL/6Ntac and CD1 mice as measured by the decrease in center measures in the OF paradigm as well as the increase in latency to feed in the NSF (Figures 1, S2, and S5). A depressive-like state in the C57BL/6J corticosterone-treated animals was also observed as measured by a deterioration of the coat state, a decreased grooming behavior, and a flattened circadian rhythm with reduction in home cage activity (Figures 1 and S4). These symptoms are similar to those elicited



by chronic stress (Surget et al., 2008). Similarly, a subset of depressed patients with elevated cortisol display anhedonia, cognitive dysfunctions/distortions, and personal neglect (Morgan et al., 2005). Therefore, chronic corticosterone treatment appears to model an anxious and depressed-like state in mice.

When using the C57BL/6Ntac mice, in marked contrast to the OF and NSF, the FST was the only behavioral model in which antidepressants exerted effects in untreated non-anxious/depressed mice. The absence of antidepressant effect in both the NSF and OF suggests that different neurobiological mechanisms are recruited by antidepressants when animals are examined in pathological conditions rather than standard home cage conditions. Therefore, when pretreated with corticosterone, mice that are normally nonresponsive to fluoxetine are rendered responsive. Interestingly, when a more anxious strain is used, such as the 129SvEv mice, it is possible to detect effects of chronic antidepressants in standard home cage conditions (Santarelli et al., 2003). This is also evident in the β -arrestin 2 mice, which are on a mixed background of C57BL/6J \times 129SvEv and are responsive to fluoxetine in standard home cage conditions (Figure 5).

Importantly, we found high levels of mobility during the first 2 min of the FST in all groups. Therefore, we only assessed the last 4 min of the 6 min test for our analysis. It is believed that this is the critical time to detect potential effects of antidepressants (Porsolt et al., 1977).

It is also noteworthy that neither fluoxetine nor imipramine restored normal levels of corticosterone after an acute stressor, which suggests that their mechanism of action may be independent of the HPA axis.

Enhanced Effects of Fluoxetine Treatment on Neurogenesis in Corticosterone-Treated Mice

Glucocorticoids and antidepressants have been shown to modulate adult neurogenesis in opposite directions, and hippocampal neurogenesis is required for some of the effects of antidepressants (Gould et al., 1992; McEwen, 1999; Duman et al., 2000; Malberg et al., 2000; McEwen and Magarinos, 2001; Santarelli et al., 2003; Airan et al., 2007; Surget et al., 2008; Murray et al., 2008; Conrad et al., 2007). Since we previously demonstrated that antidepressants increase all stages of neurogenesis, including proliferation, maturation, and survival in normal mice, we sought to understand the effects of fluoxetine on neurogenesis in mice that were in an anxious and depressed-like state.

In agreement with previous findings (Murray et al., 2008), a reduction in the proliferation of progenitor cells after chronic corticosterone treatment was observed (Figure 2), demonstrating a role for glucocorticoids in the regulation of the proliferation stage of the neurogenic process. Indeed, it had been reported that ablation of the adrenal glands abolishes stress-induced decreases in cell proliferation (Tanapat et al., 2001). Interestingly, the effects of corticosterone on neurogenesis are limited to the proliferation stage and not the survival or maturation of newborn neurons. Similar results were observed in rat (Heine et al., 2004), and it has been proposed that a decrease in apoptosis counteracts the reduction in neurogenesis elicited by stress and explains the absence of change in number of newborn neurons after chronic stress.

Surprisingly, chronic fluoxetine treatment did not affect hippocampal cell proliferation in non-corticosterone-treated C57BL/6Ntac mice. Strain differences in hippocampal adult proliferation have been reported (Schauwecker, 2006; Navailles et al., 2008) and C57BL/6 strain exhibits one of the highest numbers of proliferating cells within the subgranular zone, as compared to those of other strains of mice.

Interestingly, the effects of fluoxetine on all stages of neurogenesis (proliferation, differentiation, and survival) were more pronounced in corticosterone-treated mice than in controls. It is possible that our model of corticosterone-induced stress may increase the dynamic range in which fluoxetine exerts effects on different stages of neurogenesis. These enhanced effects may be due to changes in the serotonin system elicited by chronic stress. In fact we and others have shown that chronic stress results in a desensitization of 5-HT_{1A} autoreceptors (Hensler et al., 2007; data not shown), which is likely to result in an increase in serotonin release and therefore, possibly, a stronger effect of fluoxetine. There is also an interesting parallel between these enhanced effects of fluoxetine on neurogenesis and the fact that fluoxetine is more active behaviorally in the corticosterone-treated mice.

Neurogenesis-Dependent and -Independent Mechanisms

We had shown earlier that some of the effects of antidepressants in the NSF test require hippocampal neurogenesis (Santarelli et al., 2003). Therefore, we hypothesized that the effect of fluoxetine on the anxiogenic/depressive-like state in corticosterone-treated mice may also require neurogenesis. Indeed, in the

Figure 5. The Role of β -arrestin 2 in Mediating the Behavioral Effects of Chronic Fluoxetine

(A and B) Effects of 4 weeks of fluoxetine treatment (18 mg/kg/day) in β -arrestin 2 knockout mice (β Arr2 KO) and littermates on anxiety behaviors in the Open Field. Anxiety is expressed as mean time in the center (A). Locomotor activity is reported as ambulatory distance traveled for the entire session (B). Values are mean \pm SEM (n = 15–18 per group). $\S p < 0.05$ versus fluoxetine-treated wild-type mice.

(C and D) Effects of chronic fluoxetine in β -arrestin 2 knockout mice and littermates in the Light-Dark paradigm. Results are mean total entries into the light (C). Locomotor activity is reported as ambulatory distance traveled in the dark (D). Values plotted are mean \pm SEM (n = 9–10 per group). $\S p < 0.05$ versus fluoxetine-treated wild-type mice.

(E and F) Effects of chronic fluoxetine in β -arrestin 2 knockout mice and littermates in Novelty Suppressed Feeding. Results are mean of latency to feed in seconds (E). Feeding drive was assessed by returning the animals to their home cages after the test and measuring food consumed over 5 min (mg/g of mouse) (F). Values are mean \pm SEM (n = 15–18 per group). $*p < 0.05$ versus control group and fluoxetine-treated wild-type mice, respectively.

(G) Effects of chronic fluoxetine in β -arrestin 2 knockout mice and littermates in the Forced Swim Test. Results are mean of mobility duration in seconds. Values are mean \pm SEM (n = 15–18 per group). $*p < 0.05$, $\#p < 0.05$, versus vehicle wild-type or β -arrestin 2 knockout animals, respectively.

(H) Effects of chronic fluoxetine in the splash test. Results are mean frequency of grooming after receiving a squirt of 10% sucrose solution on the snout. Values are mean \pm SEM (n = 9–10 per group). $*p < 0.05$, $\S\S p < 0.01$, versus vehicle wild-type group or fluoxetine-treated wild-type, respectively.

Table 1. Behavioral Effects of a Chronic Fluoxetine Treatment in the Chronic Corticosterone Paradigm and in the β -arrestin 2 KO Mice

| | | Open Field | Light-Dark | Elevated Plus Maze | Novelty Suppressed Feeding | Splash Test | Forced Swim Test | Tail Suspension Test |
|---------------------------------|---------------------------------|--------------------|------------------------|--------------------|----------------------------|--------------------|-------------------|----------------------|
| | | time in the center | entries into the light | time in open arms | latency to feed | grooming frequency | mobility duration | mobility duration |
| Chronic corticosterone paradigm | vehicle ^a | ↓ | not tested | not tested | ↑ | ↓ | 0 | not tested |
| | chronic fluoxetine ^b | ↑ | not tested | ↑ | ↓ | ↑ | ↑ | ↑ |
| β -arrestin 2 KO mice | vehicle ^c | ↓ | 0 | not tested | ↑ | 0 | 0 | ↑ |
| | chronic fluoxetine ^d | 0 | 0 | not tested | 0 | 0 | ↑ | 0 |

Summary of effects seen in multiple behavioral tests throughout the study. ↓, decrease parameter; ↑, increase parameter; 0, no effect.

^aVersus vehicle-treated group.

^bVersus chronic corticosterone-treated group.

^cVersus vehicle-treated wild-type littermate.

^dVersus vehicle-treated β -arrestin KO mice.

corticosterone model, the effects of fluoxetine in the NSF test were blocked by X-irradiation. However, in the same animals, in the OF and the FST, ablation of hippocampal neurogenesis did not modify the anxiolytic/antidepressant-like activity of fluoxetine (Figure 4). These behavioral effects are therefore likely to recruit different pathways. To our knowledge, this is the first study, using a model of anxiety/depression in mice, showing that both neurogenesis-dependent and -independent mechanisms are necessary for the effects of fluoxetine. Overall, these studies suggest that hippocampal neurogenesis plays an important role in the behavioral effects of fluoxetine. However, there is accumulating evidence that other brain regions including amygdala, nucleus accumbens, or cingulate cortex are also involved in antidepressant-like activity. It is also possible that adult neurogenesis outside of the hippocampus may play a role in the effects of fluoxetine (Kokoeva et al., 2005, 2007).

To explore the mechanism underlying the neurogenesis-independent effects of fluoxetine, we analyzed gene expression profiles in the hypothalamus, amygdala, and hippocampus, three brain structures involved in the stress response (Nemeroff and Owens, 2004; McEwen, 2004; Mayberg et al., 2005; Joels, 2008). We explored the variations in mRNA levels encoding candidate genes selected for their implication in mood disorders, including G protein-coupled receptors (GPCR), transcription factors, and genes involved in the stress response (Koch et al., 2002; Calfa et al., 2003; Avissar et al., 2004; de Kloet et al., 2005; Matuzany-Ruban et al., 2005; Schreiber and Avissar, 2007; Perlis et al., 2007; Holsboer, 2008). Among these genes, only three displayed a change in mRNA levels in the chronic corticosterone group that was reversed by fluoxetine treatment. Furthermore, this bidirectional change was only observed in the hypothalamus. Interestingly, all three genes are involved in GPCR signaling (β -arrestin 1 and 2 and *Gir2*; Figures 4 and S6). The present data are consistent with previous findings in animal and human studies showing decreases in β -arrestin 1 and 2 or *Gir2* in depression or after stress, and reversal of these changes by various antidepressant treatments (Dwivedi et al., 2002; Avissar et al., 2004). Interestingly, CRF1 receptor, a potential target for the treatment

of depression/anxiety and other stress-related disorders, has been shown to recruit β -arrestin 2 (Oakley et al., 2007). Moreover, Beaulieu et al. (2008) have recently shown that lithium, a drug used in the management of mood disorders, exerts some of its biochemical and behavioral effects via a β -arrestin signaling complex.

β -arrestin 2 Is Required for Both Neurogenesis-Dependent and -Independent Effects of Fluoxetine

Interestingly, the effects of chronic corticosterone on behavior were similar to those of the β -arrestin 2 ablation (Figure 5, Figures S7E–S7H). Given that chronic corticosterone treatment decreases β -arrestin levels (particularly in the hypothalamus), it is possible that β -arrestin 2 (Figure 5), at least in part, is responsible for mediating the effects of corticosterone on behavior. Furthermore, β -arrestin 2 knockout mice displayed a reduced response to fluoxetine in the OF and NSF paradigms. This suggests that β -arrestin 2 modulates the behavioral response to fluoxetine in both neurogenesis-independent and -dependent tasks.

To further understand how β -arrestin 2 may regulate multiple effects of chronic corticosterone and fluoxetine treatments on behavior, future work will require the usage of tissue-specific knockouts. Classical β -arrestin functions include desensitization of GPCRs (Gainetdinov et al., 2004), so it is possible that β -arrestin 2 may be important for desensitization of 5-HT_{1A} receptors in the Raphe Nucleus, a process that has been hypothesized as necessary for the effects of fluoxetine (Artigas et al., 1996). However, our preliminary results suggest that 5-HT_{1A} autoreceptor desensitization in response to chronic fluoxetine is normal in β -arrestin 2 knockout mice. Alternatively, other cell signaling functions of β -arrestins have also been uncovered (Pierce and Lefkowitz, 2001; Beaulieu et al., 2005, 2008; Lefkowitz et al., 2006), and some of lithium's behavioral effects appear to be mediated by a β -arrestin 2/Akt/Gsk3 β signaling pathway.

When compared to corticosterone-treated mice, the β -arrestin-2-deficient mice display many similar phenotypes (Table 1). However, while the corticosterone-treated mice

respond to fluoxetine, in most behavioral readouts the β -arrestin-2-deficient mice do not, suggesting that β -arrestin 2 may be an essential mediator of the fluoxetine-induced reversal of an anxious/depressed state.

Conclusion

We have developed an anxiety/depression-like model based on elevation of glucocorticoid levels that offers an easy and reliable alternative to existing models such as the various chronic stress paradigms. It is also a model that allows the simultaneous study of multiple effects of antidepressant treatment in the same animal, some of which are neurogenesis-dependent while others are not.

The big unanswered question is which of these behavioral, cellular, and molecular readouts are most relevant to antidepressant action in human. In other words, would a compound that produces just neurogenesis-dependent effects or just some of the neurogenesis-independent effects reported here be as effective as SSRIs or tricyclics? To begin to answer this question, we are currently testing in this paradigm a series of compounds that may stimulate neurogenesis more directly than SSRIs, such as agomelatine, or compounds that target more directly the HPA axis, such as CRF1 antagonists. Ultimately, the success of these new compounds in the clinic will inform us about the predictive value of the biomarkers that we have identified in this report.

EXPERIMENTAL PROCEDURES

Additional experimental procedures are available online in [Supplemental Data](#).

Subjects

Adult male C57BL/6Ntac mice were purchased from Taconic Farms (German town, NY, USA; Lille Skensved, Denmark). Male heterozygous β -arrestin 2^{+/-} and heterozygous female mutant β -arrestin 2^{+/-} mice (age 4–6 months, 25–30 g body weight) were bred on a mixed S129/Sv x C57BL/6 genetic background at Columbia University (New York, NY). Resulting pups were genotyped by polymerase chain reaction (Beaulieu et al., 2008). All corticosterone-treated mice were 7–8 weeks old and weighed 23–35 g at the beginning of the treatment, were maintained on a 12L:12D schedule, and were housed five per cage. β -arrestin 2 mice began receiving fluoxetine at 3 months. Food and water were provided ad libitum. Behavioral testing occurred during the light phase for the OF, NSF, FST, and splash test. All testing was conducted in compliance with the NIH laboratory animal care guidelines and with protocols approved by the Institutional Animal Care and Use Committee (Council directive # 87-848, October 19, 1987, Ministère de l'Agriculture et de la Forêt, Service Vétérinaire de la Santé et de la Protection Animale, permissions # 92-256 to D.J.D.).

Drugs

Corticosterone (from Sigma, St. Louis, MO) was dissolved in vehicle (0.45%, Sigma, St. Louis, MO). Imipramine hydrochloride (40 mg/kg per day) and fluoxetine hydrochloride (18 mg/kg per day) were purchased from Sigma (St. Louis, MO, USA) and Anawa Trading (Zurich, Switzerland), respectively. Reboxetine hydrochloride (Lundbeck Inc.) (20 mg/kg per day) was also used for behavior testing. Corticosterone (7 μ g/ml or 35 μ g/ml, equivalent to 1 and 5 mg/kg/day) was delivered alone or in presence of antidepressant in opaque bottles to protect it from light, available ad libitum in the drinking water. Corticosterone treatment did not modify levels of antidepressant in the brain (data not shown). Control mice received β -CD. For β -arrestin-2 mice, fluoxetine was delivered by a standard gavage protocol (18 mg/kg/day).

Behavioral Testing Open Field

This test was performed as described previously (Dulawa et al., 2004). Briefly, motor activity was quantified in four Plexiglas open field boxes 43 x 43 cm²

(MED Associates, Georgia, VT). Two sets of 16 pulse-modulated infrared photobeams on opposite walls 2.5 cm apart recorded x-y ambulatory movements. Activity chambers were computer interfaced for data sampling at 100 ms resolution. The computer defined grid lines dividing center and surround regions, with the center square consisting of four lines 11 cm from the wall.

Novelty Suppressed Feeding

NSF is a conflict test that elicits competing motivations: the drive to eat and the fear of venturing into the center of the brightly lit arena. The NSF test was carried out during a 10 min period as previously described (Santarelli et al., 2003; David et al., 2007). For more detail please see [Supplemental Data](#).

Forced Swim Test

A modified FST procedure consisting of an increase in water depth was used to enhance sensitivity for detecting putative antidepressant activity of drugs (Porsolt et al., 1977; Dulawa et al., 2004). Mice were placed into plastic buckets (19 cm diameter, 23 cm deep, filled with 23°C–25°C water) and videotaped for the entire session. As described previously by Porsolt et al. (1977), only the last 4 min were scored for mobility duration.

Data Analysis and Statistics

Results from data analyses were expressed as mean \pm SEM. Data were analyzed using StatView 5.0 software (SAS Institute, Cary, NC). For all experiments, one-way, two-way, or three-way ANOVAs with repeated-measure were applied to the data as appropriate. Significant main effects and/or interactions were followed by Fisher's PLSD post hoc analysis, unpaired t tests, or Newman-Keuls as appropriate. In the NSF test, we used the Kaplan-Meier survival analysis due to the lack of normal distribution of the data. Animals that did not eat during the 10 min testing period were censored. Mantel-Cox log-rank test was used to evaluate differences between experimental groups.

SUPPLEMENTAL DATA

The supplemental data for this article include supplemental experimental procedures, four tables, and eight figures and can be found at [http://www.neuron.org/supplemental/S0896-6273\(09\)00298-0](http://www.neuron.org/supplemental/S0896-6273(09)00298-0).

ACKNOWLEDGMENTS

This work has been supported by the technical assistance of the Animal care facility of the Institut Fédératif de recherche-IFR141 of the Paris XI University and Columbia University. We thank Marc Caron for helpful discussions and, with Bob Lefkowitz, providing β -arrestin 2 mice. This work was supported by NARSAD (R.H.), NIMH Grant R01 MH068542 (R.H.), NICHD Training Grant 5-T32HD55165-02 (B.A.S.), Columbia Lundbeck Translational Fellowship (B.A.S.), Ministère de l'Éducation Nationale, de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche (MENESR, Paris, France) Fellowship (Q.R.), NIMH Grant 1K99MH083943-01 (M.D.), NIMH Grant 5K08MH076083 (E.D.L.), Lundbeck Research USA, and AstraZeneca.

Dr. R.H. receives compensation as a consultant for BrainCells, Inc., Psychogenics, Inc., and AstraZeneca in relation to the generation of novel antidepressants. D.M., D.A.C., R.P.A., C.G., and I.A.A. were all fulltime employees at Lundbeck Research USA while gathering data that are used in the present manuscript.

Accepted: April 15, 2009

Published: May 27, 2009

REFERENCES

- Airan, R.D., Meltzer, L.A., Roy, M., Gong, Y., Chen, H., and Deisseroth, K. (2007). High-speed imaging reveals neurophysiological links to behavior in an animal model of depression. *Science* 317, 819–823.
- Antonićević, I.A. (2006). Depressive disorders - is it time to endorse different pathophysiological? *Psychoneuroendocrinology* 31, 1–15.
- Ardayio, P., and Kim, K.S. (2006). Anxiogenic-like effect of chronic corticosterone in the light-dark emergence task in mice. *Behav. Neurosci.* 120, 249–256.

- Artigas, F., Romero, L., de Montigny, C., and Blier, P. (1996). Acceleration of the effect of selected antidepressant drugs in major depression by 5-HT_{1A} antagonists. *Trends Neurosci.* 19, 378–383.
- Avissar, S., Matuzany-Ruban, A., Tzukert, K., and Schreiber, G. (2004). Beta-arrestin-1 levels: reduced in leukocytes of patients with depression and elevated by antidepressants in rat brain. *Am. J. Psychiatry* 161, 2066–2072.
- Beaulieu, J.M., Sotnikova, T.D., Marion, S., Lefkowitz, R.J., Gainetdinov, R.R., and Caron, M.G. (2005). An Akt/beta-arrestin 2/PP2A signaling complex mediates dopaminergic neurotransmission and behavior. *Cell* 122, 261–273.
- Beaulieu, J.M., Marion, S., Rodriguiz, R.M., Medvedev, I.O., Sotnikova, T.D., Ghisi, V., Wetsel, W.C., Lefkowitz, R.J., Gainetdinov, R.R., and Caron, M.G. (2008). A beta-arrestin 2 signaling complex mediates lithium action on behavior. *Cell* 132, 125–136.
- Calfa, G., Kademian, S., Ceschin, D., Vega, G., Rabinovich, G.A., and Volosin, M. (2003). Characterization and functional significance of glucocorticoid receptors in patients with major depression: modulation by antidepressant treatment. *Psychoneuroendocrinology* 28, 687–701.
- Conrad, C.D., McLaughlin, K.J., Harman, J.S., Foltz, C., Wiczorek, L., Lightner, E., and Wright, R.L. (2007). Chronic glucocorticoids increase hippocampal vulnerability to neurotoxicity under conditions that produce CA3 dendritic retraction but fail to impair spatial recognition memory. *J. Neurosci.* 27, 8278–8285.
- David, D.J., Klemm, H.C., Holick, K.A., Saxe, M.D., Mendez, I., Santarelli, L., Craig, D.A., Zhong, H., Swanson, C.J., Hegde, L.G., et al. (2007). Efficacy of the MCHR1 antagonist N-[3-(1-{4-(3,4-difluorophenoxy)phenyl}methyl)(4-piperidyl)-4-methylphenyl]-2-methylpropanamide (SNAP 94847) in mouse models of anxiety and depression following acute and chronic administration is independent of hippocampal neurogenesis. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 321, 237–248.
- de Kloet, E.R., Joels, M., and Holsboer, F. (2005). Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat. Rev. Neurosci.* 6, 463–475.
- Dulawa, S.C., Holick, K.A., Gundersen, B., and Hen, R. (2004). Effects of chronic fluoxetine in animal models of anxiety and depression. *Neuropsychopharmacology* 29, 1321–1330.
- Duman, R.S., Malberg, J., Nakagawa, S., and D'Sa, C. (2000). Neuronal plasticity and survival in mood disorders. *Biol. Psychiatry* 48, 732–739.
- Dwivedi, Y., Rizavi, H.S., Conley, R.R., Roberts, R.C., Tamminga, C.A., and Pandey, G.N. (2002). mRNA and protein expression of selective alpha subunits of G proteins are abnormal in prefrontal cortex of suicide victims. *Neuropsychopharmacology* 27, 499–517.
- Gainetdinov, R.R., Premont, R.T., Bohn, L.M., Lefkowitz, R.J., and Caron, M.G. (2004). Desensitization of G protein-coupled receptors and neuronal functions. *Annu. Rev. Neurosci.* 27, 107–144.
- Gould, E., Cameron, H.A., Daniels, D.C., Woolley, C.S., and McEwen, B.S. (1992). Adrenal hormones suppress cell division in the adult rat dentate gyrus. *J. Neurosci.* 12, 3642–3650.
- Gould, E., Tanapat, P., McEwen, B.S., Flugge, G., and Fuchs, E. (1998). Proliferation of granule cell precursors in the dentate gyrus of adult monkeys is diminished by stress. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 3168–3171.
- Gourley, S.L., Wu, F.J., Kiraly, D.D., Ploski, J.E., Kedves, A.T., Duman, R.S., and Taylor, J.R. (2008). Regionally specific regulation of ERK MAP kinase in a model of antidepressant-sensitive chronic depression. *Biol. Psychiatry* 63, 353–359.
- Greden, J.F., Gardner, R., King, D., Grunhaus, L., Carroll, B.J., and Kronfol, Z. (1983). Dexamethasone suppression tests in antidepressant treatment of melancholia. The process of normalization and test-retest reproducibility. *Arch. Gen. Psychiatry* 40, 493–500.
- Griebel, G., Simiand, J., Serradeil-Le Gal, C., Wagnon, J., Pascal, M., Scatton, B., Maffrand, J.P., and Soubrie, P. (2002). Anxiolytic- and antidepressant-like effects of the non-peptide vasopressin V_{1b} receptor antagonist, SSR149415, suggest an innovative approach for the treatment of stress-related disorders. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 99, 6370–6375.
- Grippio, A.J., Sullivan, N.R., Damjanoska, K.J., Crane, J.W., Carrasco, G.A., Shi, J., Chen, Z., Garcia, F., Muma, N.A., and Van de Kar, L.D. (2005). Chronic mild stress induces behavioral and physiological changes, and may alter serotonin 1A receptor function, in male and cycling female rats. *Psychopharmacology (Berl.)* 179, 769–780.
- Heine, V.M., Maslam, S., Joels, M., and Lucassen, P.J. (2004). Prominent decline of newborn cell proliferation, differentiation, and apoptosis in the aging dentate gyrus, in absence of an age-related hypothalamus-pituitary-adrenal axis activation. *Neurobiol. Aging* 25, 361–375.
- Hensler, J.G., Advani, T., and Monteggia, L.M. (2007). Regulation of serotonin-1A receptor function in inducible brain-derived neurotrophic factor knockout mice after administration of corticosterone. *Biol. Psychiatry* 62, 521–529.
- Heuser, I.J., Schweiger, U., Gotthardt, U., Schmider, J., Lammers, C.H., Detting, M., Yassouridis, A., and Holsboer, F. (1996). Pituitary-adrenal-system regulation and psychopathology during amitriptyline treatment in elderly depressed patients and normal comparison subjects. *Am. J. Psychiatry* 153, 93–99.
- Holsboer, F. (2008). How can we realize the promise of personalized antidepressant medicines? *Nat. Rev. Neurosci.* 9, 638–646.
- Holsboer-Trachsler, E., Stohler, R., and Hatzinger, M. (1991). Repeated administration of the combined dexamethasone-human corticotropin releasing hormone stimulation test during treatment of depression. *Psychiatry Res.* 38, 163–171.
- Joels, M. (2008). Functional actions of corticosteroids in the hippocampus. *Eur. J. Pharmacol.* 583, 312–321.
- Koch, J.M., Kell, S., Hinze-Selch, D., and Aldenhoff, J.B. (2002). Changes in CREB-phosphorylation during recovery from major depression. *J. Psychiatr. Res.* 36, 369–375.
- Kokoeva, M.V., Yin, H., and Flier, J.S. (2005). Neurogenesis in the hypothalamus of adult mice: potential role in energy balance. *Science* 310, 679–683.
- Kokoeva, M.V., Yin, H., and Flier, J.S. (2007). Evidence for constitutive neural cell proliferation in the adult murine hypothalamus. *J. Comp. Neurol.* 505, 209–220.
- Lefkowitz, R.J., Rajagopal, K., and Whalen, E.J. (2006). New roles for beta-arrestins in cell signaling: not just for seven-transmembrane receptors. *Mol. Cell* 24, 643–652.
- Linkowski, P., Mendlewicz, J., Kerkhofs, M., Leclercq, R., Golstein, J., Brasseur, M., Copinschi, G., and Van Cauter, E. (1987). 24-hour profiles of adrenocorticotropin, cortisol, and growth hormone in major depressive illness: effect of antidepressant treatment. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 65, 141–152.
- Malberg, J.E., Eisch, A.J., Nestler, E.J., and Duman, R.S. (2000). Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J. Neurosci.* 20, 9104–9110.
- Matuzany-Ruban, A., Avissar, S., and Schreiber, G. (2005). Dynamics of beta-arrestin1 protein and mRNA levels elevation by antidepressants in mononuclear leukocytes of patients with depression. *J. Affect. Disord.* 88, 307–312.
- Mayberg, H.S., Lozano, A.M., Voon, V., McNeely, H.E., Seminowicz, D., Hamani, C., Schwab, J.M., and Kennedy, S.H. (2005). Deep brain stimulation for treatment-resistant depression. *Neuron* 45, 651–660.
- McEwen, B.S. (1999). Stress and hippocampal plasticity. *Annu. Rev. Neurosci.* 22, 105–122.
- McEwen, B.S. (2004). Protection and damage from acute and chronic stress: allostasis and allostatic overload and relevance to the pathophysiology of psychiatric disorders. *Ann. N Y Acad. Sci.* 1032, 1–7.
- McEwen, B.S., and Magarinos, A.M. (2001). Stress and hippocampal plasticity: implications for the pathophysiology of affective disorders. *Hum. Psychopharmacol.* 16, S7–S19.
- Morgan, V.A., Mitchell, P.B., and Jablensky, A.V. (2005). The epidemiology of bipolar disorder: sociodemographic, disability and service utilization data from the Australian National Study of Low Prevalence (Psychotic) Disorders. *Bipolar Disord.* 7, 326–337.

- Murray, F., Smith, D.W., and Hutson, P.H. (2008). Chronic low dose corticosterone exposure decreased hippocampal cell proliferation, volume and induced anxiety and depression like behaviours in mice. *Eur. J. Pharmacol.* 583, 115–127.
- Navailles, S., Hof, P.R., and Schmauss, C. (2008). Antidepressant drug-induced stimulation of mouse hippocampal neurogenesis is age-dependent and altered by early life stress. *J. Comp. Neurol.* 509, 372–381.
- Nemeroff, C.B., and Owens, M.J. (2004). Pharmacologic differences among the SSRIs: focus on monoamine transporters and the HPA axis. *CNS Spectr.* 9, 23–31.
- Oakley, R.H., Olivares-Reyes, J.A., Hudson, C.C., Flores-Vega, F., Dautzenberg, F.M., and Hauger, R.L. (2007). Carboxyl-terminal and intracellular loop sites for CRF1 receptor phosphorylation and beta-arrestin-2 recruitment: a mechanism regulating stress and anxiety responses. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 293, R209–R222.
- Perlis, R.H., Purcell, S., Fava, M., Fagerness, J., Rush, A.J., Trivedi, M.H., and Smoller, J.W. (2007). Association between treatment-emergent suicidal ideation with citalopram and polymorphisms near cyclic adenosine monophosphate response element binding protein in the STAR*D study. *Arch. Gen. Psychiatry* 64, 689–697.
- Pierce, K.L., and Lefkowitz, R.J. (2001). Classical and new roles of beta-arrestins in the regulation of G-protein-coupled receptors. *Nat. Rev. Neurosci.* 2, 727–733.
- Popa, D., Lena, C., Alexandre, C., and Adrien, J. (2008). Lasting syndrome of depression produced by reduction in serotonin uptake during postnatal development: evidence from sleep, stress, and behavior. *J. Neurosci.* 28, 3546–3554.
- Porsolt, R.D., Bertin, A., and Jalfre, M. (1977). Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch. Int. Pharmacodyn. Ther.* 229, 327–336.
- Qiu, G., Helmeite, D.M., Samaranayake, A.N., Lau, W.M., Lee, T.M., Tang, S.W., and So, K.F. (2007). Modulation of the suppressive effect of corticosterone on adult rat hippocampal cell proliferation by paroxetine. *Neurosci. Bull.* 23, 131–136.
- Santarelli, L., Saxe, M., Gross, C., Surget, A., Battaglia, F., Dulawa, S., Weisstaub, N., Lee, J., Duman, R., Arancio, O., et al. (2003). Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science* 301, 805–809.
- Schauwecker, P.E. (2006). Genetic influence on neurogenesis in the dentate gyrus of two strains of adult mice. *Brain Res.* 1120, 83–92.
- Schreiber, G., and Avissar, S. (2007). Regulators of G-protein-coupled receptor-G-protein coupling: antidepressants mechanism of action. *Expert Rev. Neurother.* 7, 75–84.
- Sheline, Y.I. (1996). Hippocampal atrophy in major depression: a result of depression-induced neurotoxicity? *Mol. Psychiatry* 1, 298–299.
- Stone, E.A., and Lin, Y. (2008). An anti-immobility effect of exogenous corticosterone in mice. *Eur. J. Pharmacol.* 580, 135–142.
- Surget, A., Saxe, M., Leman, S., Ibarguen-Vargas, Y., Chalon, S., Griebel, G., Hen, R., and Belzung, C. (2008). Drug-Dependent Requirement of Hippocampal Neurogenesis in a Model of Depression and of Antidepressant Reversal. *Biol. Psychiatry* 64, 293–301.
- Tanapat, P., Hastings, N.B., Rydel, T.A., Galea, L.A., and Gould, E. (2001). Exposure to fox odor inhibits cell proliferation in the hippocampus of adult rats via an adrenal hormone-dependent mechanism. *J. Comp. Neurol.* 437, 496–504.
- Wang, J.W., David, D.J., Monckton, J.E., Battaglia, F., and Hen, R. (2008). Chronic fluoxetine stimulates maturation and synaptic plasticity of adult-born hippocampal granule cells. *J. Neurosci.* 28, 1374–1384.
- Zhao, Y., Ma, R., Shen, J., Su, H., Xing, D., and Du, L. (2008). A mouse model of depression induced by repeated corticosterone injections. *Eur. J. Pharmacol.* 581, 113–120.

Article 1

Résultats principaux

Dans notre étude, nous avons modélisé un état anxio-dépressif chez la souris en étudiant les conséquences comportementales, cellulaires et moléculaires d'un excès de glucocorticoïdes. Nous montrons, grâce à des tests prédictifs de l'activité anxio/dépressive de ces médicaments, qu'un traitement chronique avec un de ces antidépresseurs bloque les altérations comportementales induites par une exposition à long terme à la corticostérone. Il est aussi important de noter que ce modèle CORT reproduit les observations faites chez l'Homme, en ce sens que les antidépresseurs n'ont généralement pas d'effets majeurs chez les patients qui ne sont pas cliniquement déprimés. En outre, nous avons utilisé ce modèle « CORT » d'anxiété/dépression chez la Souris pour faire le lien entre le phénotype comportemental observé suite à l'administration d'antidépresseur, et les conséquences cellulaires et moléculaires, notamment celles sur la neurogenèse hippocampique chez la Souris adulte. De récents résultats suggèrent que cette neurogenèse est nécessaire à l'apparition des effets comportementaux des ISRS chez les Rongeurs adultes ([Santarelli et al., 2003](#); [Surget et al., 2008](#), [Wang et al., 2008](#)). Faits intéressants, lorsque nous avons étudié différentes étapes de la neurogenèse (prolifération et maturation), la fluoxétine s'est révélée être beaucoup plus efficace chez les animaux traités par de la corticostérone. Ce résultat suggère qu'un état physiologique particulier s'installe suite à un stress chronique, dans lequel une augmentation de sérotonine aurait un effet plus important sur la neurogenèse que dans des conditions normales.

Dans un deuxième temps, nous avons disséqué les effets comportementaux neurogenèse-dépendants et neurogenèse-indépendants d'un ISRS, en répondant à la question suivante : « La stimulation de la fluoxétine sur la neurogenèse est-elle nécessaire et/ou suffisante pour induire des effets comportementaux ? Pour répondre à cette question nous avons effectué une ablation sélective de la neurogenèse par irradiation sélective de l'hippocampe aux rayons X. Cette approche a permis de montrer que, lorsque la neurogenèse hippocampique est supprimée, le traitement antidépresseur par de la fluoxétine induit des effets comportementaux dans le modèle « CORT », uniquement dans un seul paradigme comportemental, le test de l'Open Field (OF) alors que l'effet de type

anxiolytique/antidépresseur dans le Novelty Suppressed Feeding (NSF) est supprimé. Ces résultats originaux permettent donc de dessiner un nouveau concept, en montrant que les effets de type anxiolytique/antidépresseur d'un seul et même médicament, la fluoxétine, interviennent à la fois par des mécanismes neurogenèse-dépendants et indépendants (en accord avec [Surget et al, 2008](#)).

Conformément à l'idée que l'essentiel des effets antidépresseurs s'exercent dans plusieurs régions du cerveau, nous avons ainsi montré que le traitement chronique de fluoxétine, après une élévation des concentrations plasmatiques de corticostérone, entraîne des effets sur l'expression des gènes, non seulement dans l'hippocampe, mais aussi dans l'hypothalamus et l'amygdale. Les mécanismes neurogenèse-indépendants qui sous-tendent l'efficacité antidépressive seraient liés à des changements des voies de signalisation neuronale dans des régions cérébrales autres que l'hippocampe car 3 gènes liés au couplage des récepteurs de neurotransmetteurs à sept domaines transmembranaires, la β -arrestine 1, la β -arrestine 2 et la protéine $G\alpha 2$, ont une expression diminuée dans l'hypothalamus : cet effet est inversé par la fluoxétine. Enfin, des souris privées du gène codant pour la β -arrestine 2 présentent un blocage de plusieurs effets comportementaux de la fluoxétine, ce qui suggère que cette β -arrestine est nécessaire à l'activité anxiolytique/antidépressive de ces médicaments.

RESULTATS EXPERIMENTAUX

Article 2

**Effets bénéfiques comportementaux et neurogéniques de
l'agomélatine dans un modèle d'anxiété/dépression**

Article 2

Effets Bénéfiques Comportementaux et Neurogéniques de l'Agomélatine dans un Modèle d'Anxiété/Dépression

Q Rainer, L Xia, JP Guilloux, C Gabriel, E. Mocaer, R Hen, E Enhamre, A.M Gardier, DJ David

The International Journal of Neuropsychopharmacology, (2011) XX (Accepted)

Résumé

Le principal problème dans le traitements de la dépression et de l'anxiété par les inhibiteurs sélectifs de recapture de la sérotonine (ISRS) est la durée de l'apparition des effets thérapeutiques (3 à 4 semaines), et le nombre de patients non répondeurs. Il est donc nécessaire d'identifier et de développer des alternatives thérapeutiques pour le traitement de l'anxiété/dépression.

L'agomélatine (S20098) est un nouvel antidépresseur, possédant des propriétés innovantes puisqu'il est un agoniste des récepteurs mélatoninergiques et un antagoniste des récepteurs 5-HT_{2C}. L'habilité de cette molécule à agir sur le système mélatoninergique a déjà été montré dans différentes études cliniques, ainsi que ses effets antidépresseurs/anxiolytiques dans plusieurs modèles animaux.

Nous avons récemment développé un nouveau modèle d'anxiété/dépression chez la souris, par administration prolongée de corticostérone dans l'eau de boisson (article 1). Dans ce modèle, un traitement chronique à la fluoxétine permet de contrer les dysfonctions comportementales et l'inhibition sur la neurogenèse hippocampique, sans restaurer l'altération du rythme circadien.

Dans cette étude, nous avons voulu déterminer les effets thérapeutiques comportementaux de ce nouvel antidépresseur dans un nouveau modèle d'anxiété/dépression, et notamment vérifier si l'agomélatine est capable de corriger l'altération du rythme circadien induite par l'élévation de glucocorticoïdes.

Enfin, puisque les effets neurogéniques de l'agomélatine, spécifiquement dans l'hippocampe ventral, pourraient être responsables de ces effets antidépresseurs, nous avons évalué les effets de cette molécule sur la neurogenèse hippocampique dans notre modèle.

Dans ce travail, j'ai participé à toutes les étapes de l'étude, depuis l'évaluation comportementale des animaux traités par l'agomélatine dans le modèle CORT jusqu'aux effets neurogéniques, J'ai aussi rédigé l'article depuis la première version jusqu'à la version révisée.

ABSTRACT

Agomelatine (S20098) is a novel antidepressant drug with melatonergic agonist and 5-HT_{2C} receptor antagonist properties, displaying antidepressant/anxiolytic-like properties in animal models and in human. In a depression/anxiety-like mouse model in which the response of the HPA axis is blunted, we investigated whether agomelatine could reverse behavioral deficits related to depression/anxiety compared to the classical selective serotonin reuptake inhibitor, fluoxetine. Adult mice were treated for 8 weeks with either vehicle or corticosterone (35 µg/ml/day) via the drinking water. During the final 4 weeks, animals were treated with vehicle, agomelatine (10 or 40 mg/kg, i.p.) or fluoxetine (18 mg/kg, i.p.) and tested in several behavioral paradigms and also evaluated for home cage activity. Our results showed that the depressive/anxious-like phenotype induced by corticosterone treatment is reversed by either chronic agomelatine or fluoxetine treatment. Moreover, agomelatine increased the dark/light ratio of home cage activity in vehicle-treated mice and reversed the alterations in this ratio induced by chronic corticosterone, suggesting a normalization of disturbed circadian rhythms. Finally, we investigated the effects of this new antidepressant on neurogenesis. Agomelatine reversed the decreased cell proliferation in the whole hippocampus in corticosterone-treated mice and increased maturation of newborn neurons in both vehicle and corticosterone-treated mice. Overall, the present study suggests that agomelatine, with its distinct mechanism of action based on the synergy between the melatonergic agonist and 5HT_{2C} antagonist properties, provides a distinct antidepressant/anxiolytic spectrum including circadian rhythms normalization.

Keywords: antidepressant, behavioral paradigm, corticosterone, neurogenesis, hippocampus, dorso-ventral.

INTRODUCTION

Depression and anxiety, two distinct psychiatric disorders with a high comorbidity, are major causes of disability worldwide. The major shortcomings in treating these disorders with selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) is that the therapeutic response develops slowly (3 to 4 weeks), that side effects often occur and that there is a significant percentage of non-responders (30%) (Wong and Licinio, 2001). Thus, it is necessary to identify and develop alternative therapeutic options for the treatment of depression and anxiety disorders (Millan et al., 2006).

The development of antidepressant drugs with melatonergic agonist and 5-HT_{2C} antagonist properties may be promising given that affective disorders are characterized by abnormal circadian rhythms (Germain and Kupfer, 2008). Agomelatine, acting as an agonist at melatonergic receptors and antagonist at 5-HT_{2C} receptors (De Bodinat et al., 2010), has demonstrated efficacy in major depressive disorders in several clinical trials (Kennedy and Emsley, 2006; L o et al., 2002; Oli  and Kasper, 2007). Possibly because of this novel receptor profile, one reason agomelatine is efficacious in depression is through the resynchronization of circadian rhythms (for review see, Gorwood, 2010; Kasper et al., 2010). It is noteworthy that agomelatine also displays robust antidepressant- and anxiolytic-like activities in several animal paradigms (Barden et al., 2005; Bertaina-Anglade et al., 2006; Bourin et al., 2004; Millan et al., 2005; Papp et al., 2003; Papp et al., 2006; Tuma et al., 2005).

Recently, we developed a new mouse model of a depressive/anxiety-like state induced by long-term exposure of exogenous corticosterone (4-pregnen-11 -DIOL-3 20-DIONE 21-hemisuccinate) in rodents. In this model, we showed that chronic fluoxetine treatment reversed the inhibition of hippocampal neurogenesis and the behavioral dysfunction induced by chronic corticosterone in several behavioral paradigms, but was ineffective in reversing the flattened circadian rhythm (David et al., 2009).

Since agomelatine has a different mechanism of action from currently available antidepressants, we first assessed its antidepressant/anxiety-like activity in the chronic corticosterone animal model of a depressive/anxiety-like state. We compared the behavioral consequences of either chronic agomelatine (10 or 40 mg/kg/day) or fluoxetine (18 mg/kg/day) treatment in various paradigms such as the Open Field paradigm (OF), the Novelty Suppressed Feeding (NSF), the Splash Test (ST), the Forced Swim Test (FST) as well as the coat

state. Moreover, considering that desynchronization of circadian rhythms plays a key role in mood disorders, we also asked whether agomelatine reversed the flattened circadian rhythm in chronic corticosterone-treated mice.

Finally, recent preclinical data also demonstrated that agomelatine, similar to other antidepressants such as SSRIs and tricyclics, increases cell proliferation in the dentate gyrus of non-stressed adult rats (Banasr et al., 2006; Soumier et al., 2009). Furthermore, chronic agomelatine reversed the decreased neurogenesis in the glucocorticoid receptor impaired mice (GR-i mice) model of depression (Paizanis et al., 2010). Interestingly, Banasr et al. (2006) and Soumier et al. (2009) showed that this effect was specifically seen in the ventral hippocampus. This is of particular interest, since the hippocampus may be functionally segregated along its dorsal/ventral axis, with the dorsal hippocampus more responsible for spatial memory and the ventral hippocampus implicated in anxiety and mood regulation (Bannerman et al., 2004; Fanselow and Dong, 2010; Moser and Moser, 1998). Thus, since the selective effect of agomelatine on ventral hippocampus neurogenesis may have implications for its mechanism of action, we assessed the effects of agomelatine on neurogenesis in both the ventral and dorsal hippocampus.

EXPERIMENTAL PROCEDURES

An extensive description of methods is provided in Supplementary Material.

Animals.

Adult male C57BL/6Ntac mice were purchased from Taconic Farms (Germantown, NY, USA; Lille Skensved, Denmark). All corticosterone treated mice were 7-8 weeks old and weighed 20-24g at the beginning of the treatment, and were maintained on a 12L:12 D schedule (lights on at 06AM). Mice were housed in groups of five. Food and water were provided *ad libitum*. Behavioral testing occurred during the light phase between 09AM and 05PM for the OF, NSF, FST and ST. Separated groups were used to assess home cage activity. All testing was conducted in compliance with protocols approved by the Institutional Animal Care and Use Committee (Council directive #87-848, October 19, 1987, Ministère de l'Agriculture et de la Forêt, Service Vétérinaire de la Santé et de la Protection Animale, permissions #92-256 to D.J.David).

Drugs

The dose and duration of corticosterone treatment was selected based on previous study (David et al., 2009). Corticosterone (35 µg/ml/day, equivalent to about 5 mg/kg/day) or vehicle (0.45% β-cyclodextrine, β-CD), was available *ad libitum* in the drinking water in opaque bottles to protect it from light. Corticosterone-treated water was changed every three days to prevent any possible degradation. Thereafter, while administration with β-CD or corticosterone continued, mice were treated intraperitoneally (i.p.) with vehicle (hydroxyethylcellulose (HEC) 1%), agomelatine (S20098) (10 or 40 mg/kg) or fluoxetine (18 mg/kg) for 28 days (see timeline, supplemental figure 1). Fluoxetine served of a positive control in these experiments. The drugs administration occurred daily at 05PM; 1 hour before the start of dark phase.

Behavioral testing

Open field paradigm: We used the procedure described previously (David et al., 2009). Motor activity was quantified in four Plexiglas open field boxes 43x43 cm² (MED Associates, Georgia, VT). Total time in the center and number of entries into the center over a 30-min period of test was recorded. The total ambulatory distance was also measured to ensure the absence of any locomotor effects of the treatment (supplemental figure 2). This test was done 23 days after the beginning of treatment, in the morning (~ 16 h after the drug administration on day 22).

Novelty suppressed feeding paradigm: The NSF paradigm is a conflict test that elicits competing motivations between the drive to eat and the fear of venturing into the center of brightly lit arena. Latency to begin eating is used as an index of depressive/anxiety-like behavior. The NSF test was carried out during a 10-min period as previously described (David et al., 2009). This test was performed 26 days after the beginning of treatment, in the morning (~ 16 h after the drug administration on day 25).

Changes in coat state: The state of the coat was assessed 27 days after the beginning of treatment in the morning (~ 16 h after the drug administration on day 26). The total score resulted from the sum of the score of five different body parts: head, neck, dorsal/ventral coat, tail, fore/hindpaws. For each of the five body areas, a score of 0 was given for a well-groomed coat and 1 for an unkempt coat (Santarelli et al., 2003).

Splash test: This test consisted of squirting 200 µl of a 10% sucrose solution on the mouse's

snout (Ducottet and Belzung, 2004). The grooming frequency was recorded. This test was done 28 days after the beginning of treatment, in the morning (~16 h after the drug administration on day 27).

Forced swim test: The FST procedure was modified to enhance the sensitivity for detecting the putative antidepressant-like activity of drugs (Holick et al., 2008; Porsolt et al., 1977). Briefly, mice were placed into clear plastic buckets, 20 cm in diameter and 23 cm deep filled 2/3 of the way with 23-25 C water. Automated scoring was done using the automated X'PERT FST (Bioseb, Vitrolles, France). Dependent variables were mobility, swimming and climbing duration. This test was performed 29 days after the beginning of treatment, in the morning (~16 h after the last administration of drug).

Home cage activity: Home cage activity was quantified using the ActiV-Meter (Bioseb, Vitrolles, France) over a 24-hour period during the last week of treatment. During the experiment, food and water were provided *ad libitum*. To assess any effects of chronic antidepressant treatment in reversing the flattened circadian rhythm induced by corticosterone (indicated by a reduction in home cage activity), total ambulatory activity over a 24-hour period, and total activity during the light and dark phase were measured. Finally, the ratio of ambulatory distance during the dark phase over the light phase was calculated.

Immunohistochemistry

BrdU labeling for proliferation study: Mice were administered with BrdU (150 mg/kg, i.p.) 2 hours before sacrifice. We then proceeded as described previously in David et al. (2009). BrdU-positive cells were counted using Olympus BX51 microscope (Germany).

Doublecortin (DCX) labeling for maturation index study: Histo-immunochemistry protocol was adapted from David *et al.* (2009). DCX+ cells were subcategorized according to their dendritic morphology: DCX+ cells and DCX+ cells with tertiary (or higher order) dendrites. The maturation index was defined as the ratio of DCX+ cells possessing tertiary dendrites over the total DCX+ cells.

Data analysis and statistics.

Results from data analyses were expressed as mean \pm SEM. Data were analyzed using StatView 5.0 software (SAS Institute, Cary, NC). For all experiments a two-way ANOVA with repeated measure was applied to the data as appropriate. Significant main effects and/or interactions were

resolved by Student-Newman-Keuls *post hoc* ANOVAs analysis or *post hoc* unpaired t test as appropriate.

In the NSF test, we used also the Kaplan–Meier survival analysis because of the lack of normal distribution of the data. Animals that did not eat during the 10 min testing period were statistically censored. Mantel–Cox log-rank test was used to evaluate differences between experimental groups

RESULTS

Chronic agomelatine reversed depressive/anxiety-related behaviors induced by chronic corticosterone treatment

We first assessed the effect of a 4-weeks treatment with agomelatine (10 or 40 mg/kg/day) or fluoxetine (18 mg/kg/day), in our model of corticosterone-induced depression/anxiety-like behavior in C57BL/6Ntac mice in the OF paradigm. A two-way ANOVA on the time spent in the center revealed a significant effect of pretreatment factor [$F(1,125)=24.5$, $p<0.01$] (Fig 1.A) and a significant interaction pretreatment x treatment [$F(3,125)=3.3$, $p<0.05$]. Similar to the time in center, a two-way ANOVA on the entries in the center showed a significant effect of pretreatment factor [$F(1,125)=8.7$, $p<0.01$] (Fig 1.B) and a significant interaction pretreatment x treatment [$F(3,125)=4.3$, $p<0.05$]. In the OF, chronic exogenous corticosterone had a marked effect on all anxiety parameters, resulting in decreased time spent (Fig 1.A) and decreased number of entries (Fig 1.B) with no change in the ambulatory distance (Supplemental fig 2). Interestingly, this anxiety phenotype in the OF paradigm was reversed by chronic fluoxetine or agomelatine treatment (10 mg/kg/d) for all the parameters tested (Fig 1.A, 1.B).

In the NSF, another anxiety-related behavioral paradigm (Fig 1.C, 1.D), we explored whether agomelatine and fluoxetine, were able to reverse the depressive/anxiety-like state observed in the NSF (Fig 1C, Kaplan-Meier survival analysis, Mantel-Cox log-rank test, $p<0.01$). A two-way ANOVA revealed a significant effect of pretreatment factor [$F(1,115)=29.5$, $p<0.01$] on the latency to feed (Fig 1.D). Overall, agomelatine, at both doses, and fluoxetine prevented the increase in the latency to feed without affecting the home food consumption (Supplemental table 1), suggesting that both drugs modulate the depressive/anxiety-like state.

We next assessed the coat state of the animals, a well-validated index of a depressed-like state (Santarelli et al., 2003). Long-term glucocorticoid exposure, similar to chronic stress (Surget et al.,

2008), induced physical changes including deterioration of the coat state. A two-way ANOVA on the coat state indicated a significant effect of the pretreatment [$F(1,111)=194.46$, $p<0.01$], the treatment [$F(3,111)=4.57$, $p<0.01$] and a significant interaction pretreatment x treatment [$F(3,111)=4.51$, $p<0.01$]. Interestingly, both doses of agomelatine, and fluoxetine, reversed the deterioration of the coat state (Fig 1.E).

We next investigated whether the deterioration of the coat state was linked to changes in grooming behavior by squirting a 10% sucrose solution on the mouse's snout (Fig 1.F). A two-way ANOVA revealed a significant effect of pretreatment factor, [$F(1,109)=33.0$, $p<0.01$] and a significant interaction between pretreatment x treatment [$F(3,109)=6.6$, $p<0.01$]. A 4-week agomelatine regimen at 10 or 40 mg/kg/day, and fluoxetine reversed the decrease in the grooming activity induced by corticosterone treatment in this sucrose splash test.

Chronic agomelatine treatment induced antidepressant-like activity in the mouse Forced Swim Test by increasing swimming and climbing behavior

Since the FST is well recognized as a screening test for antidepressant action, we explored the behavioral effects of chronic corticosterone treatment in the presence of either agomelatine or fluoxetine. We also tested mice treated with antidepressants but not subjected to chronic corticosterone. A two-way ANOVA on mobility duration showed a significant effect of the treatment factor [$F(3,112)=15.8$, $p<0.01$]. In both corticosterone and non corticosterone-treated animals, either dose of agomelatine (10 or 40 mg/kg/day) and fluoxetine increased the mobility duration (Fig 2.A). Interestingly, a two way ANOVA on the swimming duration revealed a significant effect of treatment factor [$F(3,112)=12.7$, $p<0.01$] and a significant interaction pretreatment x treatment [$F(3,112)=2.6$, $p<0.05$]. Agomelatine at 10 or 40 mg/kg/day or fluoxetine increased the swimming duration in corticosterone and non-corticosterone-treated animals (Fig 2.B). As for the climbing duration, a two-way ANOVA showed a significant effect of the treatment factor [$F(3,112)=8.1$, $p<0.01$]. In non-corticosterone and corticosterone treated animals, only agomelatine at 10 mg/kg/d induced a significant increase in the climbing duration (Fig 2.C). Finally, a chronic fluoxetine treatment increased the climbing duration in corticosterone animals (Fig 2.C).

Taken together, these results suggest through multiple behavioral readouts that chronic

agomelatine and fluoxetine treatment were effective in reversing a depression/anxiety-like phenotype induced by excess of glucocorticoids.

Chronic agomelatine normalized disturbances of circadian rhythm

Since agomelatine induces a phase advance in animals and resynchronization of circadian rhythms (Redman et al., 1995, Van Reeth et al., 2001), a phase advance of circadian rhythms in healthy human volunteers (Kräuchi et al., 1997; Leproult et al., 2005) and depressed patients (Quera-Salva et al., 2007), as well as resynchronization of circadian rhythms in depressed patients (Kasper et al., 2010) we wanted to assess whether it could reverse the flattened circadian rhythm in our animal model. We measured the ratio activity of the ambulatory distance during the dark phase over the light phase (Fig. 3.A) and total ambulatory activity over a period of 24 hours (Fig. 3.B). We also show the segregation of the total activity during the light phase (Fig. 3.C) and the dark phase (Fig. 3.D). A two-way ANOVA revealed an effect of the main treatment factor on the ratio for activity in the home cage [$F(3,89)=9.6$, $p<0.01$]. A planned comparison showed that chronic corticosterone treatment induced a reduction in home cage activity, decreasing the ratio of ambulatory distance during the night over the day by more than 20%. Agomelatine, at both doses studied, increased this parameter in both vehicle (from +30%) and corticosterone treated mice (from +40%) (Fig. 3.A) indicating an increase in the amplitude of the rhythm. In addition, a two-way ANOVA showed an effect of both pretreatment [$F(1,89)=34.7$, $p<0.01$] and treatment [$F(3,89)=5.2$, $p<0.01$] factors on the total activity over 24 hours (Fig. 3.B). A reduction of 35% and 30% of the total activity was observed in agomelatine (10 mg/kg/d) and fluoxetine groups with corticosterone pre-treatment respectively compared to corticosterone/vehicle treated mice. Mice that were not exposed to corticosterone did not have any differences with antidepressant treatment. As for activity during the light phase (Fig. 3.C), a two-way ANOVA revealed an effect of the treatment factor [$F(3,89)=16.1$, $p<0.01$]. All antidepressant treatments decreased the light phase activity in both vehicle and corticosterone-treated mice by around 30%. A two-way ANOVA for the activity during the dark phase (Fig. 3.D) revealed an effect of pretreatment factor [$F(1,89)=39.5$, $p<0.01$] and treatment factor [$F(3,89)=4.5$, $p<0.01$]. Indeed, corticosterone decreases the activity during the dark phase, an effect that was actually enhanced by 20% with fluoxetine treatment compared to the control group.

Chronic agomelatine treatment after long-term corticosterone exposure affects proliferation and maturation of adult hippocampal neurogenesis

To investigate the potential cellular mechanisms underlying the behavioral effects of agomelatine, we next evaluated changes in adult hippocampal neurogenesis. A two-way ANOVA on the number of BrdU+ cells showed a significant pretreatment [$F(1,59)=4.3$, $p<0.05$], treatment factor, [$F(3,59)=5.6$, $p<0.01$] and a significant pretreatment x treatment interaction [$F(3,59)=9.3$, $p<0.01$]. As previously described, chronic corticosterone treatment mimicked the effects of chronic stress on cell proliferation by decreasing the number of proliferating (BrdU+) cells in the dentate gyrus (Fig. 4.A) of the adult mouse hippocampus. This change in proliferation was completely reversed by antidepressant treatment, either agomelatine (10 or 40 mg/kg/day) or fluoxetine. No change in BrdU+ cells was observed in non-stressed mice.

We next explored whether chronic corticosterone in the presence or absence of antidepressant treatment, had any selective influence on neurogenesis along the dorsal/ventral axis of the hippocampus. A two-way ANOVA on the BrdU+ cells in the dorsal hippocampus revealed a significant pretreatment x treatment interaction [$F(3,59)=5.1$, $p<0.01$]. In the ventral hippocampus, a two-way ANOVA also revealed a significant pretreatment factor [$F(1,59)=9.0$, $p<0.01$], treatment factor [$F(3,59)=9.2$, $p<0.01$] and a significant interaction [$F(3,59)=10.3$, $p<0.01$]. Therefore, the effects of agomelatine or fluoxetine on cell proliferation in corticosterone-treated animals were similar between the dorsal and the ventral hippocampus.

Furthermore, we assessed the effects of agomelatine or fluoxetine on dendritic maturation in our animal model (Fig. 5). To this end, we examined the dendritic morphology of cells that express DCX. A two-way ANOVA revealed a significant treatment factor and pretreatment x treatment interaction on DCX+ cells with tertiary dendrites ([$F(3,43)=21.9$, $p<0.01$], [$F(3,43)=3.4$, $p<0.05$] respectively). Indeed, both doses of agomelatine induced an increase in the number of DCX+ cells with tertiary dendrites in control and corticosterone-treated animals. Moreover, chronic antidepressant treatment induced an increase in the maturation index for newborn neurons in the dentate gyrus of the hippocampus (effect of treatment [$F(3,43)=11.9$, $p<0.01$], in both basal and chronic corticosterone conditions. Fluoxetine, as previously published, significantly increased the number of DCX+ cells with tertiary dendrites.

So far the regional influence of agomelatine on dendritic morphology has not been studied in stressed or non-stressed animals. In the dorsal part of the hippocampus, a two way ANOVA indicated a significant effect of treatment factor and pretreatment x treatment interaction ([$F(3,43)=10.2$, $p<0.01$], [$F(3,43)=3.7$, $p<0.05$], respectively) on DCX+ cells with tertiary dendrites and significant effects of treatment factor and pretreatment x treatment interaction ([$F(3,43)=6.7$, $p<0.01$], [$F(3,43)=2.9$, $p<0.05$], respectively) on maturation index. Moreover, in the ventral part of the hippocampus, a two way ANOVA indicated a significant effect of treatment factor [$F(3,43)=26.4$, $p<0.01$] on DCX+ cells with tertiary dendrites and a significant effect of treatment factor [$F(3,43)=12.9$, $p<0.01$] on maturation index. Thus, in contrast to chronic glucocorticoid treatment, both antidepressants modify the maturation index. Interestingly, the number of DCX+ cells with tertiary dendrites is increased with agomelatine (10 or 40 mg/kg/day) in corticosterone-treated animals only in the ventral hippocampus.

DISCUSSION

The present study aimed at investigating the antidepressant/anxiolytic-like and neurogenic activities of agomelatine, a novel antidepressant with melatonergic agonist and 5-HT_{2C} receptor antagonist properties in a model of depression/anxiety based on elevation of glucocorticoids.

Enhanced activity of the HPA axis involving elevated glucocorticoid levels is considered a key neurobiological alteration in major depression. In depressed patients, many studies have shown that successful antidepressant therapies are associated with normalization of impaired HPA axis negative feedback (Greden et al., 1983; Heuser et al., 1996; Holsboer-Trachsler et al., 1991; Linkowski et al., 1987). Consistent with previous findings, the present results demonstrate that an elevation of glucocorticoid levels is sufficient to induce depressive/anxiety-like state in C57BL/6Ntac mice in various paradigms including the OF (Fig 1.A, 1.B), the NSF (Fig 1C, 1.D), the coat state (Fig 1.E), and the sucrose splash test (Fig 1.F). As previously shown these deficits were reversed by fluoxetine (David et al., 2009). Here we show that the new antidepressant agomelatine is also capable of reversing these deficits.

Overall, in the OF, the NSF, the sucrose splash test and the coat state, the magnitude of agomelatine-induced effects was comparable to that of fluoxetine. Indeed, agomelatine exerted antidepressant-like properties in several animal

models of depression and anxiety (Bertaina-Anglade et al., 2006; Fuchs et al., 2006; Millan et al., 2005; Papp et al., 2003; Papp et al., 2006; Tuma et al., 2005). The mechanism underlying the antidepressant/anxiolytic-like activity of agomelatine seems to involve both its melatonergic receptor agonist and its 5-HT_{2C} receptor antagonist properties (Bertaina-Anglade et al., 2006; Papp et al., 2003; Papp et al., 2006). Interestingly, melatonergic and 5-HT_{2C} receptors are expressed in the suprachiasmatic nuclei and in other brain areas possibly involved in the pathophysiology of depression, such as the cerebral cortex, hippocampus, amygdala and thalamus (Clemett et al., 2000; Holmes et al., 1995; Waever et al., 1989).

In the FST, our present data are consistent with the conclusion of recent studies including ours, showing that a chronic corticosterone regimen did not change swimming behavior in mice (David et al., 2009; Murray et al., 2008). Agomelatine, and fluoxetine, also induced antidepressant-like effects in “depressed/anxious” and normal “non-depressed/anxious” mice animals. Previous data with agomelatine suggest that its efficacy in the FST involves both its melatonergic receptor agonist and 5-HT_{2C} receptor antagonist properties (Bourin et al., 2004). When analyzing the mice in the FST, we explored swimming, climbing and mobility duration. Swimming behavior relies on the serotonergic system, and climbing behavior on the noradrenergic system in rats (Page et al., 1999). Interestingly, we provided evidence that changes in mobility duration after chronic agomelatine treatment at the high dose is mainly related to a change in swimming activity, whereas at the low dose (10 mg/kg/day), both swimming and climbing duration were increased. This effect on climbing duration could be linked to the enhancement of the extracellular levels of noradrenaline in the frontal cortex and dorsal hippocampus (Millan et al., 2003; 2005). As for the swimming behavior, even though agomelatine did not change extracellular levels of 5-HT in the dorsal hippocampus or the frontal cortex (Millan et al., 2005), nor the levels of 5-HT_{1A} receptors (Hanoun et al., 2004), it has been demonstrated that reciprocal interactions among norepinephrine, dopamine and serotonin exist (Guiard et al., 2010).

Moreover, a number of studies have demonstrated chronobiotic activity of agomelatine (Martinet et al., 1996). This component of the pharmacological activity of agomelatine is important since abnormal circadian rhythms including modifications of active/sleep state have been described in depression as a major symptom (Germain and Kupfer, 2008; Healy, 1987; Mendelson et al., 1987; Perlis et al., 1997). Our animal model is particularly attractive for assessing compounds with chronobiotic and

antidepressant properties, since a flattened circadian rhythm with reduction in home cage activity was observed with depression/anxiety-like state in corticosterone-treated animals (Fig 3). Indeed, agomelatine at 10 or 40 mg/kg/day normalized the disturbance of circadian rhythms in corticosterone-treated animals, increasing the dark/light ratio (Fig 3.A). This change in the ratio is a consequence of decreased activity during the light period (Fig 3.C), since no change was observed during the dark period. Overall, these data are consistent with the well-known effects of agomelatine on normalization of circadian rhythms disturbance in several animal models (Armstrong et al., 1993; Martinet et al., 1996; Pitrosky et al., 1999; Redman et al., 1995) as well as in depressed patients (see de Bodinat et al., 2010 for review; Kasper et al., 2010). Interestingly, an increase in dark/light home cage activity ratio is also observed in vehicle-treated mice confirming circadian effects of agomelatine in both baseline and pathological situations. The absence of an increase in the total activity rules out a stimulant-like effect of agomelatine administration (Fig 3.B). As mentioned above, this change is a consequence of decreased activity during the light phase only (Fig 3.C).

To investigate the potential cellular mechanisms underlying the behavioral effects of agomelatine, we next evaluated changes in adult hippocampal neurogenesis hypothesized to be relevant for antidepressant action (Airan et al., 2007; David et al., 2009; Santarelli et al., 2003; Wang et al., 2008). In agreement with previous findings (David et al., 2009; Murray et al., 2008; Qui et al., 2007), we found a reduction in the proliferation of progenitor cells after chronic corticosterone treatment was observed (Fig 5), emphasizing a role for glucocorticoids in the regulation of the proliferation stage of the neurogenic process.

Here, a chronic administration of agomelatine or fluoxetine reversed the decrease in cell proliferation in the hippocampus without any discrimination between the dorsal and the ventral hippocampus. Previous data obtained in stress paradigms with fluoxetine in mice (David et al., 2009) or with agomelatine in rats (Dagyte et al., 2010) corroborate our results. No regional differences in the effects of agomelatine on cell proliferation were observed in our model, suggesting that this effect may be prominent only in unstressed rodents (Banar et al., 2006; Paizanis et al., 2010; Soumier et al., 2009). Furthermore, another report demonstrated that effects of chronic agomelatine treatment on cell proliferation appeared throughout the dentate gyrus in mice with decreased expression of GR in the brain (Paizanis et al., 2010). Interestingly, neither chronic agomelatine or fluoxetine administration affected hippocampal cell

proliferation in non-corticosterone treated C57BL/6Ntac mice. In contrast, some other studies have shown that a 3-week treatment with agomelatine promoted cell proliferation in the ventral hippocampus of non-stressed Wistar rats (Banasr et al., 2006; Soumier et al., 2009), WT GR-1 mice (Paizanis et al., 2010), or the dorsal part of the hippocampus of Sprague Dawley rats (AlAhmed and Herbert, 2010). Overall, strains and species differences (rats versus mice) in hippocampal adult cell proliferation more likely account for these differences (David et al., 2010 for review) than changes in the experimental protocols as suggested by Dagyte and colleagues (2010). Indeed, as previously demonstrated, various antidepressants do not have any effects on strains with high basal hippocampal neurogenesis levels such as non-stressed C57BL/6 (David et al., 2009; Navailles et al., 2008; Schauwecker, 2006). The facilitation of cell proliferation in the dentate gyrus by agomelatine could reflect, at least in part, its 5-HT_{2C} receptor antagonist properties (Soumier et al., 2009; AlAhmed and Herbert, 2010).

The characterization of the neurogenic effects of new compounds requires understanding of effects on maturation of young neurons in addition to proliferation effects. Maturation is a crucial step for the functional integration of young neurons into neural circuits. In the adult DG, DCX is exclusively expressed in immature neurons from 1 day to 4 weeks of age (Couillard-Despres et al., 2005) and thus has been widely used as a reliable marker of immature neurons that reflects the level of neurogenesis and its modulation. While about 20% of DCX+ cells are still in the cell cycle, 70% are postmitotic and represent young immature neurons; the remaining 10% are progressing from late neuroblasts to immature neurons. Studies done in rats demonstrated that agomelatine, or other antidepressants such as fluoxetine, promote maturation of postmitotic neurons (Banasr et al., 2006; Dagyte et al., 2010; Soumier et al., 2009; Wang et al., 2008). In a recent study, agomelatine appeared to induce an early acceleration of cell maturation at 8 days of development (Soumier et al., 2009). To date, no data with an earlier time point than 21 days examined the effects of fluoxetine on cell maturation (Wang et al., 2008). However, it is unlikely that SSRIs have an effect on maturation at 8 days since it has been well described that fluoxetine does not induce any changes in proliferation (Santarelli et al., 2003) or survival (Wang et al., 2008) during the first week of treatment. The latest data obtained by Daszuta's group might therefore suggest that agomelatine, in comparison to other monoaminergic antidepressants, has a more rapid effect on cell maturation in non-stressed conditions.

We investigated the effect of chronic agomelatine and fluoxetine treatment on cell maturation in corticosterone-treated animals. Agomelatine and fluoxetine induced an increase in the dendritic arborization complexity of newborn neurons in the hippocampus. Indeed, a larger fraction of DCX+ cells possessed tertiary dendrites after chronic agomelatine treatment in both corticosterone and non corticosterone-treated animals suggesting that agomelatine facilitates maturation. These results could be linked to previous data where agomelatine increased the proportion of mature versus immature neurons after 15 days of treatment in rats, a time point when newborn cells start to develop dendritic arborization, extend axon terminals for establishing synapses with their targets, and become integrated into hippocampal circuitry. In keeping with these results, agomelatine also increased dendritic length and branching points *in vitro* in postnatal hippocampal cultures at DIV 8 (Soumier et al., 2009). Finally, the effects on maturation observed in previous studies under basal or stressed conditions (Banasr et al., 2006; Dagyte et al., 2010; Soumier et al., 2009) in rats were confirmed with the increase in the maturation index induced by chronic agomelatine treatment.

For the first time, our study discriminates the effects of antidepressants between the dorsal and the ventral hippocampus on neuronal maturation. Interestingly, in contrast to the non-selective increase in dendritic maturation with fluoxetine, agomelatine-induced increase in maturation of newborn neurons was primarily observed in the ventral hippocampus of corticosterone-treated mice. The ventral hippocampus is of particular interest due to the anatomical and functional differences between the ventral and dorsal hippocampus (Bannerman et al., 2004; Fanselow and Dong, 2010; Moser and Moser, 1998). The projections of the ventral hippocampus to the prefrontal cortex and amygdala support the view that the ventral hippocampus is particularly involved in "emotional circuitry", especially in the control of anxiety/depressive states (Bannerman et al., 2004; Engin and Treit, 2007). This regional effect of agomelatine could be related to its 5-HT_{2C} properties since this receptor seems to be located in the ventral hippocampus (Alves et al., 2004). However, a joint action of agomelatine on cell maturation through its action on melatonergic and 5-HT_{2C} receptors cannot be ruled out as suggested by Soumier et al., 2009.

It should be also noted that the effects of agomelatine on neurogenesis (proliferation and maturation) both dorsally and ventrally are slightly lower than those of fluoxetine particularly in the chronic corticosterone animal. On the other hand, in comparable behavioral responses are observed for

both drugs in tests of antidepressant and anxiolytic activity. This raises the possibility that the behavioral effects of agomelatine are also mediated by neurogenesis-independent mechanisms.

CONCLUSION

Our work shows that agomelatine induces an antidepressant-like effect in a model of anxiety/depression that is comparable to that of fluoxetine, a classical SSRI. However, agomelatine also induced a change in the circadian rhythm, which may contribute to its distinct profile of antidepressant action. Agomelatine is therefore a strong candidate for a new approach to treating depression and anxiety due to an innovative mechanism of action based on melatonin agonist and 5-HT_{2C} antagonistic properties.

Acknowledgments

*Q.R. was recipient of a fellowship from “Ministère de l'Éducation Nationale, de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche” (MENESR, Paris, France) during the performance of this work. This work has been supported by the technical assistance of the Animal care facility of the “IPSIT - Institut Paris-Sud d'Innovation Thérapeutique” of the Paris-Sud 11 University and by a grant from Servier. Finally, we are grateful to Dr Benjamin A. Samuels for helpful discussions and critical reading of the manuscript.

Statement of interest

None.

REFERENCES

- Airan RD, Meltzer LA, Roy M, Gong Y, et al.** (2007). High-speed imaging reveals neurophysiological links to behavior in an animal model of depression. *Science* **317**, 819-823.
- AlAhmed S, Herbert J** (In Press). Effect of agomelatine and its interaction with the daily corticosterone rhythm on progenitor cell proliferation in the dentate gyrus of the adult rat. *Neuropharmacology*.
- Alves SH, Pinheiro G, Motta V, Landeira-Fernandez J, et al.** (2004). Anxiogenic effects in the rat elevated plus-maze of 5-HT(2C) agonists into ventral but not dorsal hippocampus. *Behavioural Pharmacology* **15**, 37-43.
- Armstrong SM, McNulty OM, Guardiola-Lemaitre B, Redman JR** (1993). Successful use of S20098 and melatonin in an animal model of delayed sleep-phase syndrome (DSPS). *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **46**, 45-49.
- Banasr M, Soumier A, Hery M, Mocaër E, et al.** (2006). Agomelatine, a new antidepressant, induces regional changes in hippocampal neurogenesis. *Biological Psychiatry* **59**, 1087-1096.
- Bannerman DM, Deacon RM, Brady S, Bruce A, et al.** (2004). A comparison of GluR-A-deficient and wild-type mice on a test battery assessing sensorimotor, affective, and cognitive behaviors. *Behavioral Neuroscience* **118**, 643-647.
- Barden N, Shink E, Labbé M, Vacher R, et al.** (2005). Antidepressant action of agomelatine (S 20098) in a transgenic mouse model. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* **29**, 908-916.
- Bertaina-Anglade V, la Rochelle CD, Boyer PA, Mocaër E** (2006). Antidepressant-like effects of agomelatine (S 20098) in the learned helplessness model. *Behavioural Pharmacology* **17**, 703-713.
- Bourin M, Mocaër E, Porsolt R** (2004). Antidepressant-like activity of S 20098 (agomelatine) in the forced swimming test in rodents: involvement of melatonin and serotonin receptors. *Journal of Psychiatry and Neuroscience* **29**, 126-133.
- Clemett DA, Punhani T, Duxon MS, Blackburn TP, et al.** (2002). Immunohistochemical localization of the 5-HT_{2C} receptor protein in the rat CNS. *Neuropharmacology* **39**, 123-132.
- Couillard-Despres S, Winner B, Schauback S, Aigner R, et al.** (2005). Doublecortin expression levels in adult brain reflect neurogenesis. *European Journal of Neuroscience* **21**, 1-14.
- Daytè G, Trentani A, Postema F, Luiten PG, et al.** (2010). The novel antidepressant agomelatine normalizes hippocampal neuronal activity and promotes neurogenesis in chronically stressed rats. *CNS Neuroscience and Therapeutics* **16**, 195-207.

- David DJ, Klemenhausen KC, Holick KA, Saxe MD et al.** (2007). Efficacy of the MCHR1 antagonist N- [3- (1- [[4- (3, 4- difluorophenoxy) phenyl] methyl] (4- piperidyl))- 4- methylphenyl]- 2- methylpropanamide (SNAP 94847) in mouse models of anxiety and depression following acute and chronic administration is independent of hippocampal neurogenesis. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* **321**, 237-248.
- David DJ, Samuels BA, Rainer Q, Wang JW, et al.** (2009). Neurogenesis-dependent and -independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. *Neuron* **62**, 479-493.
- David DJ, Wang J, Samuels BA, Rainer Q, et al.** (2010). Implications of the functional integration of adult-born hippocampal neurons in anxiety-depression disorders. *The Neuroscientist* **16**, 578-591.
- De Bodinat C, Guardiola-Lemaitre B, Mocaër E, Rnard P, et al.** (2010). Agomelatine, the first melatonergic antidepressant : discovery, characterization and development. *Nature Reviews Drug Discovery* **9**, 628-642.
- De Kloet ER, Sutanto W, Rots N, van Haarst A, et al.** (1991). Plasticity and function of brain corticosteroid receptors during aging. *Acta Endocrinologica* **125**, 65-72.
- Ducottet C, Belzung C** (2004). Behaviour in the elevated plus-maze predicts coping after subchronic mild stress in mice. *Physiology and Behavior* **81**, 417-426.
- Engin E, Treit D** (2007). The role of hippocampus in anxiety: intracerebral infusion studies. *Behavioural Pharmacology* **18**, 365-374.
- Fanselow MS, Dong HW** (2010). Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? *Neuron* **65**, 7-19.
- Franklin KBJ, Paxinos F** (2007). *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates, Third Edition*. New York: Elsevier.
- Fuchs E, Simon M, Schmelting B** (2006). Pharmacology of a new antidepressant: benefit of the implication of the melatonergic system. *International Clinical Psychopharmacology* **21**, 17-20.
- Germain A, Kupfer, DJ** (2008). Circadian disturbances in depression. *Human Psychopharmacology* **23**, 571-585.
- Gorwood P** (2010). Restoring circadian rhythms : a new way to successfully manage depression. *Journal of Psychopharmacology* **24**, 15-19.
- Greden JF, Gardner R, King D, Grunhaus L, et al.** (1983). Dexamethasone suppression tests in antidepressant treatment of melancholia. The process of normalization and test-retest reproducibility. *Archives of General Psychiatry* **40**, 493-500.
- Guiard BP, Chenu F, Mansari ME, Blier P** (2010). Characterization of the electrophysiological properties of triple reuptake inhibitors on monoaminergic neurons. *The International Journal of Neuropsychopharmacology* **11**, 1-13.
- Hanoun N, Mocaër E, Boyer PA, Hamon M, et al.** (2004). Differential effects of the novel antidepressant agomelatine (S 20098) versus fluoxetine on 5-HT_{1A} receptors in the rat brain. *Neuropharmacology* **47**, 515-526.
- Healy D** (1987). Rhythm and blues. Neurochemical, neuropharmacological and neuropsychological implications of a hypothesis of circadian rhythm dysfunction in the affective disorders. *Psychopharmacology* **93**, 271-285.
- Heuser IJ, Schweiger U, Gotthardt U, Schmider J, et al.** (1996). Pituitary-adrenal-system regulation and psychopathology during amitriptyline treatment in elderly depressed patients and normal comparison subjects. *The American Journal of Psychiatry* **153**, 93-99.
- Holick KA, Lee DC, Hen R, Dulawa SC** (2008). Behavioral effects of chronic fluoxetine in BALB/cJ mice do not require adult hippocampal neurogenesis or the serotonin 1A receptor. *Neuropsychopharmacology* **33**, 406-417.
- Holmes MC, French KL, Seckl JR** (1995). Modulation of serotonin and corticosteroid receptor gene expression in the rat hippocampus with circadian rhythm and stress. *Brain Research Molecular Brain Research* **28**, 186-192.
- Holsboer-Trachsler E, Stohler R, Hatzinger M** (1991). Repeated administration of the combined dexamethasone-human corticotropin releasing hormone stimulation test during treatment of depression. *Psychiatry Research* **38**, 163-171.
- Kasper S, Hajak G, Wulff K, Hoogendijk WJG, et al.** (2010). Efficacy of the novel antidepressant agomelatine on the circadian rest-activity cycle and depressive and anxiety symptoms in patients with major depressive disorder: a randomized, double-blind comparison versus sertraline. *Journal of Clinical Psychiatry* **71** (2) 109-120.
- Kennedy SH, Emsley R** (2006). Placebo-controlled trial of agomelatine in the treatment of major depressive disorder. *European Neuropsychopharmacology* **16**, 93-100.
- Kräuchi K, Cajochen C, Möri D, Graw P, et al.** (1997). Wirz-Justice A. Early evening melatonin and S 20098 advance circadian phase and nocturnal regulation of core body temperature. *American Journal of Physiology* **272**, 1178-1188.
- Leproult R, Van Onderbergen A, L'Hermite-Baleriaux M, Van Cauter E, et al.** (2005). Phase-shifts of 24-h rhythms of hormonal release and body temperature following early evening administration of the melatonin agonist agomelatine in healthy older men. *Clinical Endocrinology* **63**, 298-304.
- Linkowski P, Mendlewicz J, Kerkhofs M, Leclercq R, et al.** (1987). 24-hour profiles of adrenocorticotropin, cortisol, and growth hormone

in major depressive illness: effect of antidepressant treatment. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* **65**, 141-152.

L  o H, Hale A, D'haenen H (2002). Determination of the dose of agomelatine, a melatonergic agonist and selective 5-HT_{2C} antagonist, in the treatment of major depressive disorder: a placebo-controlled dose range study. *International Clinical Psychopharmacology* **17**, 239-247.

Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, Duman RS (2000). Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *The Journal of Neuroscience* **20**, 9104-9110.

Martinet L, Guardiola-Lemaitre B, Mocaer E (1996). Entrainment of circadian rhythms by S-20098, a melatonin agonist, is dose and plasma concentration dependent. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* **54**, 713-718.

McEwen BS (1999). Stress and hippocampal plasticity. *Annual Review of Neuroscience* **22**, 105-122.

McEwen BS, Magarinos AM (2001). Stress and hippocampal plasticity: implications for the pathophysiology of affective disorders. *Human Psychopharmacology* **16**, 7-19.

Mendelson WB, Sack DA, James SP, Martin JV, et al. (1987). Frequency analysis of the sleep EEG in depression. *Psychiatry Research* **21**, 89-94.

Millan MJ, Gobert A, Lejeune F, Dekeyne A, et al. (2003). The novel melatonin agonist agomelatine (S20098) is an antagonist at 5-hydroxytryptamine_{2C} receptors, blockade of which enhances the activity of frontocortical dopaminergic and adrenergic pathways. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* **306**, 954-964.

Millan MJ, Brocco M, Gobert A, Dekeyne A (2005). Anxiolytic properties of agomelatine, an antidepressant with melatonergic and serotonergic properties: role of 5-HT_{2C} receptor blockade. *Psychopharmacology* **177**, 448-458.

Millan MJ (2006). Multi-target strategies for the improved treatment of depressive states: Conceptual foundations and neuronal substrates, drug discovery and therapeutic application. *Pharmacology and Therapeutics* **110**, 135-370.

Moser MB, Moser EI (1998). Functional differentiation in the hippocampus. *Hippocampus* **8**, 608-619.

Murray F, Smith DW, Hutson PH (2008). Chronic low dose corticosterone exposure decreased hippocampal cell proliferation, volume and induced anxiety and depression like behaviours in mice. *European Journal of Pharmacology* **583**, 115-127.

Navailles S, Hof PR, Schmauss C (2008). Antidepressant drug-induced stimulation of mouse hippocampal neurogenesis is age-dependent and

altered by early life stress. *The Journal of Comparative Neurology* **509**, 372-381.

Oli   JP, Kasper S (2007). Efficacy of agomelatine, a MT₁/MT₂ receptor agonist with 5-HT_{2C} antagonistic properties, in major depressive disorder. *The International Journal of Neuropsychopharmacology* **10**, 661-673.

Page ME, Detke MJ, Dalvi A, Kirby LG, et al. (1999). Serotonergic mediation of the effects of fluoxetine, but not desipramine, in the rat forced swimming test. *Psychopharmacology* **147**, 162-167.

Pa  zanis E, Renoir T, Lelievre V, Saurini F, et al. (2010). Behavioural and neuroplastic effects of the new-generation antidepressant agomelatine compared to fluoxetine in glucocorticoid receptor-impaired mice. *The International Journal of Neuropsychopharmacology* **13**, 759-774.

Papp M, Gruca P, Boyer PA, Moca  r E (2003). Effect of agomelatine in the chronic mild stress model of depression in the rat. *Neuropsychopharmacology* **28**, 694-703.

Papp M, Litwa E, Gruca P, Moca  r E (2006). Anxiolytic-like activity of agomelatine and melatonin in three animal models of anxiety. *Behavioural Pharmacology* **17**, 9-18.

Perlis ML, Giles DE, Buysse DJ, Thase ME, et al. (1997). Which depressive symptoms are related to which sleep electroencephalographic variables? *Biological Psychiatry* **15**, 904-913.

Pitrosky B, Kirsch R, Malan A, Mocaer E, et al. (1999). Organization of rat circadian rhythms during daily infusion of melatonin or S20098, a melatonin agonist. *American Journal of Physiology* **277**, 812-828.

Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M (1977). Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* **266**, 730-732.

Qiu G, Helmeste DM, Samaranayake AN, Lau WM, et al. (2007). Modulation of the suppressive effect of corticosterone on adult rat hippocampal cell proliferation by paroxetine. *Neuroscience Bulletin* **23**, 131-136.

Quera-Salva MA, Vanier B, Laredo J, Hartley S, et al. (2007). Major depressive disorder, sleep EEG and agomelatine: an open-label study. *Int J Neuropsychopharmacology* **10**, 691-696.

Redman JR, Guardiola-Lemaitre B, Brown M, Delagr  nge P, et al. (1995). Dose dependent effects of S-20098, a melatonin agonist, on direction of re-entrainment of rat circadian activity rhythms. *Psychopharmacology* **118**, 385-390.

Santarelli L, Saxe M, Gross C, Surget A, et al. (2003). Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science* **301**, 805-809.

Schauwecker PE (2006). Genetic influence on neurogenesis in the dentate gyrus of two strains of adult mice. *Brain Research* **1120**, 83-92.

Soumier A, Banasr M, Lortet S, Masméjean F, et al. (2009). Mechanisms contributing to the

phase-dependent regulation of neurogenesis by the novel antidepressant, agomelatine, in the adult rat hippocampus. *Neuropsychopharmacology* **34**, 2390-2403.

Surget A, Saxe M, Leman S, Ibarguen-Vargas Y, et al. (2008). Drug-dependent requirement of hippocampal neurogenesis in a model of depression and of antidepressant reversal. *Biological Psychiatry* **64**, 293-301.

Tuma J, Strubbe JH, Mocaër E, Koolhaas JM (2005). Anxiolytic-like action of the antidepressant agomelatine (S 20098) after a social defeat requires the integrity of the SCN. *European Neuropsychopharmacology* **15**, 545-555.

Van Reeth O, Weibel L, Olivares E, Maccari S, Mocaër E, Turek FW, (2001) Melatonin or a melatonin agonist corrects age-related changes in circadian response to an environmental stimulus. *The American Journal of Physiology* **280**:1582-1591.

Wang JW, David DJ, Monckton JE, Battaglia F, et al. (2008). Chronic fluoxetine stimulates maturation and synaptic plasticity of adult-born hippocampal granule cells. *The Journal of Neuroscience* **28**, 1374-1384.

Weaver DR, Rivkees SA, Reppert SM (1989). Localization and characterization of melatonin receptors in rodent brain by in vitro autoradiography. *The Journal of Neuroscience* **9**, 2581-2590.

Wong ML, Licinio J (2001). Research and treatment approaches to depression. *Nature Reviews Neuroscience* **2**, 343-351.

Figure 1

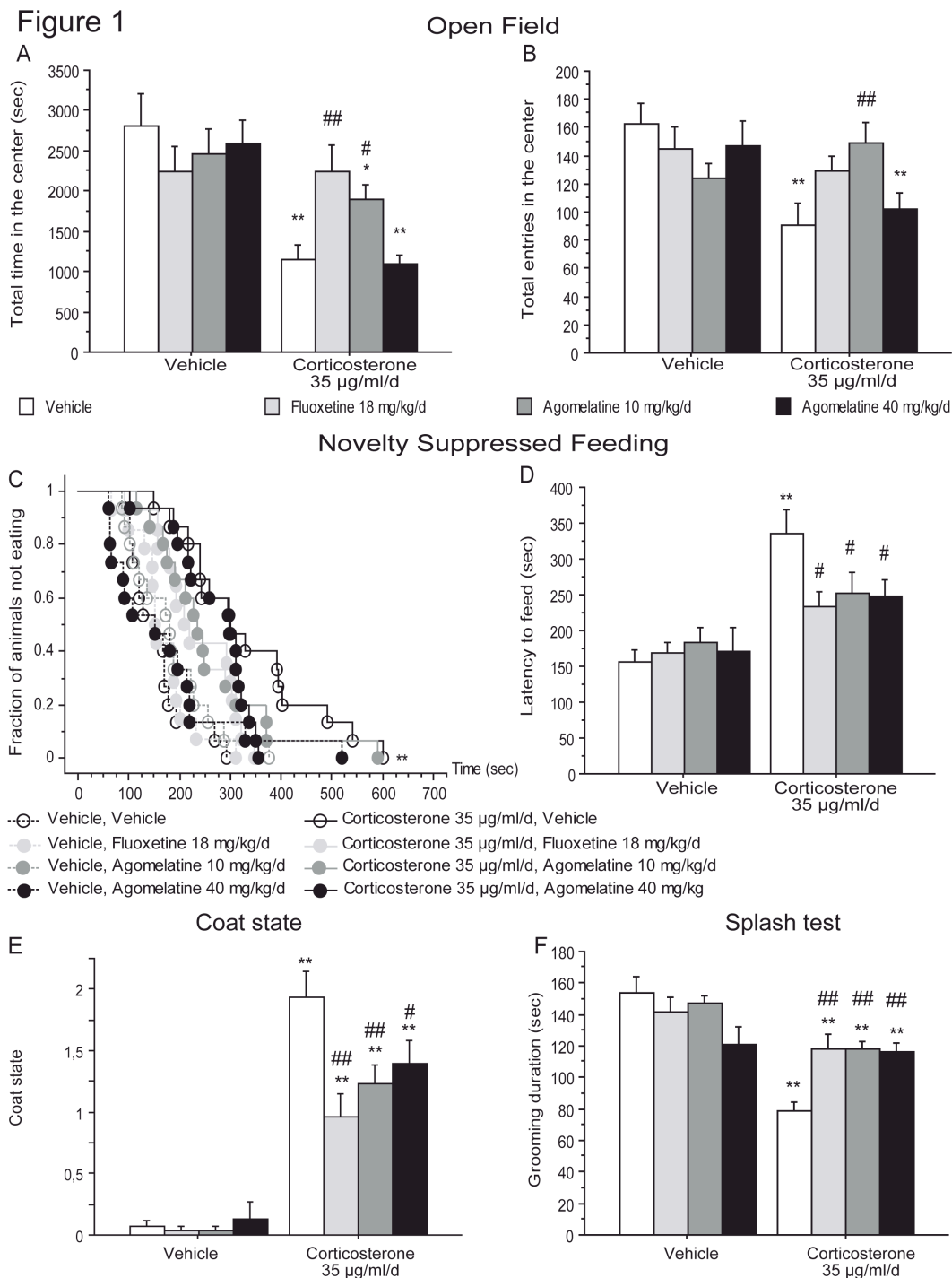


Figure 1. Chronic agomelatine reversed anxiety/depressive -related behaviors induced by chronic corticosterone treatment.

Effects of 4 weeks of antidepressant treatment (fluoxetine 18 mg/kg/day or agomelatine 10 and 40 mg/kg/day), started after 4 weeks of corticosterone regimen (35 µg/ml/day), on anxiety behaviors in the OF or the NSF and on depressive-like behavior on coat state degradation over days or in the ST. In the OF paradigm, anxiety is measured as the time spent in the center in seconds (A) and as mean of the total entries in the center (B). In the NSF paradigm, results are expressed as cumulative survival of animals that have not eaten over 10 min (C) or as mean of latency to feed in seconds (D). For the coat state, results are expressed as the sum of the score of five different body part (E). In the ST, results are expressed as mean of grooming duration after receiving a 10% sucrose solution on the snout (F). Values plotted are mean \pm SEM (n=14-20 per group). *p<0.05, **p<0.01, #p<0.05, ##p<0.01.

Figure 2

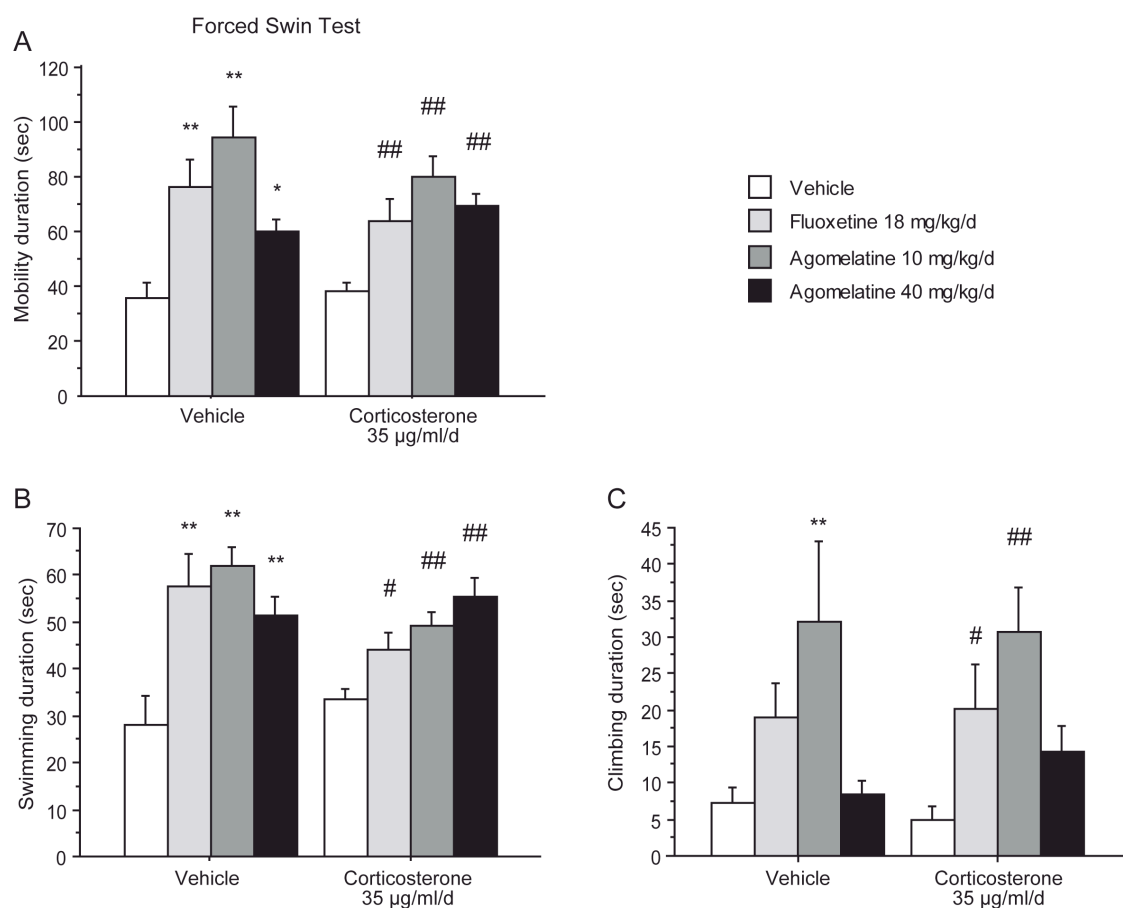


Figure 2. Chronic Agomelatine treatment induced antidepressant-like activity in the mouse Forced Swim Test by increasing swimming and climbing behavior.

Effects of 4 weeks of antidepressant treatment (fluoxetine 18 mg/kg/day or agomelatine 10 and 40 mg/kg/day), started after 4 weeks of corticosterone regimen (35 µg/ml/day), on the Forced Swim Test. Results are expressed as the total mobility duration (A), the swimming duration (B) and the climbing duration (C) in seconds. Values plotted are mean \pm SEM (n=14-17 per group). * p <0.05, ** p <0.01, # p <0.05, ## p <0.01, versus control group and corticosterone/vehicle group, respectively.

Figure 3

Home cage activity

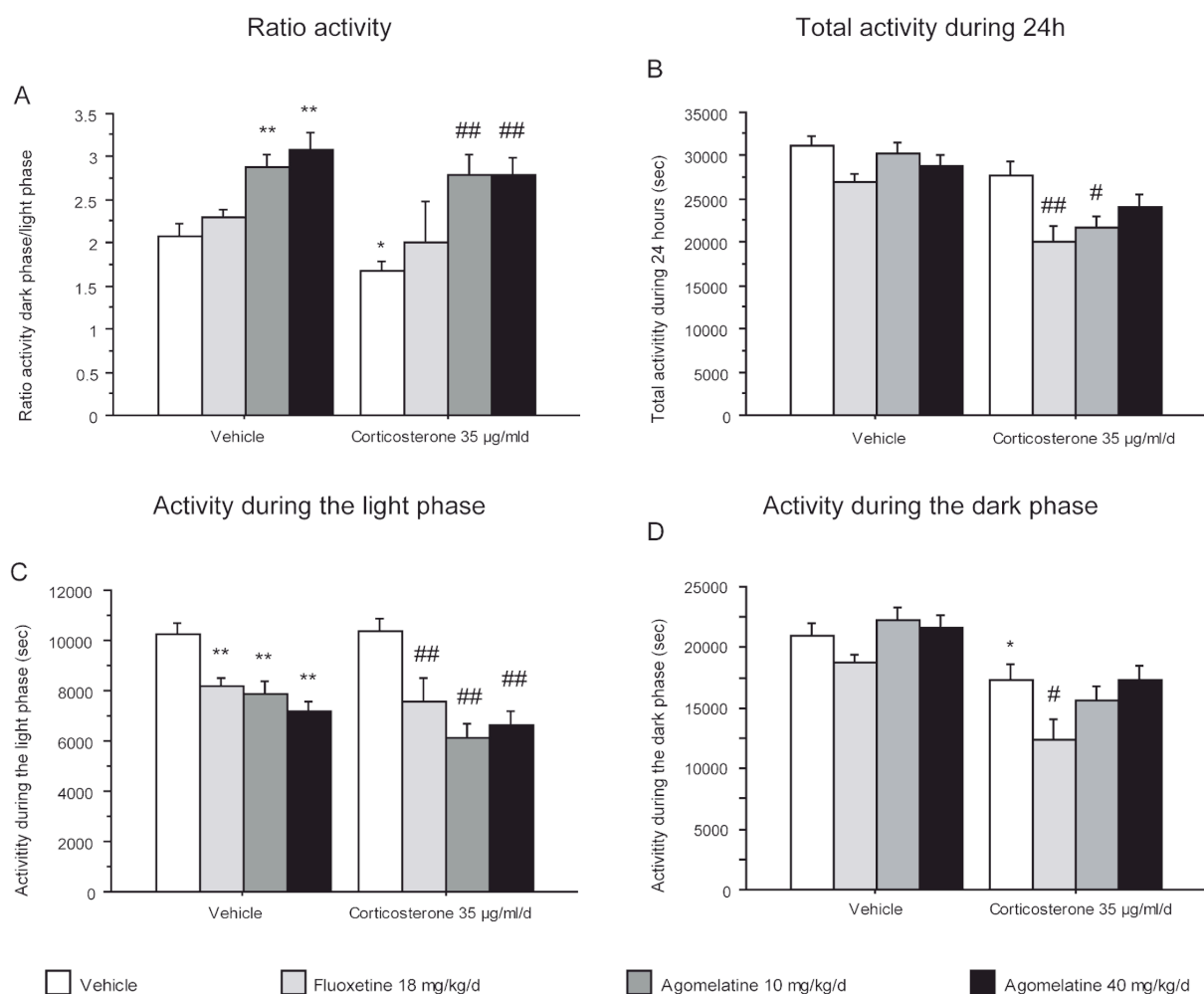


Figure 3. Chronic Agomelatine Treatment following Corticosterone-induced Home Cage Activity Changes.

Effects of 4 weeks of antidepressant treatment (fluoxetine 18 mg/kg/day or agomelatine 10 and 40 mg/kg/day), started after 4 weeks of corticosterone (35 µg/ml/d), on home cage activity. Results are expressed as mean of the ratio activity between the ambulatory distance in the dark over the ambulatory distance in the light phase activity (A), the total ambulatory activity over a 24 hours period (B), the total ambulatory activity during the light phase (C) and the dark phase (D). Values plotted are mean \pm SEM (n=10-14 per group). *p<0.05, **p<0.01, #p<0.05, ##p<0.01, versus control group and corticosterone/vehicle group, respectively.

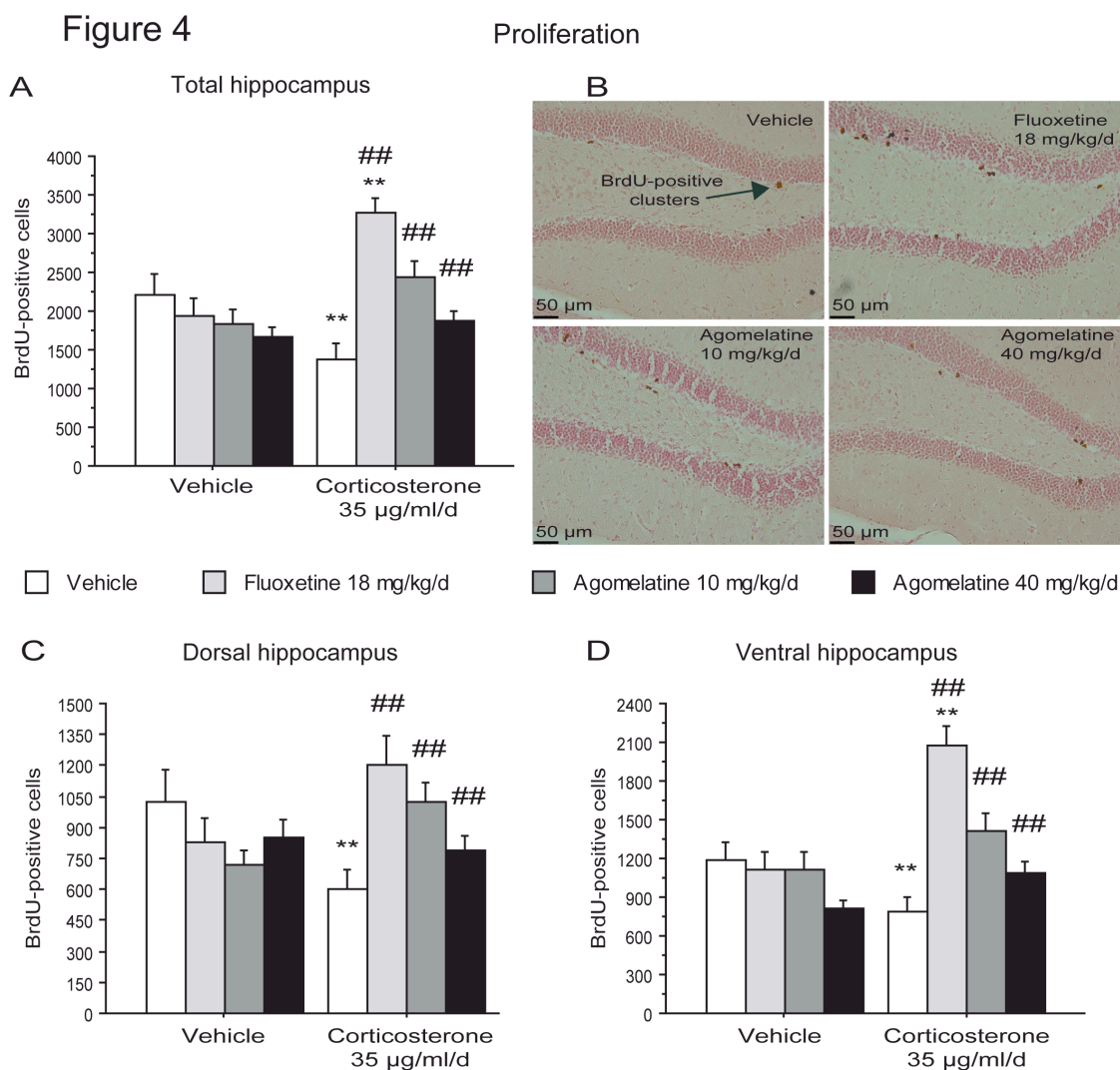


Figure 4. Chronic Agomelatine Treatment stimulates Cell Proliferation in the Dentate Gyrus of Adult Hippocampus after Chronic Corticosterone treatment.

BrdU (150 mg/kg) was given 2 hr before sacrifice to examine the effects of 8 weeks of corticosterone (35 µg/ml/d) ± fluoxetine (18 mg/kg/day) or agomelatine (10 and 40 mg/kg/day) during the last 4 weeks. Data are expressed as the mean ± SEM of the BrdU+ cell counts from 6-11 animals per treatment group for the subgranular zone and adjacent zone, defined as a two-cell-body-wide zone along the hilar cortex (40 magnification) in total hippocampus (A), dorsal hippocampus (C) or ventral hippocampus (D). ** $p < 0.01$, ## $p < 0.01$, versus control group and corticosterone/vehicle group, respectively.

B, representative illustrations of BrdU immunoreactivity (10X magnification) in the dentate gyrus after 7 weeks of pretreatment with corticosterone, and 28 days of treatment with vehicle, fluoxetine (18 mg/kg/day), agomelatine (10 or 40 mg/kg/day). BrdU+ cells counts were made within the SGZ and adjacent zone defined as a two-cell body wide zone along the hilar border (40X magnification).

Figure 5

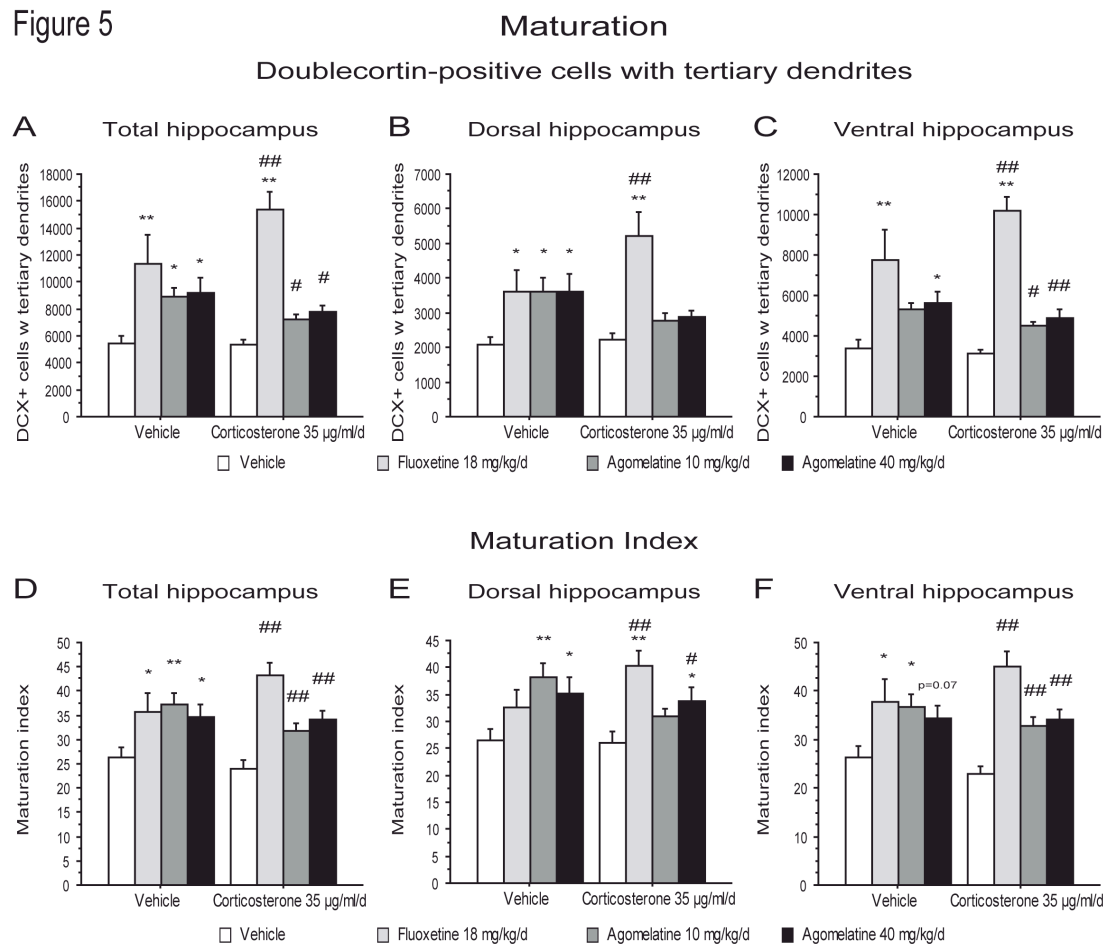
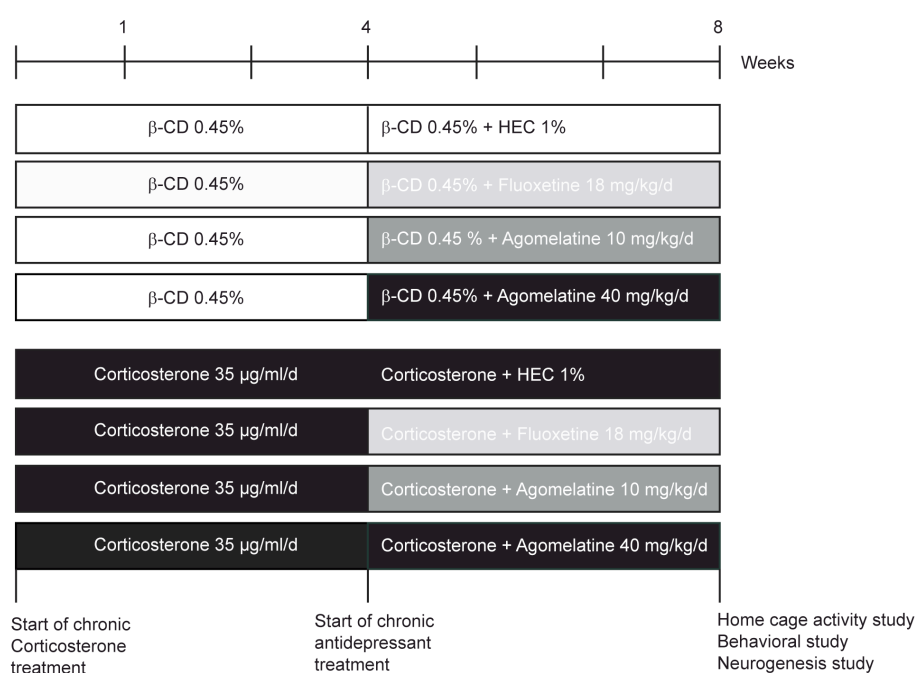


Figure 5. Chronic Agomelatine Treatment stimulates Dendritic Maturation of Young Neurons in the Dentate Gyrus of Adult Hippocampus after Chronic Corticosterone treatment.

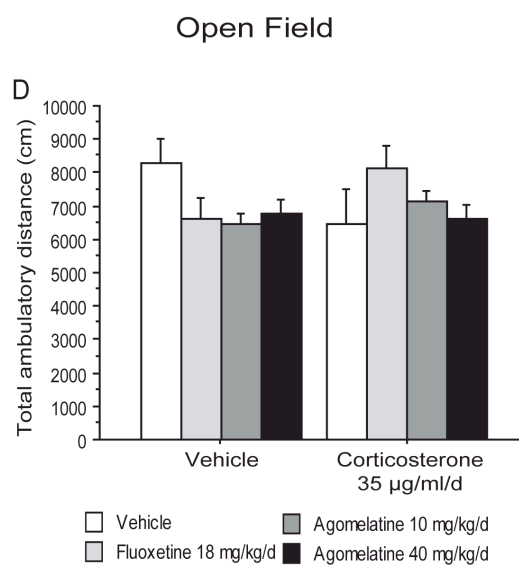
Effects of fluoxetine and agomelatine treatment on the DCX+ cells with tertiary dendrites in total hippocampus (A), dorsal hippocampus (B) and ventral hippocampus (C) and maturation in total hippocampus (D), dorsal hippocampus (E) and ventral hippocampus (F) of newborn granule cells were measured after 8 weeks of corticosterone. Values are mean \pm SEM ($n=5-7$ per group). * $p<0.05$, ** $p<0.01$, # $p<0.05$, ## $p<0.01$, versus control group and corticosterone/vehicle group, respectively.

Supplemental Figure 1

**Supplemental figure 1. Timeline of the experiments.**

In this set of experiments (supplemental Fig 1A), in place of normal drinking water, grouped-housed male C57BL/6Ntac mice were presented during 8 weeks with vehicle (0.45% hydroxypropyl- β -cyclodextrin) or corticosterone (35 μ g/ml) in the presence or absence of an antidepressant (agomelatine, 10 or 40 mg/kg/day, fluoxetine, 18 mg/kg/day, injected intraperitoneally) during the last four weeks of the corticosterone regimen. We investigated whether the behavioral changes during chronic corticosterone were reversed by antidepressant treatment. The same animal was successively tested in the OF paradigm, the NSF, the FST and then sacrificed for neurogenesis. The same protocol was adopted to study the effects of both antidepressant on the home cage activity.

Supplemental Figure 2

**Supplemental figure 2. Chronic agomelatine do not change ambulatory distance in the open field paradigm after a chronic corticosterone treatment.**

We examined the effects of a 4-week antidepressant treatment (agomelatine 10 or 40 mg/kg/day; fluoxetine, 18 mg/kg/day), started after 4-weeks of corticosterone (35 µg/ml/day), on anxiety behaviors in the OF paradigm. Locomotor activity was reported as ambulatory distance traveled for the entire session. Values plotted are mean \pm SEM (n = 10-12 per group).

Supplemental table 1

| Traitements | Vehicle | Corticosterone 35 µg/ml/d |
|------------------------|---------------|---------------------------|
| Vehicle | 0.336 ± 0.048 | 0.298 ± 0.054 |
| Fluoxetine 18 mg/kg/d | 0.344 ± 0.033 | 0.411 ± 0.053 |
| Agomelatine 10 mg/kg/d | 0.248 ± 0.046 | 0.332 ± 0.073 |
| Agomelatine 40 mg/kg/d | 0.337 ± 0.048 | 0.241 ± 0.029 |

Supplemental table 1. Effects of fluoxetine and agomelatine after corticosterone treatment on food consumption in Novelty Suppressed Feeding paradigm. Feeding drive was assessed by returning the animals in their home cages and measuring food consumed over a period of 5 min (mg). Values are mean ± SEM (n = 14-17 per group).

Supplementary experimental procedures

Drugs

The doses of agomelatine used in the present study were chosen on the basis of their activity in various animal models of depression and anxiety in the range of 2–50 mg/kg (Bourin et al., 2004; Millan et al., 2005; Papp et al., 2003). The dose of fluoxetine employed corresponds to the plasma fluoxetine levels found in depressed patients (taking 20–80 mg/day fluoxetine) (Dulawa et al., 2004).

Behavioral testing

Novelty suppressed feeding paradigm: The testing apparatus consisted of a plastic box (50x50x20 cm), the floor of which was covered with approximately 2 cm of wooden bedding. 24 hours prior to behavioral testing, all food was removed from the home cage. At the time of testing, a single pellet of food was placed on a white paper platform in the center of the box. An animal was placed in a corner of the box, and a stopwatch was immediately started. The latency to eat (defined as the mouse sitting on its haunches and biting the pellet with the use of forepaws) was timed. Immediately afterwards, the animal was transferred to its home cage, and the amount of food consumed by the mouse in the subsequent 5 min was measured. Each mouse was weighed before food deprivation and before testing to assess the percentage of body weight loss (data not shown).

Forced swim test: Automated scoring was performed using the automated X'PERT FST (Bioseb, Vitrolles, France). Each bucket was instrumented with a sensor recording the vibrations due to movements of the mice and a video was recorded from above. The system synchronizes mice position data calculated from the video recording, and the vibrations data. These information allow the system to compute characteristic values (based on speed of the animal, as well as different frequencies and powers of the vibrations through Fast Fourier Transforms calculation) describing the animal behavior every seconds.

Immunohistochemistry

BrdU labeling for proliferation study: Mice were administered with BrdU (150 mg/kg, i.p. dissolved in saline), 2h before sacrifice for cell proliferation. After anesthesia with ketamine/xylazine (100 and 7 mg/kg, respectively), mice were perfused transcardially (cold saline for 2 min, followed by 4% cold paraformaldehyde at 4°C). The brains were then removed and cryoprotected in 30% sucrose and stored at 4°C. Serial sections (35 µM) were

cut through the entire hippocampus (plate 41-61; Franklin and Paxinos, 2007) on a cryostat and stored in PBS with 0.1% NaN₃. For DAB staining, sections were mounted on slides and boiled in citric acid (pH 6.0) for 5 min, rinsed with PBS, and treated with 0.01% trypsin in Tris/CaCl₂ for 10 min. Brain sections were incubated for 30 min with 2N HCl and blocked with 5% NGS. Sections were then incubated overnight at room temperature with anti-mouse BrdU (1:100). After washing with PBS, sections were incubated for 1 hr with secondary antibody (1:200 biotinylated goat anti-mouse) followed by amplification with an avidinbiotin complex. The staining was visualized with DAB. For the quantification, a stereological procedure was used as previously described (Malberg et al., 2000). Effects of chronic agomelatine treatments on the number of BrdU-labeled cells were also examined separately in the rostral (Bregma -1.20 to -3.00 mm; Franklin and Paxinos, 2007) and caudal (Bregma -3.00 to -3.80 mm) hippocampus. The rostral region contains the DG in most of the dorsal hippocampus, whereas the caudal region contains a part of the DG in the dorsal hippocampus and the entire DG in the ventral hippocampus (Banasr et al., 2006).

Doublecortin (DCX) labeling for maturation index study: For doublecortin staining, the procedure consisted of the following steps (David et al., 2009). Sections were rinsed in TBS, treated with 1% H₂O₂ in TBS for 15 min to quench endogenous peroxidase activity (and to enhance dendritic staining), incubated in 10% normal donkey serum and 0.3% Triton X-100 for 30 min, and then incubated overnight at 4°C in primary antibody for DCX (goat;1:500; Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA). The secondary antibody was biotinylated donkey anti-goat (1:500) (Jackson ImmunoResearch, West Grove, PA) in TBS for 2 hr at room temperature. Sections were developed using avidin-biotin complex (Vector, USA) and DAB kit. Bright-field images were taken with an Olympus BX51 (Germany) upright microscope. DCX⁺ cells were subcategorized according to their dendritic morphology (Wang et al., 2008). Effects of chronic agomelatine treatments on the number of DCX-labeled cells were also examined separately in the rostral and caudal hippocampus.

REFERENCES

Banasr M, Soumier A, Hery M, Mocaër E, et al. (2006). Agomelatine, a new antidepressant, induces regional changes in hippocampal neurogenesis. *Biological Psychiatry* **59**, 1087-1096.

-
- Bourin M, Mocaër E, Porsolt R** (2004). Antidepressant-like activity of S 20098 (agomelatine) in the forced swimming test in rodents: involvement of melatonin and serotonin receptors. *Journal of Psychiatry and Neuroscience* **29**, 126-133.
- David DJ, Samuels BA, Rainer Q, Wang JW, et al.** (2009). Neurogenesis-dependent and -independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. *Neuron* **62**, 479-493.
- Dulawa SC, Holick KA, Gundersen B, Hen R** (2004). Effects of chronic fluoxetine in animal models of anxiety and depression. *Neuropsychopharmacology* **29**, 1321-1330.
- Franklin KBJ, Paxinos F** (2007). *The Mouse Brain in Stereotaxic Coordinates, Third Edition*. New York: Elsevier.
- Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, Duman RS** (2000). Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *The Journal of Neuroscience* **20**, 9104-9110.
- Millan MJ, Brocco M, Gobert A, Dekeyne A** (2005). Anxiolytic properties of agomelatine, an antidepressant with melatonergic and serotonergic properties: role of 5-HT_{2C} receptor blockade. *Psychopharmacology* **177**, 448-458.
- Papp M, Gruca P, Boyer PA, Mocaër E** (2003). Effect of agomelatine in the chronic mild stress model of depression in the rat. *Neuropsychopharmacology* **28**, 694-703.
- Wang JW, David DJ, Monckton JE, Battaglia F, et al.** (2008). Chronic fluoxetine stimulates maturation and synaptic plasticity of adult-born hippocampal granule cells. *The Journal of Neuroscience* **28**, 1374-1384.

Article 2

Résultats principaux

La présente étude avait pour but d'étudier les effets comportementaux et neurogéniques de l'agomélatine, un nouvel antidépresseur dans un modèle animal d'anxiété/dépression basé sur l'élévation des concentrations en glucocorticoïdes. Dans cette étude nous montrons que l'agomélatine (10 et 40 mg/kg/jour) et la fluoxétine (18 mg/kg/jour) sont capables de contrer les altérations comportementales induites par une exposition prolongée à la corticostérone dans plusieurs paradigmes comportementaux prédictifs d'un phénotype anxio/dépressif (test du champ ouvert, test de la nouveauté supprimant la faim, splash test). Ce travail confirme l'étude précédente (article 1), dans laquelle nous avons déjà montré qu'un traitement chronique de corticostérone ne modifiait en rien le temps de nage dans le test de la nage forcée. Par contre que ce soit la fluoxétine, ou l'agomélatine, les deux antidépresseurs augmentent bien le temps de nage, confirmant ainsi que le test de la nage forcée doit être utilisé comme test de criblage.

En outre, l'agomélatine et la fluoxétine restaurent le pelage chez les animaux sous corticostérone, un indicateur du phénotype dépressif chez la souris. L'agomélatine se démarque de la fluoxétine, puisque qu'aux deux doses étudiées, elle renforce les différences d'activité locomotrice entre les périodes lumière/obscurité chez les animaux contrôles. En outre, contrairement à la fluoxétine, elle restaure la perturbation du rythme circadien chez les animaux exposés à la corticostérone.

Enfin, afin d'approfondir les mécanismes cellulaires potentiels impliqués dans les effets comportementaux de l'agomélatine, nous avons étudié l'impact de ce traitement ainsi que celui de la fluoxétine sur la neurogenèse hippocampique adulte. Les deux composés sont capables de restaurer la diminution de la prolifération cellulaire provoquée par un traitement chronique à la corticostérone. De plus, l'agomélatine et la fluoxétine sont capables d'augmenter le nombre de cellules DCX-positives avec des dendrites tertiaires chez les animaux traités à la corticostérone, indiquant que ces deux antidépresseurs augmentent l'arborisation dendritique des jeunes neurones.

Enfin, nos résultats montrent que les effets de l'agomélatine sur la maturation des jeunes neurones dans le gyrus dentelé de l'hippocampe adulte de souris traitées sont essentiellement la conséquence d'une augmentation de l'arborisation dendritique au niveau de l'hippocampe ventral.

Ainsi, notre travail a pu montrer que le profil pharmacologique original de l'agomélatine pouvait induire des effets de type anxiolytiques/antidépresseurs dans un nouveau modèle d'anxiété/dépression chez la Souris accompagnés de changements du rythme circadien.

RESULTATS EXPERIMENTAUX

Article 3

**Statut fonctionnel des autorécepteurs somatodendritiques 5-HT_{1A}
après un traitement chronique à la fluoxétine dans un modèle
animal d'anxiété/dépression**

Article 3

Statut Fonctionnel des Autorécepteurs Somatodendritiques 5-HT_{1A} après un Traitement Chronique à la Fluoxétine dans un Modèle Animal d'Anxiété/Dépression

Rainer Q, Nguyen TH, Quesseveur G, Gardier AM, David DJ, Guiard BP

(en préparation)

Résumé

Le phénotype anxieux/dépressif qui résulte de l'administration de corticostérone via l'eau de boisson, est un bon outil pour étudier les liens qui peuvent exister entre les troubles anxio/dépressif, la réponse aux antidépresseurs et le système sérotoninergique.

Le système sérotoninergique et notamment l'un de ses acteurs, le récepteur 5-HT_{1A} est impliqué dans les troubles de l'humeur et la réponse au stress dans plusieurs structures cérébrales, notamment l'hippocampe, le cortex frontal, l'amygdale et l'hypothalamus. Il s'exprime dans ses régions comme hétérorécepteur post synaptique, mais aussi dans les noyaux du raphé en tant qu'autorécepteur somatodendritique où il contrôle l'activité électrique des neurones sérotoninergiques. Le polymorphisme pour une forme allélique du gène codant pour le récepteur 5-HT_{1A} semble être un facteur aggravant pour le développement d'un épisode dépressif. De plus, ce récepteur est aussi impliqué dans la réponse à un traitement aux ISRS.

De manière surprenante, la désensibilisation du récepteur somatodendritique 5-HT_{1A} qui existe après un traitement antidépresseur, est également observé dans les modèles animaux de stress, coïncidant avec l'observation faite sur des animaux possédant des dysfonctions de l'axe HPA.

Dans ce travail, à l'aide de différentes approches ; comportementales, électrophysiologiques et neurochimiques, nous avons voulu établir la nature des changements de sensibilité des autorécepteurs 5-HT_{1A} dans un modèle animal d'anxiété/dépression induit

par l'administration chronique de corticostérone, en présence ou non d'un traitement à la fluoxétine.

Dans ce projet, après avoir induit le phénotype anxio-dépressif des animaux et traités certains d'entre eux par la fluoxétine, j'ai pu évaluer le statut fonctionnel des récepteurs 5-HT1A dans le modèle CORT, en utilisant le test de l'hypothermie induite par l'administration de 8-OHDPAT. En outre, j'ai réalisé les expériences de microdialyse intracérébrale sous la direction du Dr B. Guiard.

ABSTRACT

In clinical and preclinical studies, somatodendritic 5-HT_{1A} autoreceptors have been implicated in mood disorders and their treatments. In particular, an increase in somatodendritic 5-HT_{1A} autoreceptors' density in the dorsal raphe (DR) would attenuate the therapeutic activity of serotonin selective reuptake inhibitors (SSRIs). By contrast, somatodendritic 5-HT_{1A} autoreceptors desensitize after chronic administration of SSRIs. Because somatodendritic 5-HT_{1A} autoreceptor activation inhibits DR 5-HT neuronal activity, this desensitization may promote activation of brain serotonergic transmission, thereby representing an adaptive change relevant to the therapeutic effect of SSRIs. In this study, the effects of a sustained administration of the SSRI fluoxetine (18 mg/kg/28 days; per os) on *in vivo* somatodendritic 5-HT_{1A} autoreceptors' functional activity were assessed in a mice model of anxiety/depression based on corticosterone elevation in the drinking water. In a first set of experiments, the hypothermic response to the 5-HT_{1A} receptor agonist 8-Hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin (8-OHDPAT) was examined. As expected, in both vehicle- and corticosterone-pre-treated mice, fluoxetine markedly attenuated 8-OHDPAT-induced hypothermia, suggesting a functional desensitization of somatodendritic 5-HT_{1A} autoreceptors. However, such a desensitization was more pronounced in corticosterone mice treated with fluoxetine compared to the corresponding group of vehicle mice. To determine whether this change in autoreceptors' sensitivity had an effect on overall serotonergic tone, the firing rate of serotonergic neurons and the extracellular levels of serotonin (5-HT) in the DR were studied. By using *in vivo* intracerebral electrophysiology and microdialysis, we further demonstrated that the desensitization of somatodendritic 5-HT_{1A} autoreceptors induced by fluoxetine was potentiated in corticosterone mice. These changes resulted in a greater firing rate of DR 5-HT neurons in corticosterone mice after fluoxetine treatment compared to the corresponding group of vehicle mice, associated with a trend of increase in basal extracellular levels of 5-HT in the DR. Together, these results indicated that the

capacity of fluoxetine to desensitize somatodendritic 5-HT_{1A} autoreceptors can be enhanced in pathological conditions. This may account for the observation that SSRIs exert their therapeutic effect mainly in depressed patients. These results also raised questions concerning the hypothesis that antidepressants activate (or desensitize) 5-HT_{1A} autoreceptors under non stressed conditions.

Keywords: 5-HT_{1A} receptor; fluoxetine; antidepressant; anxiety / depression; corticosterone; electrophysiology, intracerebral microdialysis, serotonin selective reuptake inhibitor.

INTRODUCTION

Alterations in multiple biological markers are implicated in the neurobiology of depression, based primarily on the characterization of antidepressant efficacy in naïve rodents (Gourley and Taylor, 2009). It would be more appropriate to perform pharmacological studies in animal models that exhibit hallmark characteristics of anxiety and depression. Several animal models of anxiety/depression have thus been developed based on stressful situations such as chronic predictable or unpredictable mild stress (UCMS). Although UCMS has been efficiently used to screen antidepressant activity (Surget et al., 2008; Yalcin et al., 2008; Farley et al., 2010), this animal model is notoriously difficult to repeat consistently in rodents. An intriguing alternative may be to supply mice with exogenous corticosterone (David et al., 2009; Gourley and Taylor, 2009), a hormone produced in the adrenal gland in response to stress, and found to be elevated in several animal models of depression. Interestingly, we have recently reported some of these findings (anhedonia, anxious and depressive-like state) in corticosterone-treated mice (David et al., 2009). An increase in basal plasma cortisol levels is one of the biochemical abnormalities found in depressed patients (Holsboer et al., 2000; Nemeroff, 2005). Since the majority of study investigated the antidepressant-like effects of drugs in "normal", naïve rodents, the corticosterone-treated mice offer a good preclinical pathophysiological model to investigate the interaction between depression, antidepressant response and the serotonergic system.

The serotonin-1A (5-HT_{1A}) receptor sub-type is an inhibitory G protein-coupled receptor expressed in several brain regions involved in mood disorders and stress response such as the frontal cortex, amygdala, hippocampus or hypothalamus (Lesch and Gutknecht, 2004; Sharp et al., 2007). In these brain regions, that receive serotonergic input from the raphe nuclei, 5-HT_{1A} receptors are distributed post-synaptically (Pompeiano et al., 1992; Passchier and van Waarde, 2001), and their activation by endogenous serotonin (5-HT) or selective agonists, produces inhibitory effects (Blier and de Montigny, 1987). For example, activation of 5-HT_{1A} heteroreceptors located on cortical pyramidal neurons inhibits dorsal raphe (DR) 5-HT neuronal activity through a long negative feedback loop (Martin-Ruiz and Ugedo, 2001). In the DR, 5-HT_{1A} receptors are expressed on cell bodies of serotonergic neurons. Studies performed in naive (non depressed) mice, revealed that the activation of these somatodendritic 5-HT_{1A} autoreceptors by selective agonists, reduces the firing rate of serotonergic neurons, the amount of 5-HT released per action potential, and its synthesis (Blier et al., 1987; Richardson-Jones et al., 2010). Imaging studies in humans have suggested decreased 5-HT_{1A} receptor binding in the cortex and hippocampus (Sargent et al., 2000; Arango et al., 2001; Baghawar et al., 2004) but also the DR (Drevets et al., 2007) of depressed patients. Conversely, enhanced radioligand binding of an agonist to inhibitory 5-HT_{1A} autoreceptors in the human DR provided pharmacological evidence to support the hypothesis of diminished activity of serotonin neurons in suicide victims with major depression (Stockmeier et al., 1998). Most recently, a functional polymorphism in the promoter region of the human Htr1a gene was reported (Lemondé et al., 2003). This polymorphism would increase 5-HT_{1A} autoreceptor density in the DR, thus predisposing to depression and attenuating response to antidepressants (Lemondé et al., 2003; Le Francois et al., 2008).

The role of 5-HT_{1A} autoreceptors in the mechanism of action of serotonin selective reuptake inhibitors (SSRIs) was extensively studied (Artigas, 1993). It is believed that an over-activation and/or -expression of 5-HT_{1A} autoreceptors would delay the onset of the therapeutic action of these antidepressants.

Electrophysiological experiments in rodents demonstrated that acute and sub-acute administration of SSRIs reduced the firing rate of DR 5-HT neurons (Blier et al., 1988; Le Poul et al., 1995). When the treatment is prolonged (3 to 4 weeks), a progressive desensitization of 5-HT_{1A} autoreceptors occurs thereby restoring a normal firing rate (Blier et al., 1987, 1988; Chaput et al., 1991) and allowing levels of synaptic 5-HT in the forebrain to rise (Gardier et al., 1996; Popa et al., 2010). Using a new strategy to manipulate somatodendritic 5-HT_{1A} autoreceptors in raphe nuclei without affecting 5-HT_{1A} heteroreceptors, mice with higher (1A-High) or lower (1A-Low) autoreceptor levels have been recently generated (Richardson et al., 2010). 5-HT_{1A}-High mice show blunted behavioral response to fluoxetine, thus establishing a causal relationship between 5-HT_{1A} autoreceptor levels and the response to SSRIs (Richardson et al., 2010).

Surprisingly, despite the importance of somatodendritic 5-HT_{1A} autoreceptors desensitization in the appearance of the therapeutic effects of SSRIs, such functional inactivation was also reported in several animal models of stress including the chronic mild- or ultra-mild stress (Lanfumeij et al., 1999; Froger et al., 2004; Grippo et al., 2005; Bambico et al., 2009), chronic sleep restriction (Evrard et al., 2006; Novati et al., 2008), maternal separation (van Riel 2004) or chronic corticosterone treatment (Gartside et al., 2003). These previous results are consistent with findings showing an attenuation of 5-HT_{1A} receptor functions in a dysregulated hypothalamic-pituitary-adrenocortical (HPA) axis in both animals (Young et al., 1992; Young et al., 1994; Lanfumeij et al., 1999; McAllister-Williams et al., 2001; Fairchild et al., 2003; Leitch et al., 2003; Hensler et al., 2007) and humans (Young et al., 1994; McAllister-Williams et al., 2007). However, these results in animal models of stress have been challenged by recent findings showing that the sensitivity and/or the density 5-HT_{1A} mRNA autoreceptors in the DR was increased in rats or mice models of depression (i.e., learned helplessness), (Greenwood, 2003; El Yacoubi et al., 2003). **Thus modeling stress or depression status in animals leads to distinct changes in 5-HT_{1A} autoreceptors' sensitivity**, suggesting that impact of SSRIs on

the functional status of 5-HT_{1A} autoreceptors in these animal models has yet to be determined.

In this context, the present study combined behavioral, electrophysiological and neurochemical approaches to determine the nature of changes in 5-HT_{1A} autoreceptors sensitivity in the mice model of anxiety/depression exposed to a chronic administration corticosterone given either alone or in combination with the SSRI fluoxetine. Such data may help shed light on the fact that SSRIs are specifically effective in depressed patients but not in healthy volunteers (Serretti et al., 2010).

EXPERIMENTAL PROCEDURES

Animals.

Adult male C57BL/6J mice were purchased from Elevage Janvier (Le Genest St. Isle, France). All corticosterone treated mice were 7-8 weeks old and weighed 20-24 grs at the beginning of the treatment, and were maintained on a 12L:12D schedule (lights on at 06:00 a.m.) and housed in groups of five. Food and water were provided *ad libitum*. Behavioral testing occurred during the light phase between 09:00 a.m. and 05:00 p.m.. Separated groups were used to assess the behavioral, electrophysiological and neurochemical studies. All testing were conducted in compliance with protocols approved by the Institutional Animal Care and Use Committee (Council directive #87-848, October 19, 1987, Ministère de l'Agriculture et de la Forêt, Service Vétérinaire de la Santé et de la Protection Animale, permissions #92-256 to D.J.David).

Drugs.

Corticosterone (35 µg/ml/day, equivalent 5 mg/kg/day) or vehicle (0.45% β-cyclodextrine, β-CD), available *ad libitum* in the drinking water, was delivered alone during 4 weeks. Thereafter, while administration of β-CD or corticosterone continued, mice were treated either with the vehicle (drinking water) or fluoxetine (18 mg/kg) dissolved in the drinking water for 28 days. 8-Hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin (8-OHDPAT) hydrobromide and (N- (2-[4 (2- methoxyphenyl)- 1- piperazinyl] ethyl)- N- (2- pyridinyl) cyclohexanecarboxamide tri-hydrochloride (WAY100635) were obtained from Sigma (L'Isle d'Abeau, France) and dissolved in saline solution (NaCl ,0.9%). Both pharmacological compounds were administrated

subcutaneously at the doses of 100-300 µg/kg and 300 µg/kg; respectively.

Body temperature was assessed intrarectally, using a lubricated probe (BIO-BRET-3) inserted approximately 2 cm and a monitored (BIO-TK9882, BIOSEB, Vitrolles, France). Three baseline body temperature measurements were taken to control that stress induces hyperthermia according to Trillat et al., 1998. Ten minutes after the third baseline measurement, animals received 8-OHDPAT subcutaneously (100 µg/kg) and body temperature was measured 10 min after the injection.

In vivo electrophysiology. Mice were anesthetized with chloral hydrate (400 mg/kg; i.p) and placed in a stereotaxic frame (using the David Kopf mouse adaptor) with the skull positioned horizontally. To maintain a full anesthetic, chloral hydrate intraperitoneal supplements of 100 mg/kg were given as needed. The extracellular recordings were carried out using single glass micropipettes (R&D Scientific Glass, Spencerville, MD) for recordings in the DR. Micropipettes were preloaded with fiberglass strands to promote capillary filling with a 2 M NaCl solution.

Recording of DR 5-HT neurons. Single glass micropipettes pulled on a Narishige pipette puller (Tokyo, Japan) with impedances ranging from 2.5 to 5 mΩ, were positioned 0.2 to 0.5 mm posterior to the interaural line on the midline and lowered into the DR, usually attained at a depth of between 2.5 and 3.5 mm from the brain surface (Franklin and Paxinos, 1997). The DR 5-HT neurons were then identified according using the following criteria: a slow (0.5–2.5 Hz) and regular firing rate and a long duration, positive action potential (Aghajanian and Vandermaelen, 1982). The total number of spontaneously active 5-HT neurons and their firing rates were determined by monitoring their average discharge frequency. In each mouse, several tracts were performed to measure the spontaneous firing rate of DR 5-HT neurons. At the end of the experiment, only one neuron was studied with a given drug. WAY100635 was used to reverse the suppressant effect of 8-OHDPAT on the firing activity of DR 5-HT neurons. Cumulative doses of the selective 5-HT_{1A} receptor agonist 8-OHDPAT (100-300 µg/kg; sc) was administered assess the functional activity of somatodendritic 5-HT_{1A} autoreceptor. Changes in the firing activity are expressed as percentages of baseline firing rate.

In vivo microdialysis. Concentric dialysis probes were made of cuprophane fibres and set up as described previously (Malagie et al. 1996). All probes presented an active length of 2 and 1 mm for the ventral hippocampus and the dorsal raphe

nucleus, respectively. Animals were anaesthetized with chloral hydrate (400 mg/kg, i.p.). They were placed in a stereotaxic frame and were implanted with a probe according to the 'Mouse brains' atlas (Hoff et al., 2000): coordinates from Bregma (in mm), the ventral hippocampus: anterior, -2.8; lateral, 3; ventral, 4; the dorsal raphe nucleus: anterior, - 4.5; lateral, 0; ventral; 3. Animals were allowed to recover from surgery overnight. The next day, ~20 h after the surgery, the probes were continuously perfused with artificial CSF (composition in mmol/L: NaCl 147, KCl 3.5, CaCl₂ 1.26, MgCl₂ 1.2, NaH₂PO₄ 1.0, pH 7.4 ± 0.2) at a flow rate of 1.5 µl/min in the ventral hippocampus and 0.5 µl/min in the dorsal raphe nucleus using CMA/100 pump (Carnegie Medicin, Stockholm, Sweden). The 5-HT transporter was blocked in the ventral hippocampus by a local continuous perfusion of escitalopram (0.5 µmol/L) increasing artificially the 5-HT levels to detect a possible reduction. Dialysates were collected every 15 min for the ventral hippocampus and every 30 min for the dorsal raphe nucleus in small Eppendorf tubes for the measurements of their 5-HT contents ([5-HT]_{ext}) using a high performance liquid chromatography (HPLC) system according to Guiard et al., 2005. Eight fractions were collected to measure basal values (means ± SEM) before systemic administration of the 8-OHDPAT (100 µg/kg; s.c.). The limit of sensitivity for [5-HT]_{ext} was 0.5 fmol per sample (signal-to-noise ratio : 2). At the end of the experiments, the placement of microdialysis probes was verified histologically according to Bert et al (2004).

Data analysis and statistics.

Results from data analyses were expressed as mean ± SEM of body temperature (behavior), of DR 5-HT firing rate (electrophysiology) and 5-HT dialysate samples (neurochemistry). Two-way ANOVAs (with repeated measures for behavioral studies) were applied for the statistical analyzes of the data with pre-treatment (vehicle vs corticosterone) and treatment (vehicle vs fluoxetine) as main factors. In all cases, when appropriate, pairwise comparisons were performed using the Protected at Least Significance (PLSD) post-hoc test using the computer software Stat-View 5.0. Accepted level of significance was set at $p \leq 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Because 5-HT_{1A} autoreceptor is a key component in the regulation of serotonergic neurotransmission, the present study examined its functional status after chronic administration of corticosterone and fluoxetine given either alone or in combination.

In mice, 8-OHDPAT-induced hypothermia is mediated by 5-HT_{1A} autoreceptors (Richardson et al., 2010). We used this response in order to assess the functional status of 5-HT_{1A} autoreceptors in vehicle (controls) and corticosterone mice treated with either vehicle or fluoxetine (18 mg/kg/28 days; per os). A two-way ANOVA on body temperature revealed a significant effect of pre-treatment [$F(1,36)=15.0$, $p<0.001$] and treatment factors [$F(1,36)=57.8$, $p<0.001$]. In agreement with previous observations in mice (David et al., 2009), administration of 8-OHDPAT (100 µg/kg; s.c.), significantly decreased the body temperature of vehicle- and corticosterone-pre-treated mice (Figure 1). Nevertheless, the capacity of 8-OHDPAT to produce hypothermia was less pronounced in corticosterone-pre-treated mice suggesting a functional desensitization of 5-HT_{1A} autoreceptors. Such results were consistent with initial studies showing that maternal separation or chronic unpredictable stress in rats (Laaris et al., 1995; Gartside et al., 2003; Bambico et al., 2009), but also chronic ultramild stress in mice (Lanfumei et al., 1999; Froger et al., 2004), induced reduction in 5-HT_{1A} autoreceptor sensitivity. Interestingly, when fluoxetine was given for 28 days, the hypothermic response to 8-OHDPAT was also significantly attenuated in vehicle- and completely blunted in corticosterone-pre-treated mice (Figure 1). These results pointed out a robust functional desensitization of 5-HT_{1A} autoreceptors in both groups but with a greater effect in corticosterone/fluoxetine treated mice.

To further confirm the possibility that the effects of fluoxetine on 5-HT_{1A} autoreceptors' sensitivity were potentiated in corticosterone-pre-treated mice, we examined the potency of 8-OHDPAT (100-300 µg/kg; sc) to inhibit the firing activity of DR 5-HT neurons. In the DR, all 5-HT neurons tested were inhibited, in a dose-dependent manner by 8-OHDPAT, this inhibition being reversed by the administration

of the selective 5-HT_{1A} receptor antagonist WAY 100635 (300 µg/kg; sc). A two-way ANOVA on the percentage of inhibition of basal 5-HT firing rates induced by 8-OHDPAT, revealed a significant effect of pre-treatment [$F(1,29)=7.2$, $p<0.01$] and treatment factors [$F(1,31)=9.7$, $p<0.01$]. As expected from the above-mentioned behavioral data, 8-OHDPAT was less potent in suppressing 5-HT neuronal firing activity in corticosterone/vehicle compared to vehicle/vehicle mice (ED₅₀ were 205 and 110 µg/kg, respectively; Figures 2A-E). These data concurred with previous *ex vivo* electrophysiological studies reporting a functional desensitization of 5-HT_{1A} autoreceptors in rats submitted to a chronic unpredictable stress (Lanfumei et al., 1999; Froger et al., 2004). In addition, as illustrated in Figure 2A, when fluoxetine was given for 28 days, 8-OHDPAT-suppressed DR 5-HT neuronal activity was significantly lower in corticosterone compared to vehicle-pre-treated mice. Having established that the potency of fluoxetine to desensitize 5-HT_{1A} autoreceptors was enhanced in pathological conditions (i.e., in corticosterone-pre-treated mice), we then determined whether this adaptive change influenced the basal firing rate and the number of spontaneously active 5-HT neurons in the DR. A two-way ANOVA on the basal firing rate of DR 5-HT neurons revealed a significant effect of pre-treatment [$F(1,186)=3.6$, $p<0.05$] and treatment factors [$F(1,186)=28.5$, $p<0.001$]. Figures 2F-G showed that the mean firing activity of DR 5-HT neurons was similar between non-corticosterone and corticosterone mice (1.8 ± 0.1 Hz and 2.1 ± 0.1 Hz; $p>0.05$, respectively). This stands in contrast with recent data reporting that the mean spontaneous single-spike firing rate of 5-HT neurons in rats submitted to chronic unpredictable stress was lower than that of the control group. Nevertheless, our results concur with data reporting that the basal firing rate of DR 5-HT neurons was unaffected by chronic corticosterone treatment despite the desensitization of 5-HT_{1A} autoreceptors (Fairchild et al., 2003). It thus appears that the degree of stress may play a major role in the regulation of DR 5-HT neuronal activity. Consistent with this hypothesis, Bambico et al. (2009) reported that although chronic unpredictable stress reduced the firing rate of

DR 5-HT neurons, acute restraint stress failed to do so. In the present study, the observation that the basal DR 5-HT neurons firing rate was not altered in corticosterone mice despite the desensitization of 5-HT_{1A} autoreceptors may be attributable to the lack of tonic activation of these autoreceptors *in vivo* (Bortolozzi et al., 2004, Guilloux et al., 2006), and that this lack of auto-inhibitory tone concealed any effects of corticosterone treatment on firing rate of DR 5-HT neurons. After 28 days of treatment with fluoxetine, a significant decrease in the firing activity of 5-HT neurons was observed in corticosterone- (1.1 ± 0.1 Hz), but was no longer present in vehicle-pre-treated mice (2.3 ± 0.2 Hz) when compared to corticosterone/vehicle and vehicle/vehicle groups of mice; respectively (Figures 2F-G). Thus, the recovery of DR 5-HT neuronal activity was more complete in corticosterone/fluoxetine than in the vehicle/fluoxetine-treated mice. This is somewhat surprising since evidence suggest that a 3 weeks administration of escitalopram was sufficient to produce a complete recovery in DR 5-HT neuronal activity in mice (Guiard et al., 2010: submitted). This could be due to the strong selectivity of escitalopram vs fluoxetine towards the 5-HT transporter (Owens et al., 2001). Interestingly, this recovery in firing rate, returned here to baseline after 28 days of fluoxetine treatment in corticosterone-pre-treated. Thus, one of the most remarkable results obtained herein is the observation that the combination of both agents produced additional effects allowing 5-HT neurons to regain their baseline more rapidly when it has been first sensitized (or activated) by the elevated corticosterone levels. This result is in agreement with the complete desensitization of somatodendritic 5-HT_{1A} autoreceptors found in the present study and suggests that pathological conditions are necessary for fluoxetine to produce its optimal electrophysiological effects. With respect to the number of spontaneous active DR 5-HT neurons, two-way ANOVA revealed no significant effect of pre-treatment [$F(1,13)=1.1$, $p>0.05$] and treatment [$F(1,15)=0.7$, $p>0.05$] factors. The number of neurons recorded per electrode descent is known as a valid, indirect index of the percentage of neurons that are spontaneously discharging (active) during *in vivo*

electrophysiological recordings (Bunney and Grace, 1978; Lodge and Grace, 2006; Bambico et al., 2007). Nevertheless, it was shown in the present study that the number of spontaneously active DR 5-HT neurons was not modified either by corticosterone and/or fluoxetine (Table 1).

Having observed electrophysiological differences between vehicle/fluoxetine and corticosterone/fluoxetine groups of mice treated on the spontaneous firing rate and sensitivity of 5-HT_{1A} autoreceptors, we next asked how these differences were reflected at the neurochemical level? We performed *in vivo* microdialysis at somatodendritic level (i.e., in the DR). In agreement with the differences in DR firing between vehicle- and corticosterone-pre-treated mice, an increase in basal extracellular levels of 5-HT in the DR was observed compared to vehicle-pre-treated mice (Figure 3). This is consistent also with initial microdialysis data showing that the basal cortical extracellular levels of 5-HT were elevated in the chronic corticosterone-treated group (Gartside et al., 2003). In addition, our preliminary data showed a trend of increase in basal extracellular level of 5-HT in the DR of corticosterone/fluoxetine mice compared to vehicle/fluoxetine treated mice suggesting that this high level of 5-HT in the vicinity of 5-HT cell bodies participated, at least in part, in attenuating the functional activity of 5-HT_{1A} autoreceptors a previously reported (Guiard et al., 2005). However, our neurochemical data in mice contrast with the observation that sustained administration of fluoxetine in rats significantly decreased corticosterone-induced increase in cortical extracellular levels of 5-HT (Gartside et al., 2003). Therefore, although the nature of the effect of corticosterone (alone or in combination of fluoxetine) on extracellular levels of 5-HT may depend on the brain region studied, the mechanism by which SSRI potentiated the effect behavioral, electrophysiological and neurochemical effects of chronic administration of corticosterone on 5-HT_{1A} autoreceptors' sensitivity needs to be further investigated.

CONCLUSIONS

5-HT_{1A} autoreceptors' desensitization in corticosterone-treated mice is difficult to interpret since both pathological and

therapeutic conditions result in a similar effect. Nevertheless the present results do not necessarily suggest that SSRIs and corticosterone desensitized these autoreceptors through a similar mechanism. Several hypotheses may explain that corticosterone enhanced the ability of SSRIs to desensitize somatodendritic 5-HT_{1A} autoreceptors and therefore to stimulate brain serotonergic transmission. It is possible that either a decrease in 5-HT reuptake accounted for the effects observed herein. In line with this hypothesis, it was shown that corticosterone blocks the reuptake of 5-HT through low-affinity monoamine transporters such as organic cation transporter (OCT3) (Baganz et al., 2010). With respect to the SERT, there are few data available on the effects of glucocorticoids on the 5-HT transporter. Interestingly, a down-regulation of SERT has been described recently in response to SSRI and the glucocorticoid receptor (GR) antagonist (Org 34850) (Jonhson et al., 2009). An increase in 5-HT release is also possible. Nevertheless, although it was proposed that SSRI produced a marked desensitization of terminal 5-HT_{1B} autoreceptors, it appeared that corticosterone produced opposite effects (Gur et al., 2001). A more likely mechanism underlying increased 5-HT release would be an increase in the activity of tryptophan hydroxylase, an enzyme that has been shown previously to be increased by high corticosterone and stress (Rastogi and Singhal, 1978; Culman et al., 1984). Another possibility would be that corticosterone controls the expression of somatodendritic 5-HT_{1A} autoreceptors. Consistent with this hypothesis, *in situ* hybridization studies and immunocytochemical studies in the DR have revealed the presence of GR mRNA or protein (Morimoto et al., 1996) specifically within 5-HT cell bodies (H r fstrand et al., 1986). In addition, it has been reported that the 5-HT_{1A} receptor gene includes a GRE (Ou et al., 2001) raising the possibility suggesting that corticosterone might have desensitized somatodendritic autoreceptors through this mechanism, independently to an increase in extracellular 5-HT levels in the DR as observed after sustained administration of SSRIs (Bel and Artigas, 1993; Guiard et al., 2005). Interestingly, *in situ* hybridization histochemistry showed that corticosterone

significantly reduced the expression of mRNA encoding type 2, but not type 1 or type 3, of the G-protein linked inwardly rectifying K⁺ (GIRK) channel (Fairchild et al., 2003) suggesting that the desensitization of somatodendritic 5-HT_{1A} autoreceptors induced by corticosterone induced an alteration in their coupling to G-protein. Finally, it is possible that the noradrenergic system was involved in the effect of corticosterone.

REFERENCES

- Aghajanian GK and Vandermaelen CP (1982) Intracellular identification of central noradrenergic and serotonergic neurons by a new double labeling procedure. *J Neurosci* **2**(12):1786-1792.
- Arango V, Underwood MD, Boldrini M, Tamir H, Kassir SA, Hsiung S, Chen JJ and Mann JJ (2001) Serotonin 1A receptors, serotonin transporter binding and serotonin transporter mRNA expression in the brainstem of depressed suicide victims. *Neuropsychopharmacology* **25**(6):892-903.
- Artigas F (1993) 5-HT and antidepressants: new views from microdialysis studies. *Trends Pharmacol Sci* **14**(7):262.
- Baganz N, Horton R, Martin K, Holmes A and Daws LC (2010) Repeated swim impairs serotonin clearance via a corticosterone-sensitive mechanism: organic cation transporter 3, the smoking gun. *J Neurosci* **30**(45):15185-15195.
- Bambico FR, Katz N, Debonnel G and Gobbi G (2007) Cannabinoids elicit antidepressant-like behavior and activate serotonergic neurons through the medial prefrontal cortex. *J Neurosci* **27**(43):11700-11711.
- Bambico FR, Nguyen NT and Gobbi G (2009) Decline in serotonergic firing activity and desensitization of 5-HT_{1A} autoreceptors after chronic unpredictable stress. *Eur Neuropsychopharmacol* **19**(3):215-228.
- Bel N and Artigas F (1993) Chronic treatment with fluvoxamine increases extracellular serotonin in frontal cortex but not in raphe nuclei. *Synapse* **15**(3):243-245.
- Bert L, Favale D, J go G, Greve P, Guilloux JP, Guiard BP, Gardier AM, Suaud-Chagny MF and Lestage P (2004) Rapid and precise method to locate microdialysis probe implantation in the rodent brain. *J Neurosci Methods* **140**(1-2):53-57.
- Bhagwagar Z, Rabiner EA, Sargent PA, Grasby PM and Cowen PJ (2004) Persistent reduction in brain serotonin 1A receptor binding is recovered depressed men measured by positron emission tomography with [¹¹C]WAY-100635. *Mol Psychiatry* **9**(4):386-392.
- Blier P and de Montigny C (1987) Modification of 5-HT neuron properties by sustained administration of the 5-HT_{1A} agonist gepirone: electrophysiological

- studies in the rat brain. *Synapse* **1**(5):470-480.
- Blier P, de Montigny C and Chaput Y (1988) Electrophysiological assessment of the effects of antidepressant treatments on the efficacy of 5-HT_{1A} neurotransmission. *Clin Neuropharmacol* **11** Suppl 2:S1-10.
- Bortolozzi A, Amargos-Bosch M, Toth M, Artigas F and Adell A (2004) In vivo efflux of serotonin in the dorsal raphe nucleus of 5-HT_{1A} receptor knockout mice. *J Neurochem* **88**(6):1373-1379.
- Bunney BS and Grace AA (1978) Acute and chronic haloperidol treatment: comparison of effects on nigral dopaminergic cell activity. *Life Sci* **23**(16):1715-1727.
- Chaput Y, de Montigny C and Blier P (1991) Presynaptic and postsynaptic modifications of the serotonin system by long-term administration of antidepressant treatments. An in vivo electrophysiologic study in the rat. *Neuropsychopharmacology* **5**(4):219-229.
- Culman J, Murgas K, Torda T and Mitro A (1978) [Dynamics of serotonin level changes in the hypothalamus, septum, and amygdala in rats under stress (author's transl)]. *Bratisl Lek Listy* **70**(4):465-470.
- David DJ, Samuels BA, Rainer Q, Wang JW, Marsteller D, Mendez I, Drew M, Craig DA, Guiard BP, Guilloux JP, Artymyshyn RP, Gardier AM, Gerald C, Antonijevic IA, Leonardo ED and Hen R (2009) Neurogenesis-dependent and -independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. *Neuron* **62**(4):479-493.
- Drevets WC, Thase ME, Moses-Kolko EL, Price J, Frank E, Kupfer DJ and Mathis C (2007) Serotonin-1A receptor imaging in recurrent depression: replication and literature review. *Nucl Med Biol* **34**(7):865-877.
- El Yacoubi M, Bouali S, Popa D, Naudon L, Leroux-Nicollet I, Hamon M, Costentin J, Adrien J and Vaugeois JM (2003) Behavioral, neurochemical, and electrophysiological characterization of a genetic mouse model of depression. *Proc Natl Acad Sci U S A* **100**(10):6227-6232.
- Evrard A, Barden N, Hamon M and Adrien J (2006) Glucocorticoid receptor-dependent desensitization of 5-HT_{1A} autoreceptors by sleep deprivation: studies in GR-1 transgenic mice. *Sleep* **29**(1):31-36.
- Fairchild G, Leitch MM and Ingram CD (2003) Acute and chronic effects of corticosterone on 5-HT_{1A} receptor-mediated autoinhibition in the rat dorsal raphe nucleus. *Neuropharmacology* **45**(7):925-934.
- Farley S, Apazoglou K, Witkin JM, Giros B and Tzavara ET (2010) Antidepressant-like effects of an AMPA receptor potentiator under a chronic mild stress paradigm. *Int J Neuropsychopharmacol* **13**(9):1207-1218.
- Froger N, Palazzo E, Boni C, Hanoun N, Saurini F, Joubert C, Dutriez-Casteloot I, Enache M, Maccari S, Barden N, Cohen-Salmon C, Hamon M and Harfstrand A (2004) Neurochemical and behavioral alterations in glucocorticoid receptor-impaired transgenic mice after chronic mild stress. *J Neurosci* **24**(11):2787-2796.
- AM, Malagie I, Trillat AC, Jacquot C and Artigas F (1996) Role of 5-HT_{1A} autoreceptors in the mechanism of action of serotonergic antidepressant drugs: recent findings from in vivo microdialysis studies. *Fundam Clin Pharmacol* **10**(1):16-27.
- Gartside SE, Leitch MM and Young AH (2003) Altered glucocorticoid rhythm attenuates the ability of a chronic SSRI to elevate forebrain 5-HT: implications for the treatment of depression. *Neuropsychopharmacology* **28**(9):1572-1578.
- Gould E (1999) Serotonin and hippocampal neurogenesis. *Neuropsychopharmacology* **21**(2 Suppl):46S-51S.
- Gourley SL, Kedves AT, Olausson P and Taylor JR (2009) A history of corticosterone exposure regulates fear extinction and cortical NR2B, GluR2/3, and BDNF. *Neuropsychopharmacology* **34**(3):707-716.
- Greenwood BN, Foley TE, Day HE, Campisi J, Hammack SH, Campeau S, Maier SF and Fleshner M (2003) Free-wheel running prevents learned helplessness/behavioral depression: role of dorsal raphe serotonergic neurons. *J Neurosci* **23**(7):2889-2898.
- AJ, Sullivan NR, Damjanoska KJ, Crane JW, Carrasco GA, Shi J, Chen Z, Garcia F, Muma NA and Van de Kar LD (2005) Chronic mild stress induces behavioral and physiological changes, and may alter serotonin 1A receptor function, in male and cycling female rats. *Psychopharmacology (Berl)* **179**(4):769-780.
- Guiard BP, Froger N, Hamon M, Gardier AM and Lanfumey L (2005) Sustained pharmacological blockade of NK1 substance P receptors causes functional desensitization of dorsal raphe 5-HT_{1A} autoreceptors in mice. *J Neurochem* **95**(6):1713-1723.
- Guiard BP, El Mansari M, Murphy DL, Blier P (2010) Altered response to escitalopram in heterozygous mice for the serotonin transporter: a combined in vivo electrophysiologic and neurochemical study. *Int J Neuropsychopharmacol* (submitted January 2011).
- JP, David DJ, Guiard BP, Chenu F, Reperant C, Toth M, Bourin M and Gardier AM (2006) Blockade of 5-HT_{1A} receptors by (+/-)-pindolol potentiates cortical 5-HT outflow, but not antidepressant-like activity of paroxetine: microdialysis and behavioral approaches in 5-HT_{1A} receptor knockout mice. *Neuropsychopharmacology* **31**(10):2162-2172.
- Dremencov E, Lerer B and Newman ME (2001) Functional effects of corticosterone on 5-HT(1A) and 5-HT(1B) receptor activity in rat brain: in vivo microdialysis studies. *Eur J Pharmacol* **411**(1-2):115-122.
- A, Fuxe K, Cintra A, Agnati LF, Zini I, Wikstrom AC, Okret S, Yu ZY, Goldstein M,

- Steinbusch H and et al. (1986) Glucocorticoid receptor immunoreactivity in monoaminergic neurons of rat brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* **83**(24):9779-9783.
- Hensler JG, Advani T and Monteggia LM (2007) Regulation of serotonin-1A receptor function in inducible brain-derived neurotrophic factor knockout mice after administration of corticosterone. *Biol Psychiatry* **62**(5):521-529.
- Holsboer F (2000) The corticosteroid receptor hypothesis of depression. *Neuropsychopharmacology* **23**(5):477-501.
- Johnson DA, Ingram CD, Grant EJ, Craighead M and Gartside SE (2009) Glucocorticoid receptor antagonism augments fluoxetine-induced downregulation of the 5-HT transporter. *Neuropsychopharmacology* **34**(2):399-409.
- Laaris N, Haj-Dahmane S, Hamon M and Lanfumey L (1995) Glucocorticoid receptor-mediated inhibition by corticosterone of 5-HT1A autoreceptor functioning in the rat dorsal raphe nucleus. *Neuropharmacology* **34**(9):1201-1210.
- Lanfumey L, Pardon MC, Laaris N, Joubert C, Hanoun N, Hamon M and Cohen-Salmon C (1999) 5-HT1A autoreceptor desensitization by chronic ultramild stress in mice. *Neuroreport* **10**(16):3369-3374.
- Le Francois B, Czesak M, Steubl D and Albert PR (2008) Transcriptional regulation at a HTR1A polymorphism associated with mental illness. *Neuropharmacology* **55**(6):977-985.
- Le Poul E, Laaris N, Doucet E, Laporte AM, Hamon M and Lanfumey L (1995) Early desensitization of somato-dendritic 5-HT1A autoreceptors in rats treated with fluoxetine or paroxetine. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* **352**(2):141-148.
- Leitch MM, Ingram CD, Young AH, McQuade R and Gartside SE (2003) Flattening the corticosterone rhythm attenuates 5-HT1A autoreceptor function in the rat: relevance for depression. *Neuropsychopharmacology* **28**(1):119-125.
- Lemond S, Turecki G, Bakish D, Du L, Hrdina PD, Bown CD, Sequeira A, Kushwaha N, Morris SJ, Basak A, Ou XM and Albert PR (2003) Impaired repression at a 5-hydroxytryptamine 1A receptor gene polymorphism associated with major depression and suicide. *J Neurosci* **23**(25):8788-8799.
- Lesch KP and Gutknecht L (2004) Focus on The 5-HT1A receptor: emerging role of a gene regulatory variant in psychopathology and pharmacogenetics. *Int J Neuropsychopharmacol* **7**(4):381-385.
- Lodge DJ and Grace AA (2006) The laterodorsal tegmentum is essential for burst firing of ventral tegmental area dopamine neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A* **103**(13):5167-5172.
- Malagie I, Trillat AC, Douvier E, Anmella MC, Dessalles MC, Jacquot C and Gardier AM (1996) Regional differences in the effect of the combined treatment of WAY 100635 and fluoxetine: an in vivo microdialysis study. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol* **354**(6):785-790.
- Martin-Ruiz R and Ugedo L (2001) Electrophysiological evidence for postsynaptic 5-HT(1A) receptor control of dorsal raphe 5-HT neurones. *Neuropharmacology* **41**(1):72-78.
- McAllister-Williams RH, Anderson AJ and Young AH (2001) Corticosterone selectively attenuates 8-OH-DPAT-mediated hypothermia in mice. *Int J Neuropsychopharmacol* **4**(1):1-8.
- McAllister-Williams RH, Massey AE and Fairchild G (2007) Repeated cortisol administration attenuates the EEG response to buspirone in healthy volunteers: evidence for desensitization of the 5-HT1A autoreceptor. *J Psychopharmacol* **21**(8):826-832.
- Morimoto M, Morita N, Ozawa H, Yokoyama K and Kawata M (1996) Distribution of glucocorticoid receptor immunoreactivity and mRNA in the rat brain: an immunohistochemical and in situ hybridization study. *Neurosci Res* **26**(3):235-269.
- Nemeroff CB and Vale WW (2005) The neurobiology of depression: inroads to treatment and new drug discovery. *J Clin Psychiatry* **66** Suppl 7:5-13.
- Novati A, Roman V, Cetin T, Hagevoud R, den Boer JA, Luiten PG and Meerlo P (2008) Chronically restricted sleep leads to depression-like changes in neurotransmitter receptor sensitivity and neuroendocrine stress reactivity in rats. *Sleep* **31**(11):1579-1585.
- Ou XM, Storring JM, Kushwaha N and Albert PR (2001) Heterodimerization of mineralocorticoid and glucocorticoid receptors at a novel negative response element of the 5-HT1A receptor gene. *J Biol Chem* **276**(17):14299-14307.
- Owens MJ, Knight DL and Nemeroff CB (2001) Second-generation SSRIs: human monoamine transporter binding profile of escitalopram and R-fluoxetine. *Biol Psychiatry* **50**(5):345-350.
- Passchier J and van Waarde A (2001) Visualisation of serotonin-1A (5-HT1A) receptors in the central nervous system. *Eur J Nucl Med* **28**(1):113-129.
- Pompeiano M, Palacios JM and Mengod G (1992) Distribution and cellular localization of mRNA coding for 5-HT1A receptor in the rat brain: correlation with receptor binding. *J Neurosci* **12**(2):440-453.
- Popa D, Cerdan J, Reperant C, Guiard BP, Guilloux JP, David DJ and Gardier AM (2010) A longitudinal study of 5-HT outflow during chronic fluoxetine treatment using a new technique of chronic microdialysis in a highly emotional mouse strain. *Eur J Pharmacol* **628**(1-3):83-90.
- Rastogi RB and Singhal RL (1978) Evidence for the role of adrenocortical hormones in the regulation of noradrenaline and dopamine metabolism in certain brain areas. *Br J Pharmacol* **62**(1):131-136.
- Richardson-Jones JW, Craig CP, Guiard BP, Stephen A, Metzger KL, Kung HF, Gardier AM, Dranovsky A, David DJ, Beck SG, Hen R and Leonardo ED (2010) 5-HT1A autoreceptor levels determine vulnerability to stress and response to

- antidepressants. *Neuron* **65**(1):40-52.
- Sargent PA, Kjaer KH, Bench CJ, Rabiner EA, Messa C, Meyer J, Gunn RN, Grasby PM and Cowen PJ (2000) Brain serotonin_{1A} receptor binding measured by positron emission tomography with [¹¹C]WAY-100635: effects of depression and antidepressant treatment. *Arch Gen Psychiatry* **57**(2):174-180.
- Serretti A, Calati R, Goracci A, Di Simplicio M, Castrogiovanni P and De Ronchi D (2010) Antidepressants in healthy subjects: what are the psychotropic/psychological effects? *Eur Neuropsychopharmacol* **20**(7):433-453.
- Sharp T, Boothman L, Raley J and Queree P (2007) Important messages in the 'post': recent discoveries in 5-HT neurone feedback control. *Trends Pharmacol Sci* **28**(12):629-636.
- Stockmeier CA, Shapiro LA, Dilley GE, Kolli TN, Friedman L and Rajkowska G (1998) Increase in serotonin-1A autoreceptors in the midbrain of suicide victims with major depression-postmortem evidence for decreased serotonin activity. *J Neurosci* **18**(18):7394-7401.
- Surget A, Wang Y, Leman S, Ibarguen-Vargas Y, Edgar N, Griebel G, Belzung C and Sibille E (2009) Corticolimbic transcriptome changes are state-dependent and region-specific in a rodent model of depression and of antidepressant reversal. *Neuropsychopharmacology* **34**(6):1363-1380.
- Trillat AC, Malagie I, Bourin M, Jacquot C, Hen R and Gardier AM (1998) [Homozygote mice deficient in serotonin 5-HT_{1B} receptor and antidepressant effect of selective serotonin reuptake inhibitors]. *C R Seances Soc Biol Fil* **192**(6):1139-1147.
- van Riel E, van Gemert NG, Meijer OC and Joels M (2004) Effect of early life stress on serotonin responses in the hippocampus of young adult rats. *Synapse* **53**(1):11-19.
- Yalcin I, Belzung C and Surget A (2008) Mouse strain differences in the unpredictable chronic mild stress: a four-antidepressant survey. *Behav Brain Res* **193**(1):140-143.
- Young AH, Goodwin GM, Dick H and Fink G (1994) Effects of glucocorticoids on 5-HT_{1A} presynaptic function in the mouse. *Psychopharmacology (Berl)* **114**(2):360-364.
- Young AH, MacDonald LM, St John H, Dick H and Goodwin GM (1992) The effects of corticosterone on 5-HT receptor function in rodents. *Neuropharmacology* **31**(5):433-438.
- Young AH, Sharpley AL, Campling GM, Hockney RA and Cowen PJ (1994) Effects of hydrocortisone on brain 5-HT function and sleep. *J Affect Disord* **32**(2):139-146.

Figure 1

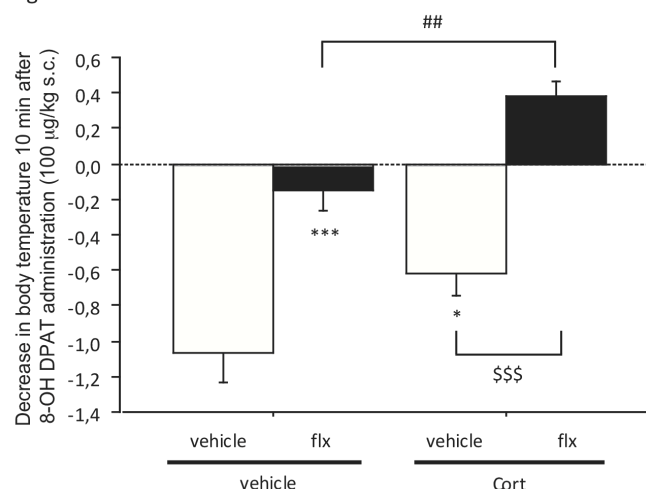


FIGURE 1: Effect of sustained corticosterone ± fluoxetine on 8-OHDPAT-induced hypothermia. Body temperature was assessed ten minutes after administration of 8-OHDPAT (100 µg/kg, s.c.) in corticosterone and non-corticosterone mice treated with fluoxetine (18 mg/kg/28days; po). Data are means ± SEM body temperature in degree Celsius (n=9-10 mice per treatment group). * $p < 0.05$; *** $p < 0.001$, significantly different from body temperature decrease in vehicle/vehicle mice. ## $p < 0.01$, significantly different from the group of non-corticosterone mice treated with fluoxetine. \$\$\$ $p < 0.001$, significantly different from the group of corticosterone mice.

Figure 2

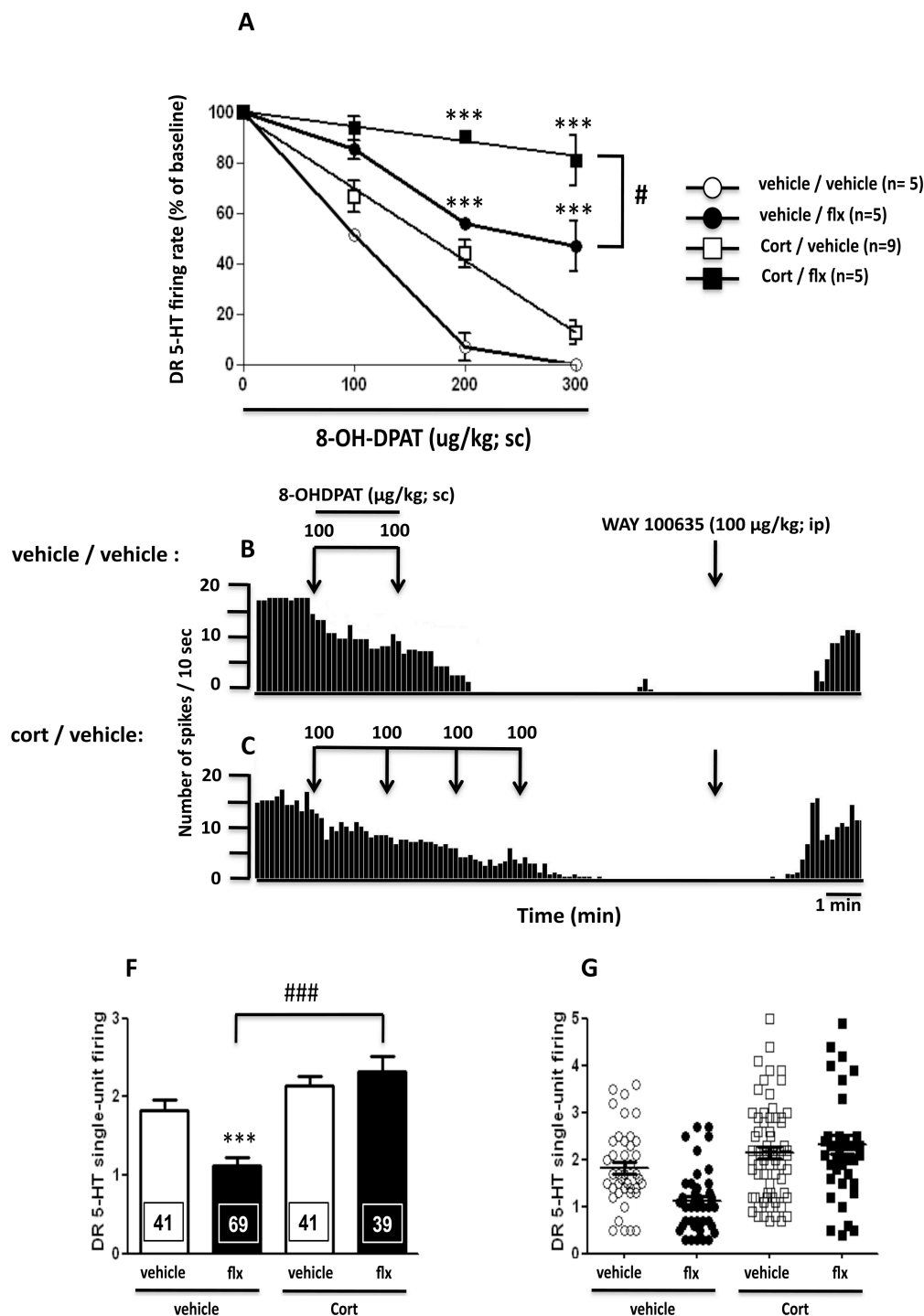


FIGURE 2: Effect of sustained corticosterone ± fluoxetine on DR 5-HT neuronal activity. (A-D): Representative integrated firing rate histograms of DR 5-HT neurons showing changes in spontaneous firing rate following subcutaneous injection of 8-OH-DPAT (100-300 $\mu\text{g/kg}$) in corticosterone and non-corticosterone mice treated with fluoxetine (18 mg/kg/28days; po). Arrows represent the time at which the injection of the specified doses of 8-OHDPAT was complete. At the end of each recording the 5-HT_{1A} receptor antagonist WAY100635 (300 $\mu\text{g/kg; sc}$) reversed the inhibitory effects of 8-OHDPAT. **(E)** Data are means \pm SEM of percentage inhibition from Baseline (n=5-8 mice per treatment group). These means were measured on the 60-s period preceding each 8-OHDPAT administration. * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$ and *** $p < 0.001$, significantly different from the spontaneous firing rate of DR 5-HT neurons in basal conditions. **(F)** Data are means \pm SEM firing rate in Hertz. Number in the histograms indicate the number of neurons recorded. Values (3-7 mice per treatment

group). **(G)** Distribution of 5-HT singlespike firing activity per treatment group. * $p<0.05$; ** $p<0.01$ and *** $p<0.001$, significantly different from the spontaneous firing rate of DR 5-HT neurons in basal conditions of the corresponding group of mice. # $p<0.05$; ## $p<0.01$ and ### $p<0.001$, significantly different from the group of non-corticosterone mice treated with fluoxetine.

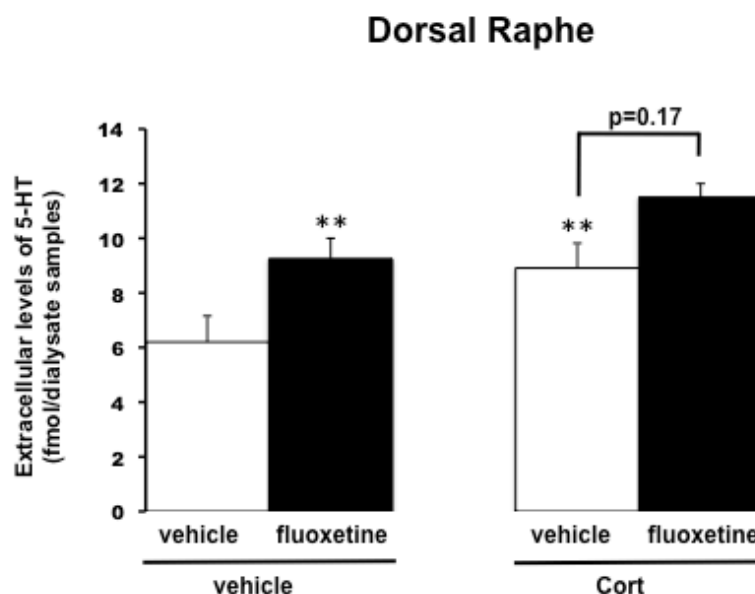


FIGURE 3: Effect of sustained corticosterone \pm fluoxetine on extracellular levels of 5-HT in the dorsal raphe (DR). Basal 5-HT levels in vehicle.vehicle; vehicle.fluoxetine, corticosterone/vehicle and corticosterone.fluoxetine groups of mice. Data are the mean \pm SEM calculated from 8 baseline samples.

TABLE 1

| Pretreatment | Treatment | Number of neuron/tract |
|----------------------------------|-------------------------|-------------------------------|
| Vehicle (β -CD 0.45%) | Vehicle | 3.1 ± 0.6 |
| Vehicle (β -CD 0.45%) | Fluoxetine (18 mg/kg/d) | 2.7 ± 0.2 |
| Corticosterone (35 μ g/ml/d) | Vehicle | 3.5 ± 0.3 |
| Corticosterone (35 μ g/ml/d) | Fluoxetine (18 mg/kg/d) | 2.9 ± 0.3 |

TABLE 1: Effect of sustained corticosterone \pm fluoxetine on the number of spontaneously active DR 5-HT neurons.**SUPPLEMENTAL TABLE**

| Pretreatment | Treatment | Δ Basal 1 – Basal 0 |
|----------------------------------|-------------------------|--|
| Vehicle (β -CD 0.45%) | Vehicle | 1.00 ± 0.16 |
| Vehicle (β -CD 0.45%) | Fluoxetine (18 mg/kg/d) | $0.34 \pm 0.12^{**}$ |
| Corticosterone (35 μ g/ml/d) | Vehicle | 0.78 ± 0.10 |
| Corticosterone (35 μ g/ml/d) | Fluoxetine (18 mg/kg/d) | 0.61 ± 0.09 |

SUPPLEMENTAL TABLE. Effects of fluoxetine after corticosterone treatment on hyperthermia induced by stress. Hyperthermia induced by stress was assessed by measuring body temperature, 10 minutes after the first measure. Values are mean \pm SEM ($n = 10$ -11 per group). To validate the test, the effect of acute stress on body temperature was assessed. A two-way ANOVA showed a significant effect of treatment factor [$F(1,36) = 12.4$, $p < 0.01$] and an interaction between pretreatment and treatment [$F(3,36) = 4.4$, $p < 0.05$]. All experimental groups displayed a hyperthermia before injection of the 5-HT_{1A} receptor agonist 8-OHDPAT.

Article 3

Résultats principaux

Dans ce travail, nous avons étudié les effets d'une administration prolongée de l'ISRS fluoxétine (18 mg/kg/jour pendant 28 jours) sur l'activité fonctionnelle des autorécepteurs somatodendritiques *in vivo*, dans un modèle de souris anxio/dépressive développé par une élévation de corticostérone dans l'eau de boisson.

Tout d'abord, nous avons évalué la réponse hypothermique des récepteurs 5-HT_{1A} par l'agoniste 8-Hydroxy-2-(di-n-propylamino)tétralin (8-OHDPAT). Comme nous le supposions, à la fois chez les souris contrôles et sous corticostérone, la fluoxétine diminue l'hypothermie induite par le 8-OHDPAT, suggérant une désensibilisation fonctionnelle des autorécepteurs somatodendritiques 5-HT_{1A}. Cependant, cette désensibilisation observée chez les animaux ayant reçu de la fluoxétine est plus prononcée lorsqu'ils ont été prétraités avec de la corticostérone en comparaison au groupe contrôle correspondant.

En utilisant les techniques *in vivo* d'électrophysiologie et de microdialyse intracérébrale, nous avons confirmé que la désensibilisation des autorécepteurs somatodendritiques 5-HT_{1A} induite par la fluoxétine était potentialisée chez les souris exposées à la corticostérone. Ces changements résultent d'une augmentation de l'activité électrique des neurones sérotoninergiques du raphé dorsal chez les animaux traités avec de la corticostérone et de la fluoxétine ainsi qu'une tendance à l'augmentation des concentrations extracellulaires de sérotonine dans le raphé.

Ces résultats indiquent que la capacité de la fluoxétine à désensibiliser les autorécepteurs somatodendritiques 5-HT_{1A} peut être potentialisée en conditions pathologiques. Ces résultats sont accord avec l'observation que les ISRS n'exercent leur efficacité thérapeutiques que majoritairement chez les patients atteints de dépression.

RESULTATS EXPERIMENTAUX

Résultats complémentaires

Effets de la délétion des récepteurs 5-HT_{1A} et/ou 5-HT_{1B} sur la neurogenèse hippocampique chez la Souris adulte

Résultats complémentaires

Effets de la délétion des récepteurs 5-HT_{1A} et/ou 5-HT_{1B} sur la neurogenèse hippocampique chez la souris adulte

Objectif

La sérotonine est connue comme un puissant régulateur de la neurogenèse hippocampique (Banasr et al., 2004 ; Brezun and Daszuta, 1999, 2000 ; Radley and Jacobs, 2002 ; Santarelli et al., 2003; Soumier et al., 2010). En effet, des molécules qui augmentent la transmission monoaminergique comme les inhibiteurs de recapture des monoamines régulent puissamment la neurogenèse hippocampique. Pourtant si les données concernant les effets neurogéniques des antidépresseurs sur la prolifération, la survie ou la maturation (David et al., 2010) semblent convaincantes, les mécanismes participant à ces effets restent flou et notamment les récepteurs monoaminergiques impliqués.

Les récepteurs 5-HT_{1A} et 5-HT_{1B}, sont les deux seuls récepteurs sérotoninergiques connus pour pouvoir réguler la transmission sérotoninergique. Ces deux récepteurs sont aussi connus pour leur rôle important dans les troubles de la dépression majeure (Ruf and Bhagwagar, 2009 ; Savitz et al., 2009) et dans l'efficacité des antidépresseurs (Chenu et al., 2008 ; Richardson-Jones et al., 2010). Logiquement, ces récepteurs de la sérotonine devraient jouer un rôle important dans la neurogenèse hippocampique adulte. Il existe cependant très peu de travaux ayant étudiées les effets régulateurs d'agonistes et d'antagonistes des récepteurs 5-HT_{1A} ou 5-HT_{1B} (Banasr et coll., 2004; Kemplin et coll., 2010; Radley and Jacobs, 2002; Santarelli et coll., 2003). De ces études, il ressort que le récepteur 5-HT_{1A} serait principalement impliqué dans la prolifération cellulaire. Quant aux récepteurs 5-HT_{1B}, leur rôle dans le processus de neurogenèse est beaucoup moins clair.

Le but de cette étude est d'évaluer la contribution des récepteurs 5-HT_{1A} et 5-HT_{1B} dans le processus de neurogenèse par une approche génétique. Pour tenter de répondre à cette question et connaître l'implication respective de chacun de ces deux récepteurs, nous avons utilisé 3 différentes lignées de souris ; la lignée de souris KO 5-HT_{1A}, la lignée de souris KO 5-HT_{1B} et la lignée de souris KO 5-HT_{1A/1B}. Ces dernières lignées de souris représentent le meilleur outil pour pouvoir étudier l'influence réciproque des récepteurs 5-HT_{1A} et/ou 5-HT_{1B}

sur les stades de la neurogenèse hippocampique adulte, à savoir la prolifération cellulaire, la survie et la maturation.

Matériels et méthodes

Animaux

Dans l'ensemble de ce travail, plusieurs souches de Souris mutées ont été utilisées :

- les souris mutées pour le récepteur 5-HT_{1A} (5-HT_{1A} ^{-/-}) de fond génétique C57BL6/J (Parks et al., 1998).
- les souris mutées pour le récepteur 5-HT_{1B} (5-HT_{1B} ^{-/-}) de fond génétique 129Sv/Pas (Saudou et al., 1994).
- les souris mutées pour les récepteurs 5-HT_{1A} et 5-HT_{1B} (5-HT_{1A/1B} ^{-/-}) de fond génétique mixte C57BL6/Jx129Sv/Pas.

Les animaux mâles étaient âgés de 8 et 12 semaines (poids de 25 à 35 grammes). Les animaux contrôles étaient les souris non mutées issues des mêmes portées (littermates). Au sein du Service Commun Animalerie de la Faculté (SCA), les Souris sont marquées et hébergées par 5 dans des cages d'élevage standard, avec un accès libre à l'eau et à la nourriture (cycle jour/nuit : 12h/12h non inversé). La température des pièces était maintenue à un niveau constant de +22 °C.

Immunohistochimie

1. Etude de la prolifération cellulaire : marquage au BrdU

Afin de déterminer les effets potentiels des récepteurs 5-HT_{1A} et 5-HT_{1B} sur la neurogenèse hippocampique, de la Bromodéoxy-Uridine (BrdU, Roche, France) est administrée aux souris adultes. Cet analogue de la thymidine va s'insérer dans l'ADN lors de la phase de réplication. Deux heures (150mg/kg) avant le sacrifice des souris pour l'étude la prolifération ou trois semaines avant pour l'étude de la survie (150mg/kg 2 fois par jour pendant 3 jours), le BrdU est administré en intrapéritonéal à la dose de. Le marquage est alors visualisé par immunohistochimie. Les cellules colorées sont donc celles qui se sont divisées entre l'injection du produit et le sacrifice. Après une anesthésie létale à la kétamine (100mg/kg), on réalise une perfusion intracardiaque des animaux (solution saline froide pendant 2 minutes, puis paraformaldéhyde 4% Sigma Aldrich, France pendant 4 minutes), avant de prélever les cerveaux qui subiront une post-fixation de 24h dans du PFA 4% à 4°C, puis une cryoprotection dans une solution à 30% de sucrose additionnée d'un antifongique

(azide de sodium 0.1%, Sigma Aldrich, France), et stockés à 4°C. Les cerveaux sont ensuite coupés selon un plan frontal à l'aide d'un cryostat (coupes de 35µm), et les coupes d'intérêt (aux niveaux des ventricules latéraux et de l'hippocampe) récupérées dans une solution tampon saline phosphate (PBS + azide de Na 0.1%). Les coupes sont montées sur lames et mises à bouillir dans une solution d'acide citrique (pH 6.0) pendant 5 minutes, rincées avec du PBS, et traitées à la trypsine (0.01% dans CaCl₂) pendant 10 minutes. Les coupes sont ensuite incubées 30 minutes dans du HCl 2N, puis on bloque les sites non spécifiques avec une solution de 3% de sérum de chèvre. Les coupes sont alors incubées pendant une nuit avec l'anticorps anti-BrdU (Beckson Dickson, France, 1:100). Après un lavage au PBS, les coupes sont incubées une heure avec l'anticorps secondaire (1:200 chèvre anti-souris biotinylé, Abcys, France), suivi de l'incubation avec le complexe avidine-biotine (kit Vectastain ABC Peroxydase, Vector, USA). Le marquage est visualisé par une coloration à la DAB (DiAminoBenzidine, kit Vectastain DAB, Vector, USA).

2. Marquage à la Doublecortine (DCX) pour l'étude de la maturation

La DCX est une protéine associée aux microtubules (MAP) exprimée exclusivement dans les neurones immatures ([Wang et al., 2008](#)). Son expression perdure pendant environ 2 à 3 semaines, le temps pour le neurone de terminer sa maturation. Précédemment, nous avons montré que le ratio neurone DCX avec arborisation dendritique tertiaire/ Neurone DCX avec arborisation simple était un bon indicateur du degré de maturation. Les coupes flottantes (35µm) sont rincées avec une solution tampon tris saline (TBS), et traitées 30 minutes avec 0.3% d'H₂O₂ afin de saturer les peroxydases endogènes, puis incubées 2 heures dans 10% de sérum d'âne et 0.5% de Triton X-100, et ensuite incubées à 4°C pendant la nuit dans l'anticorps anti-DCX (polyclonal de chèvre, 1:500, Santa Cruz, USA). L'incubation dans l'anticorps secondaire (âne anti-chèvre biotinylé Jackson Laboratory, USA, 1:500 dans TBS et 10% de sérum d'âne) dure 1 heure, et est suivie du traitement avec le complexe avidine-biotine (cf. ci-dessus), et de la coloration à la DAB.

Statistiques

Les résultats sont exprimés en nombre moyen de cellules BrdU-positives ± l'écart standard à la moyenne (ESM) pour les étapes de prolifération cellulaire et en nombre moyen de cellules doublecortine (DCX)-positives ± l'écart standard à la moyenne (ESM) pour l'étude la maturation Les données ont été analysées à l'aide du logiciel StatView 5.0 (SAS

Institute Inc.). Pour toutes les expériences, une ANOVA à un facteur a été appliquée suivie d'une analyse a posteriori par un test PLSD de Fisher. Le seuil de significativité statistique est fixé à $P < 0,05$.

Résultats

Conséquences de la délétion des récepteurs 5-HT_{1A} et/ou 5-HT_{1B} sur la prolifération cellulaire basale chez la Souris adulte

Prolifération cellulaire hippocampique

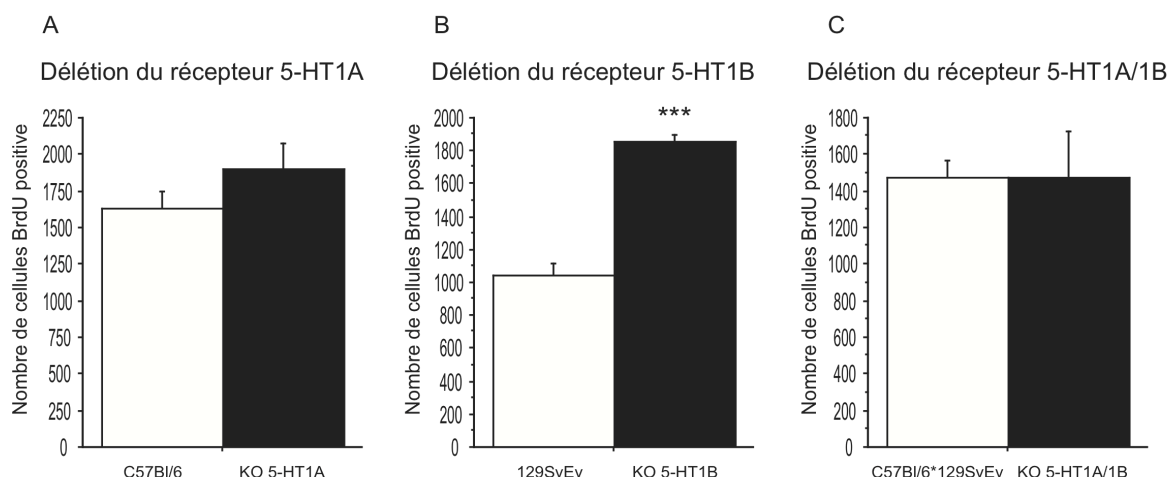


Figure 1 – Effet de la délétion des récepteurs 5-HT_{1A} et/ou 5-HT_{1B} sur la prolifération cellulaire dans l’hippocampe de souris adulte.

(A) Prolifération cellulaire hippocampique basale chez les souris adulte KO 5-HT_{1A} et leurs congénères non mutés. (B) Prolifération cellulaire hippocampique basale chez les souris adulte KO 5-HT_{1B} et leurs congénères non mutés. (C) Prolifération cellulaire hippocampique basale chez les souris adultes double KO 5-HT_{1A/1B} et leurs congénères non mutés. Les données sont présentées en nombre de cellules BrdU-positives \pm ESM ($n=3-5$ par groupe). *** $p<0,001$, en comparaison du groupe contrôle approprié.

Une analyse globale de variance (ANOVA) à un facteur n’a pas mis en évidence de changement significatif de la prolifération cellulaire hippocampique chez des souris adulte KO 5-HT_{1A} et KO 5-HT_{1A/1B}. En revanche, l’absence d’expression constitutive du récepteur 5-HT_{1B} se matérialise par une augmentation de la prolifération cellulaire [$F(1,8) = 82,4$; $p<0,001$] (Figure 1.B).

Conséquences de la double délétion des récepteurs 5-HT_{1A} et 5-HT_{1B} sur la survie et la maturation des jeunes neurones chez la souris adulte

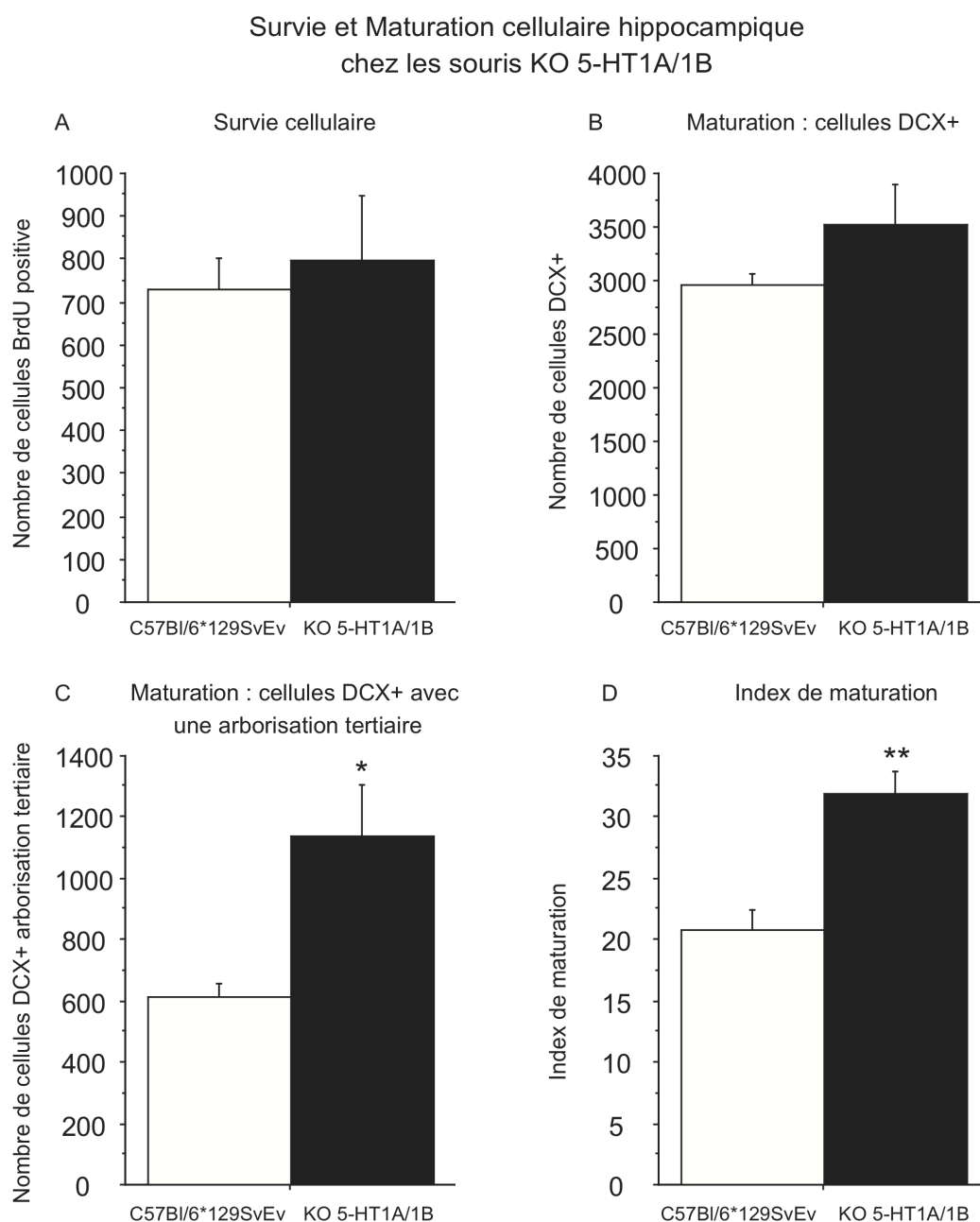


Figure 2 – Effet de la double délétion des récepteurs 5-HT_{1A} et 5-HT_{1B} sur la survie cellulaire et la maturation chez la souris adulte.

(A) Survie cellulaire hippocampique chez les animaux double KO 5HT_{1A/1B} et leurs congénères non mutés. Données exprimées en nombre de cellules BrdU-positives \pm ESM ($n=13-15$ par groupe). (B) Nombre de cellules DCX-positives chez les souris double KO 5HT_{1A/1B} et leurs congénères non mutés. (C) Nombre de cellules DCX positives exprimant une

*arborisation tertiaire chez les souris double KO 5HT_{1A/1B} et leurs congénères non mutés. (D) Index de maturation chez les souris double KO 5HT_{1A/1B} et leurs congénères non mutés. Données exprimées en nombre de cellules DCX-positives \pm ESM (n=4 par groupe). * $p<0,05$; ** $p<0,01$ en comparaison avec le groupe contrôle.*

Une analyse statistique ANOVA à un facteur ne révèle aucun effet de la mutation chez les souris double KO 5-HT_{1A/1B} sur la survie des jeunes neurones (Figure 2.A) ou sur leur nombre (Figure 2.B). En revanche, l'absence d'expression constitutive des récepteurs 5HT_{1A} et 5HT_{1B} induit une augmentation significative du nombre de cellules DCX positive exprimant une arborisation tertiaire [$F(1,8) = 9,0$; $p<0,05$]. Ceci se traduit par une augmentation de l'index de maturation [$F(1,8) = 20,6$; $p<0,01$].

Discussion des résultats complémentaires

Le rôle des récepteurs de la sérotonine dans la régulation de la neurogenèse hippocampique reste à approfondir. Dans ce travail nous avons voulu étudier les effets de la délétion constitutive des récepteurs 5-HT_{1A} et/ou 5-HT_{1B} sur la neurogenèse hippocampique chez la souris adulte. Les souris simples mutantes pour le récepteur 5-HT_{1A} ne présentent pas d'altération de l'étape de prolifération cellulaire en comparaison à leurs animaux contrôles (fig 1.A). Hormis un étude ([Radley and Jacobs, 2002](#)), nos résultats sont plutôt en accord avec ceux précédemment publiés. En effet, de précédentes études utilisant soit les souris KO 5-HT_{1A}, soit un traitement chronique par un antagoniste des récepteurs 5-HT_{1A} (WAY 100635) n'ont révélé aucun effet sur la prolifération cellulaire ([Holick et al., 2003](#) ; [Kemplin et al., 2010](#) ; [Santarelli et al., 2003](#)). En fait, il semblerait que le blocage du récepteur 5-HT_{1A} n'ait de conséquence que sur les autres étapes de la neurogenèse hippocampique, telles que la différenciation et la survie cellulaire ([Klempin et al., 2010](#)). Ainsi le blocage du récepteur 5-HT_{1A} ne semble pas être impliqué dans le mécanisme de la prolifération, mais le serait en revanche lorsqu'il est activé

Nos résultats montrent que la délétion du gène codant pour le récepteur 5-HT_{1B} entraîne une augmentation importante de la prolifération hippocampique par rapport aux souris contrôles (fig 1.B). Il n'existe à l'heure actuelle, qu'une seule étude sur les effets d'un agoniste et antagoniste du récepteur 5-HT_{1B} sur la neurogenèse hippocampique. Malheureusement dans cette étude, seule l'administration aigue de Sumatriptan (agoniste) ou de GR 127935 (antagoniste) est présentée, et ne révèle aucun effet sur la prolifération

cellulaire dans l'hippocampe de rats adultes (Banasr et al., 2004). Il a été montré que les récepteurs 5-HT_{1B} diminuent les niveaux de 5-HT quand ils sont activés par un agoniste (CP93129 ; CP94253 ; RU24969) (Barnes and Sharp, 1999 ; Chenu et al., 2005 ; Sari, 2004), alors que les antagonistes (SB224289 ; GR127935) augmentent ou potentialisent la libération de 5-HT (Barnes and Sharp, 1999 ; Chenu et al., 2005 ; Sari, 2004). De plus, une étude récente montre que les souris KO 5-HT_{1B} pour ce récepteur présentent une augmentation de libération de 5-HT par axone dans le cortex et l'hippocampe (Rutz et al., 2006), expliquée par l'absence d'autoinhibition de ce récepteur sur la libération de 5-HT. Ainsi la stimulation de la prolifération cellulaire suite au blocage du récepteur 5-HT_{1B}, pourrait être la conséquence d'une augmentation de la sérotonine intra-hippocampique et pourrait agir de la même façon qu'un ISRS et stimuler la sortie du cycle cellulaire des progéniteurs de type 1 (Encinas et al., 2006).

Aucun effet de la double délétion n'a pu être constaté chez les souris KO à la fois pour le récepteur 5-HT_{1A} et 5-HT_{1B} par rapport aux animaux contrôles (fig 1.C). Il est vraisemblable de penser que l'absence de ces deux récepteurs engendrent des phénomènes compensatoires importants, pouvant agir de façons opposés, masquant ainsi des effets sur l'étape de prolifération cellulaire.

L'étude de la survie cellulaire (fig 2.A) ne permet pas de distinguer des effets particuliers de la double délétions des gènes codant pour les récepteurs 5-HT_{1A} et 5-HT_{1B}. Ce résultat est confirmé par la quantification des cellules exprimant le marqueur des neurones immatures DCX. En revanche, l'étude de la complexité de l'arborisation dendritique présente une augmentation chez les souris double KO comparées aux souris contrôles. En effet, le nombre de cellules DCX positive exprimant une arborisation tertiaire est très supérieure à celui des souris contrôles. Cet effet se répercute sur l'index de maturation, qui suggère une maturation plus rapide des nouveaux neurones chez les animaux double mutants. In vivo, ces animaux présentent des concentrations extracellulaires de 5-HT plus élevées que leurs congénères non mutées (Guilloux et al., accepté). L'augmentation des concentrations de 5-HT et l'augmentation de la vitesse de maturation peuvent être reliées à celles observées chez des souris traitées à la fluoxétine (Wang et al., 2008).

La suite de ce travail consistera à étudier les étapes de neurogenèse chez les souris simples mutantes pour les récepteurs 5-HT_{1A} et 5-HT_{1B}, afin de déterminer si ces récepteurs, pris individuellement, sont impliqués dans d'autres étapes de la neurogenèse hippocampique. En outre, l'étude de la neurogenèse hippocampique chez ces animaux, traités chroniquement

avec de la fluoxétine nous apportera d'autres éléments de réponse sur les mécanismes impliquant ces récepteurs dans les effets neurogéniques des antidépresseurs dans l'hippocampe de souris adulte.

DISCUSSION GENERALE

DISCUSSION GENERALE

La principale question que nous nous sommes posée était : **Quel est le rôle de la neurogenèse hippocampique dans l'action des antidépresseurs dans un modèle physiopathologique de la dépression, chez la Souris adulte ?**

Tout d'abord, nous avons modélisé un état anxio-dépressif chez la Souris en étudiant les conséquences comportementales, cellulaires, moléculaires, électrophysiologiques et neurochimiques d'un excès de glucocorticoïdes (modèle CORT). Pour cela, nous avons utilisé des tests reflétant l'activité pré-synaptique du système sérotoninergique (comme la microdialyse intracérébrale et l'électrophysiologie *in vivo*) associés à des tests comportementaux et immunohistochimiques.

Ainsi, nous avons réalisé l'étude des effets de l'administration chronique de deux antidépresseurs, la fluoxétine et l'agomélatine, à l'aide de ce modèle d'anxiété/dépression induit par « un stress pharmacologique ». Ce travail s'est inscrit dans la thématique générale du laboratoire dont les objectifs sont de mieux comprendre les mécanismes physiopathologiques des troubles de l'humeur en précisant le phénotype de nouveaux modèles animaux et ainsi de mieux comprendre l'efficacité thérapeutique des antidépresseurs.

I. Rappel des principaux résultats obtenus

Grâce à ce nouveau modèle, nous montrons une altération de paramètres, cellulaires, moléculaires, neurochimiques et comportementaux chez la Souris. Ce modèle est pertinent puisque ces altérations sont presque toutes corrigées par un traitement chronique avec la fluoxétine (article 1). De plus, ce modèle, pour la première fois a permis de classer les tests comportementaux en test dont l'activité comportementale dépend (NSF) ou ne dépend pas (OF) de la neurogenèse chez la Souris. Ces résultats originaux permettent donc de dessiner un nouveau concept, en montrant que les effets de types anxiolytiques/antidépresseurs d'un seul et même médicament, la fluoxétine, interviennent à la fois par des mécanismes neurogenèse-dépendants et indépendants. La neurogenèse hippocampique adulte est nécessaire, mais pas suffisante pour expliquer les effets comportementaux d'un traitement chronique par antidépresseur. Dans le modèle CORT, c'est l'étape initiale de prolifération cellulaire qui est réduite. Les autres étapes (survie, maturation) permettent non seulement de révéler, mais aussi

d'amplifier les effets neurogéniques des antidépresseurs.

Cependant, dans ce premier travail, la fluoxétine (antidépresseur sérotoninergique) ne restaurait pas les perturbations du rythme circadien induites par un traitement chronique à la corticostérone chez la Souris. Grâce à une collaboration avec les Drs C. GABRIEL et E. MOCAER (I.R.I.S., Courbevoie, France), nous avons étudié les effets comportementaux et neurogéniques de l'agomélatine (S20098), un nouvel antidépresseur, agoniste des récepteurs mélatoninergiques et antagoniste des récepteurs 5-HT_{2C} (article 2). Nous avons observé que l'agomélatine se démarque de la fluoxétine, puisque qu'aux deux doses étudiées, elle renforce les différences d'activité locomotrice entre les périodes lumière/obscurité chez les animaux contrôles. En outre, contrairement à la fluoxétine, elle corrige les perturbations du rythme circadien chez les animaux exposés chroniquement à la corticostérone. Enfin, nos résultats montrent que les effets de l'agomélatine sur la maturation des jeunes neurones dans le gyrus dentelé de l'hippocampe de souris adultes traitées par de la corticostérone sont essentiellement la conséquence d'une augmentation de l'arborisation dendritique des jeunes neurones dans l'hippocampe ventral, mais pas dans l'hippocampe dorsal (Banasr et al., 2006). L'étape de prolifération cellulaire est corrigée par l'agomélatine aux deux doses étudiées, comme c'est aussi le cas avec la fluoxétine.

Ces deux premières études ont clairement mis en évidence l'avantage de travailler avec des modèles animaux présentant un caractère anxio/dépressif, plutôt qu'avec des animaux naïfs, non déprimés. Par exemple, l'augmentation de la prolifération cellulaire par la fluoxétine n'est pas retrouvée de façon systématique dans la littérature : il dépend de la souche de souris naïves utilisées (oui chez celles de fond génétique 129Sv, non chez les C57Bl/6) (Navailles et al., 2008 ; pour revue, David et al., 2010). Les effets neurogéniques des antidépresseurs sur toutes les étapes du processus en sont notamment renforcés.

Nous avons ensuite poursuivi la caractérisation du modèle CORT en nous intéressant au phénotype neurochimique des animaux traités par de la corticostérone. Notre hypothèse de travail suppose que les effets neurogéniques des antidépresseurs sont renforcés dans notre modèle du fait d'une augmentation encore plus importante de la neurotransmission sérotoninergique centrale. Il est en effet bien connu que la sérotonine est un puissant régulateur de la neurogenèse hippocampique (Banasr et al., 2004 ; Brezun and Daszuta, 1999 ; Radley and Jacobs, 2002 ; Santarelli et al., 2003). Le système sérotoninergique central est aussi bien sûr impliqué dans la physiopathologie et la réponse aux antidépresseurs de la

classe des ISRS (Artigas et al., 1996; Blier and De Montigny, 1983; Gardier et al., 1996). Le traitement chronique d'ISRS désensibilise très progressivement les autorécepteurs 5-HT_{1A} (Blier and de Montigny, 1987; Blier et al., 1998). Cependant, la plupart de ces résultats ont été obtenus chez des rongeurs naïfs (c'est-à-dire, des rats ou des souris non stressés, non anxio/dépressives). Il nous a paru intéressant d'étudier l'activité fonctionnelle de l'autorécepteur 5-HT_{1A} dans le modèle CORT (article 3). Dans ce travail, nous montrons, après une administration prolongée de l'ISRS fluoxétine par des approches neurochimiques, comportementales, électrophysiologiques, que sa capacité à induire une désensibilisation fonctionnelle des autorécepteurs somatodendritiques 5-HT_{1A} est plus importante que chez les souris naïves véhicule/fluoxétine. Nous observons que cette désensibilisation est maximale lorsqu'on associe un traitement (ISRS) à des conditions pathologiques (modèle CORT).

Les récepteurs 5-HT_{1A} et 5-HT_{1B} ont une distribution pré-synaptique (DRN), mais aussi post-synaptique (notamment dans l'hippocampe). Le rôle de ces récepteurs sur la régulation de la transmission sérotoninergique est bien établi et fait de ces récepteurs, des acteurs importants l'étiologie des troubles de l'humeur, et dans la réponse aux antidépresseurs. Il est ainsi logique de penser que ces récepteurs de la sérotonine devraient jouer un rôle important dans les 4 étapes de la neurogenèse hippocampique adulte. Nous avons étudié les conséquences d'une double délétion des récepteurs 5-HT_{1A} et 5-HT_{1B} sur le différentes étapes de la neurogenèse hippocampique grâce à la présence au laboratoire de souris double mutantes constitutives (souris KO 5-HT_{1A/1B}), n'exprimant ni le récepteur 5-HT_{1A}, ni le récepteur 5-HT_{1B}, mais aussi de souris simples mutantes constitutives (souris KO 5-HT_{1A} et KO 5-HT_{1B}) ainsi que leurs congénères non mutés. Nous avons évalué la contribution de ces récepteurs dans le processus de neurogenèse hippocampique chez l'animal adulte (résultats complémentaires).

L'absence du récepteur 5-HT_{1B} conduit à l'augmentation de la prolifération cellulaire dans l'hippocampe de souris adulte. Ceci suggère que l'activation du récepteur 5-HT_{1B} limite l'étape de prolifération cellulaire de la neurogenèse. Il serait intéressant de savoir par quels mécanismes. Ceci suggère aussi que l'administration chronique d'un antagoniste 5-HT_{1B} augmenterait cette prolifération cellulaire, peut-être aussi la survie et la maturation ? (analyse des résultats en cours), phénomène bénéfique attendu d'un traitement antidépresseur de type ISRS. De plus, la conséquence de la double délétion des récepteurs 5-HT_{1A/1B} montre une augmentation de l'arborisation dendritique tertiaire des jeunes neurones.

II. Importance des modèles animaux d'anxiété/dépression quant aux effets neurogéniques des antidépresseurs : implication des récepteurs sérotoninergiques sur la neurogenèse hippocampique

La première partie de cette discussion a fait ressortir l'importance primordiale de l'utilisation d'un modèle animal d'anxiété/dépression dans la compréhension des mécanismes physiopathologiques des troubles anxio/dépressifs et de la réponse médicamenteuse. Il ressort aussi que les effets comportementaux des antidépresseurs ne peuvent se réduire à une seule structure cérébrale ou un seul récepteur. Aussi dans cette deuxième partie de la discussion, nous allons insister sur :

- l'apport d'un nouveau modèle d'anxiété/dépression par rapport aux modèles animaux déjà existants.
- les effets neurogéniques dépendants des antidépresseurs.
- l'implication de la transmission sérotoninergique et de ses récepteurs sur les 4 étapes de la neurogenèse hippocampique adulte.

A. Apport d'un nouveau modèle d'anxiété/dépression par rapport aux modèles déjà existant.

Les pathologies dépressives présentent des symptômes hétérogènes. Par exemple, l'anxiété et la dépression possèdent une co-morbidité élevée, d'environ 60% chez les patients (Gorman, 1996 ; Leonardo and Hen, 2006). Il n'existe naturellement pas d'animaux se trouvant dans un « état dépressif ». Il est ainsi peu probable qu'un modèle animal puisse précisément reproduire l'ensemble de la complexité des phénotypes constituant la dépression. De nombreuses incertitudes demeurent quant à l'efficacité des modèles animaux et leur pertinence clinique. Ce modèle doit répondre à plusieurs critères :

- une validité prédictive (les traitements efficaces en clinique doivent l'être aussi dans le modèle),
- une validité phénoménologique (le modèle est capable d'induire certains symptômes de la pathologie),
- une validité théorique (la place du modèle par rapport au cadre théorique).

Le modèle « CORT » répond tout au moins en partie, à ces différents critères. Ce modèle possède effectivement une très bonne validité prédictive car plusieurs antidépresseurs de classes pharmacologiques différentes ont prouvé leur efficacité (Tableau 16). De plus l'élévation des concentrations de glucocorticoïdes est capable d'induire des symptômes qui rappellent ceux observés chez l'Homme déprimé, comme par exemple la négligence physique « self neglect ». En outre, ce modèle est pertinent puisque l'action des antidépresseurs, n'est efficace qu'en condition pathologique, ce qui est en lien avec la littérature chez l'Homme, où les effets des antidépresseurs s'expriment en conditions pathologiques (Tsankova et al., 2006). Concernant le dernier critère de validité, i.e. validité théorique, le modèle CORT s'approche de la théorie d'altération de la plasticité neuronale dans la dépression. Par ailleurs, des études ont montré une corrélation entre la durée des épisodes dépressifs et la réduction du volume de l'hippocampe (Sheline et al., 1996). Ainsi l'augmentation des concentrations plasmatiques de corticostérone, en plus, des perturbations de l'axe HPA, induit des perturbations moléculaires et cellulaires. Nous avons ainsi montré que l'administration chronique de corticostérone diminuait la prolifération cellulaire ainsi que l'expression de certains gènes (β -arrestine). Cette protéine est impliquée dans le couple des récepteurs à 7 domaines transmembranaires (CRF, récepteur dopaminergique D2, NK1, récepteur adrénergiques, etc. ...), et dans la cascade de signalisation de certains facteurs neurotrophiques (TrkB/BDNF). De plus, d'autres groupes comme celui de Ron Duman, ont montré que l'administration de corticostérone induisait des perturbations de la voie de signalisation Erk/Akt (Dwivedi et al., 2006 ; Gourley et al., 2008, Jacobsen and Mork, 2006).

Enfin, un des avantages principaux du modèle CORT, est la simplicité de sa mise en place et donc la possibilité de combiner les effets produits par des modèles génétiques, sociaux et environnementaux. Je n'ai pas exploré cet aspect au cours de mon travail, mais il semble qu'une approche multidisciplinaire utilisant les avantages de plusieurs modèles animaux serait la plus appropriée. Dans ce sens, le modèle CORT introduit une nouveauté. Les propriétés robustes de ce modèle en forçant la dysfonction de l'axe HPA pourraient permettre de renforcer le phénotype d'autres modèles, tels que le CMS ou le modèle de défaite sociale, par exemple, qui parfois posent des problèmes de reproductibilité ou de persistance des symptômes. Ceci serait plus en lien avec le spectre des symptômes de la dépression chez l'Homme.

| Traitements antidépresseurs | Effets comportementaux | Effets Neurogéniques | Références |
|-----------------------------|--|--|---------------------------|
| Fluoxétine | Corrige l'état anxio/dépressif, mais pas les altérations du rythme circadien induits par un traitement chronique à la corticostérone | Augmente les différents stades de neurogenèse, de façon plus prononcée après un traitement chronique à la corticostérone | <i>David et al., 2009</i> |
| Imipramine | Corrige l'état anxio/dépressif | Non testé | <i>David et al., 2009</i> |
| Reboxétine | Corrige l'état anxio/dépressif | Non testé | <i>David et al., 2009</i> |
| Agomélatine | Corrige l'état anxio/dépressif et l'altération du rythme circadien induit par le traitement chronique à la corticostérone | Corrige l'inhibition de la prolifération induite par un traitement chronique à la corticostérone | <i>Rainer et al, 2011</i> |

Tableau 16 – Effets des traitements antidépresseurs sur les altérations comportementales et neurogéniques induites par une administration chronique de corticostérone.

Nous avons utilisé ce modèle CORT pour faire le lien entre le phénotype comportemental résultant de l'administration d'antidépresseurs et les conséquences cellulaires et moléculaires, notamment sur les 4 étapes de la neurogenèse hippocampique chez la Souris adulte.

B. Les effets neurogéniques dépendants des antidépresseurs.

Chez des animaux traités chroniquement avec de la corticostérone, une ablation de la neurogenèse hippocampique (par irradiation aux rayons X) a révélé qu'un traitement antidépresseur conserve ses effets bénéfiques dans certains tests de comportements (Open field), mais pas dans d'autres (NSF) ([David et al., 2009](#) ; [Santarelli et al., 2003](#)). Ces résultats

suggèrent que la neurogenèse hippocampique adulte est nécessaire, mais pas suffisante pour expliquer les effets comportementaux de la fluoxétine. Si précédemment plusieurs études avaient suggéré que les effets des antidépresseurs impliquaient des mécanismes dépendants et indépendants, aucune d'entre elles n'avait démontré cet argument (Surget et al., 2008).

Dans ce projet, nous avons pu observer la réponse neurogénique aux antidépresseurs (fluoxétine, agomélatine) sur les étapes de la prolifération et de la maturation cellulaires dans le gyrus dentelé de l'hippocampe, en condition pathologique. En effet, ces étapes révèlent une réponse cellulaire très nettement supérieure chez les animaux traités par la corticostérone avec un antidépresseur comparés aux animaux contrôles avec ou sans antidépresseur (David et al., 2009 ; Rainer et al., 2011 – Article 2) Il semblerait qu'en induisant des altérations par la CORT au niveau moléculaire, cellulaire et comportemental (tableau 7), les cellules souches du gyrus dentelé de l'hippocampe prépare une réponse neurogénique induite par une forte augmentation de la sérotonine chez les animaux traités par ISRS. Ainsi, la réponse exacerbée observée sur les étapes de la neurogenèse serait un mécanisme de rebond. L'importante variation en sérotonine dans ces conditions recruterait davantage de cellules de type-1 puis favoriserait la division asymétrique de ces cellules vers le type 2, augmentant ainsi la quantité de jeunes progéniteurs (chez le rongeur : Encinas et al., 2006 ou chez l'homme : Boldrini et al., 2009) (). Ainsi, l'adaptation de la réponse au stress, favorisée par la sérotonine, passerait par un recrutement massif de cellules, notamment des nouveaux neurones (prolifération) tout en accélérant leur intégration (maturation) à la circuiterie neuronale. Il est possible que ce phénomène entraîne également une forte mort cellulaire des jeunes neurones qui n'ont pas été intégrés (Tronel et al., 2010). Il est intéressant de noter qu'un jeune neurone nécessite environ 6 semaines pour exprimer les mêmes marqueurs cellulaires que les neurones matures (Zhao et al., 2008). Ainsi, il se pourrait que les jeunes neurones agissent à un stade précoce sur la circuiterie neuronale existante, modulant l'activité des neurones plus anciens. Cette stratégie d'adaptation par une production en masse de nouveaux neurones permettrait d'établir les connexions neuronales nécessaires à une réponse comportementale adaptée, au moins en ce qui concerne les phénomènes neurogenèse dépendants.

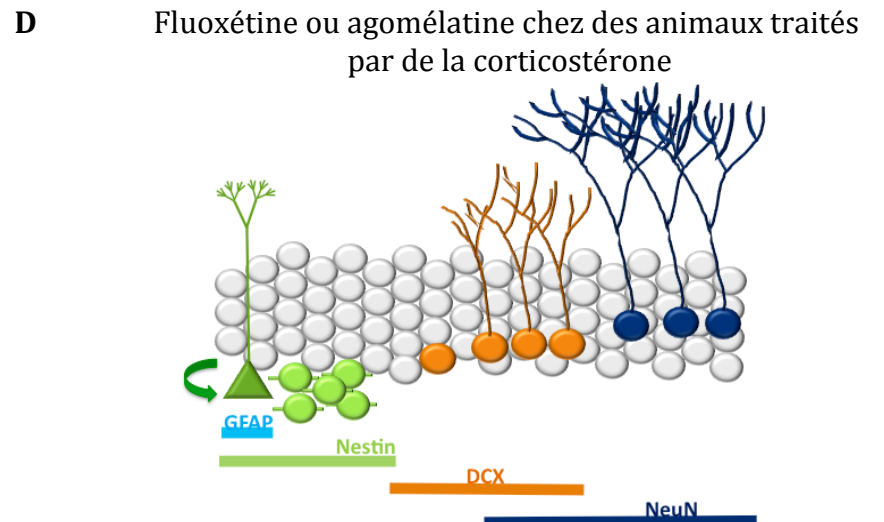
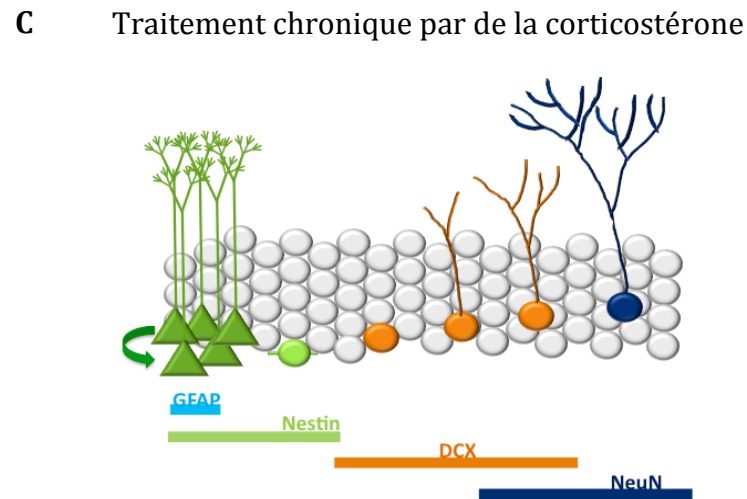
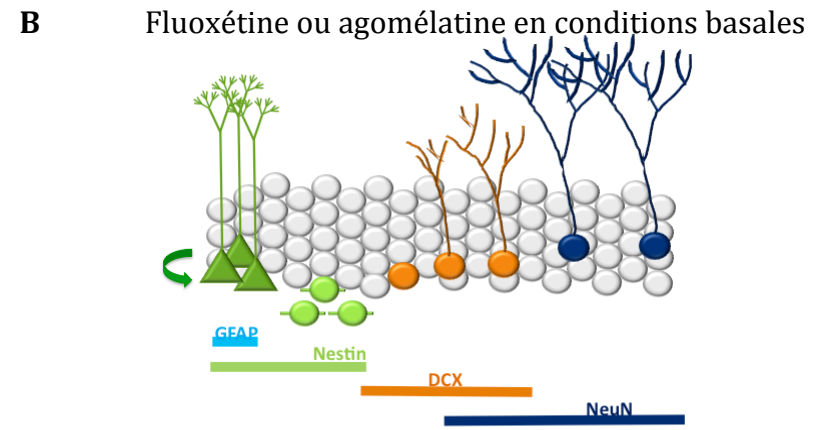
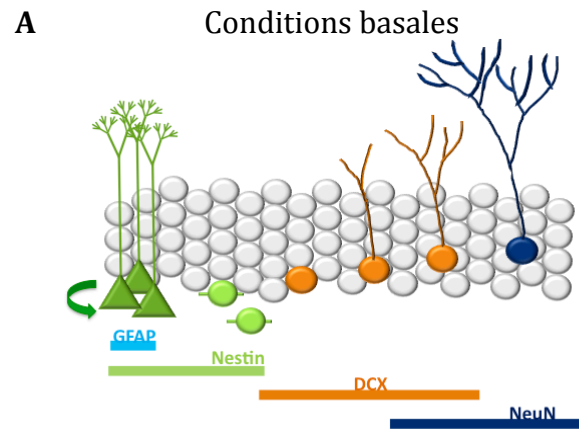


Figure 39 - Schéma représentant le comportement possible des cellules souches du gyrus dentelé de l'hippocampe en fonction des conditions expérimentales.

De la gauche vers la droite, schéma représentant les différentes étapes de la neurogenèse hippocampique chez une souris C57BL/6 en commençant par l'amplification et la prolifération de cellules souches en cycle cellulaire (vert) puis la différenciation en cellules progénitrices (vert clair) qui vont ensuite donner des cellules granulaires immatures (orange) qui après survie donneront des neurones matures (bleu). (A) En condition basale, le ratio entre les cellules souches (en vert foncé) et les progéniteurs (en vert clair), type-2 est équilibré. Une partie des cellules de type-1 se différencie, l'autre poursuit ses cycles cellulaires. (B) Un traitement ISRS permet la stimulation d'une fraction plus importante de cellules souches neuronales, augmentant ainsi le ratio cellules souches/progéniteurs mais aussi la maturation. (C) En condition pathologique, la majorité des cellules souches poursuit ses cycles cellulaires, et entraîne l'accumulation de cellule de type-1. (D) Un traitement ISRS en condition pathologique provoque un effet de rebond en stimulant fortement la sortie du cycle cellulaires des de cellules souches, augmentant les progéniteurs et la maturation cellulaire. Adapté d'après (David et al., 2010).

Si les effets précliniques de la fluoxétine sont portés par des mécanismes distincts, se pose la question de l'application du même raisonnement aux effets thérapeutiques cliniques de la fluoxétine. Les antidépresseurs peuvent-ils agir par l'intermédiaire d'effets convergents, certains agissant sur les fonctions cognitives et d'autres sur l'humeur ? Peut-on distinguer dans le cerveau les effets des antidépresseurs sur l'hippocampe et sur d'autres structures cérébrales (limbiques), ou circuits neuronaux ? Une telle dissociation a été suggérée (Bessa et al., 2009) : les effets des antidépresseurs sur l'humeur seraient indépendants d'un processus de neurogenèse, tandis que les effets sur l'anxiété seraient plutôt neurogenèse-dépendants. Ces questions ont toutes leur importance, surtout pour les laboratoires pharmaceutiques souhaitant développer des médicaments antidépresseurs plus efficaces, mieux tolérés ou avec un délai d'action plus court. Il sera donc important de déterminer rapidement si de nouveaux composés qui stimuleraient directement la neurogenèse hippocampique (Gourley et al., 2008) seraient aussi efficaces que les antidépresseurs actuels ou amélioreraient seulement des déficits cognitifs associés à la maladie.

Conformément à l'idée que l'essentiel des effets antidépresseurs mobilisent plusieurs régions du cerveau, nous avons ainsi montré que, dans notre modèle expérimental un traitement chronique avec la fluoxétine entraîne des effets sur l'expression des gènes, non seulement dans l'hippocampe, mais aussi dans l'hypothalamus et l'amygdale. D'autres études ont préalablement suggéré que la fluoxétine exerce des fonctions extra-hippocampiques, par exemple la restauration de la plasticité dans le cortex visuel (Maya Vetencourt et al., 2008).

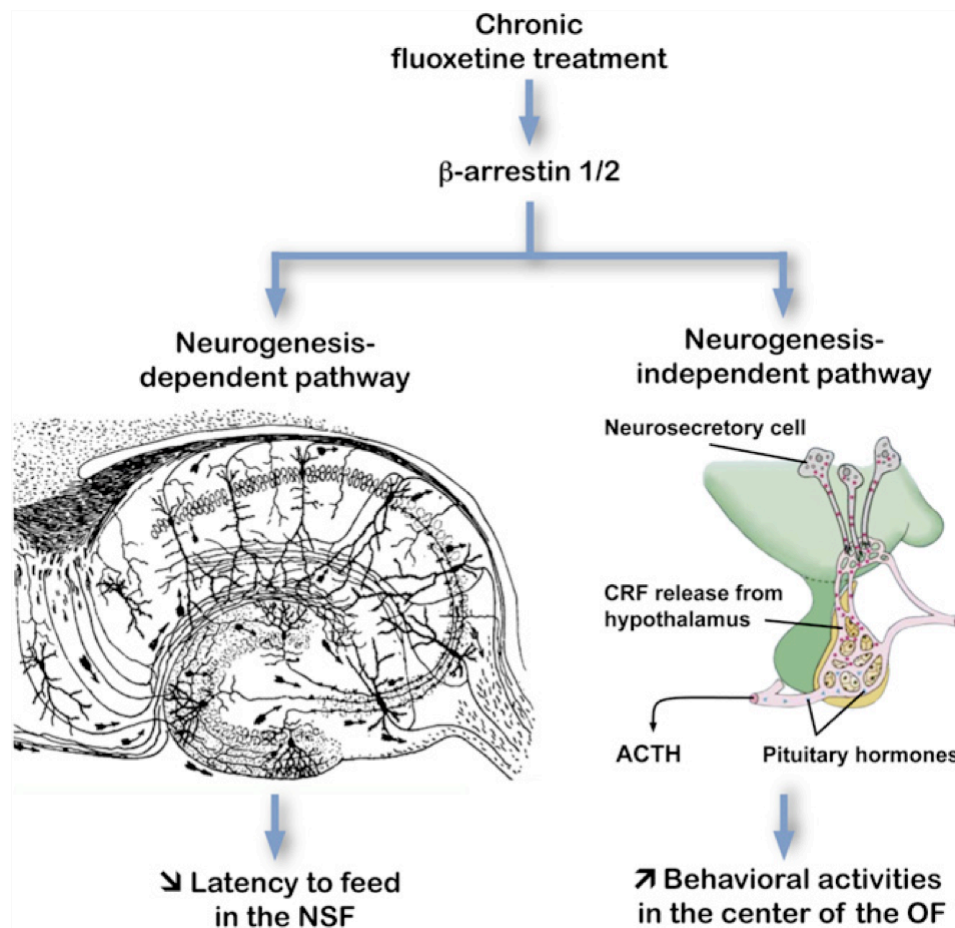


Figure 40 – La fluoxétine agit sur la voie des β -arrestine, conduisant vers des effets comportementaux dépendants ou non de la neurogenèse hippocampique.

Ce schéma représente l'effet du stress lié à l'administration de corticostérone exogène sur l'expression de la β -arrestine, dans différentes structures cérébrales, ainsi que les modifications comportementales dans les tests. La fluoxétine corrige l'état anxio/dépressif et la diminution de l'expression de β -arrestine induits par la corticostérone, en empruntant des circuits dépendants ou non de la neurogenèse (Lledo, 2009).

C. Implication de la transmission sérotoninergique et de ses récepteurs sur les 4 étapes de la neurogenèse hippocampique adulte.

La sérotonine est connue pour son rôle de puissant régulateur de la neurogenèse hippocampique. Or, il semble que notre modèle induise des changements dans la transmission sérotoninergique puisqu'on a observé une désensibilisation des autorécepteurs 5-HT_{1A} accompagnée d'une augmentation de la transmission sérotoninergique centrale. Cette modification pourrait être nécessaire à l'efficacité des antidépresseurs monoaminergiques et expliquerait l'effet neurogénique exacerbé des antidépresseurs monoaminergiques telle que la fluoxétine, dans le modèle. Si l'augmentation de la transmission sérotoninergique, ou plus

généralement monoaminergique, c'est-à-dire des concentrations extracellulaires de 5-HT et/ou de NA ou DA, est un pré-requis pour observer les effets neurogéniques des antidépresseurs, ceci précède l'activation des récepteurs 5-HT ou non 5-HT. Les effets d'un antidépresseur sur la neurogenèse s'expliqueraient soit par l'augmentation de la neurotransmission 5-HT via une désensibilisation des autorécepteurs, soit par une action post-synaptique via un hétérorécepteur situé sur des neurones glutamatergiques, GABAergiques, dopaminergique ou cholinergiques centraux.

La nature des récepteurs impliqués dans l'effet neurogénique des antidépresseurs n'est cependant pas connue. Dans la littérature deux sous types de récepteurs ressortent, le récepteur 5-HT_{1A} et le récepteur 5-HT₂ (Benninghoff et al., 2010). En nous appuyant sur les résultats avec l'agomélatine et ceux précédemment obtenus avec des antagonistes sélectifs des récepteurs 5-HT_{2C} (Banar et al., 2004 ; Kemplin et al., 2010), il s'avère que le blocage de ce récepteur induit des effets neurogéniques dans l'hippocampe adulte (principalement, survie et maturation). L'utilisation d'une approche génétique, et l'emploi par exemple de souris n'exprimant pas sélectivement le récepteur 5-HT_{2C} dans l'hippocampe permettrait de confirmer ces résultats.

| | Banasr et coll., 2004 | Klempin et coll., 2010 | Rainer et coll., 2011 |
|------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|---|
| Espèces | Rats | Souris | Souris |
| BrdU i.p. | 75 mg/kg | 50 mg/kg | 150 mg/kg |
| Récepteur 5-HT_{2C} | agoniste RO600175 aucun effet | agoniste WAY161503 diminution | antagoniste agomélatine augmentation |

Tableau 17 – Comparaison des études évoquant le rôle des récepteurs 5-HT_{2C} sur la prolifération cellulaire dans l'hippocampe de rongeurs adultes.

Nous avons choisi d'étudier l'implication des récepteurs 5-HT_{1A} et 5-HT_{1B}, qui sont les seuls récepteurs 5-HT à avoir une double localisation cellulaire, pré- et post-synaptique. Nous avons utilisé des souris génétiquement manipulées qui présentent l'avantage de mimer les effets d'un traitement chronique d'antagonistes sélectifs soit des récepteurs 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} ou de ces deux récepteurs. S'il existe une littérature concernant le rôle du récepteur 5-HT_{1A} sur la neurogenèse hippocampique chez l'animal adulte, celle concernant le rôle du récepteur 5-HT_{1B} est quasi inexistante. Ceci s'explique probablement par le fait qu'il existe peu d'outils pharmacologiques disponibles d'une part, et parce que les ligands des récepteurs

5-HT_{1B} peinent à discriminer les récepteurs 5-HT_{1B} abondant chez le Rongeur, et 5-HT_{1D}, son équivalent chez l'Homme.

Si le rôle du récepteur 5-HT_{1A} sur la prolifération cellulaire n'est pas mis en évidence par nos résultats, celui du récepteur 5-HT_{1B} ressort beaucoup plus. Il n'est pas surprenant de ne pas voir de changement de la prolifération cellulaire chez les souris KO 5-HT_{1A}. Hormis une étude ([Radley and Jacobs, 2002](#)), toutes les autres utilisant soit des souris KO 5-HT_{1A}, soit un traitement chronique avec un antagoniste des récepteurs 5-HT_{1A} (WAY 100635) n'ont pas montré d'effet sur la prolifération cellulaire hippocampique. Ce résultat est cohérent quand on sait qu'aucune augmentation des concentrations extracellulaires cérébrales en conditions basales de sérotonine n'est observée chez les souris KO 5-HT_{1A} ([Guilloux et al., 2006](#)). En tout cas, il n'est pas certain qu'une augmentation de la transmission sérotoninergique à elle seule puisse expliquer un effet neurogénique. En effet, si une hypersérotoninergie basale est observée uniquement chez les souris double KO 5-HT_{1A/1B}, nous n'avons observé aucun changement dans la prolifération cellulaire. Ainsi cette augmentation chez les souris KO 5-HT_{1B} pourrait s'expliquer par une augmentation compensatoire de la transmission dopaminergique ([Shippenberg et al., 2000](#)) ou bien par une compensation de l'expression d'un autre sous type de récepteur sérotoninergique qui resterait à définir.

Le blocage des deux récepteurs 5-HT_{1A} et 5-HT_{1B} présente par contre un intérêt thérapeutique potentiel puisque nous avons observé une augmentation de l'arborisation dendritique chez les souris doubles mutantes KO 5-HT_{1A/1B}. Les effets comportementaux et neurogéniques d'un ISRS devraient être potentialisés par des molécules originales, présentant un triple mécanisme d'action : par exemple, le SB-649915-B est à la fois antagoniste des récepteurs 5-HT_{1A/5-HT_{1B}} associé à un effet antidépresseur de type ISRS ([Starr et al., 2007](#)).

Perspectives

Nous avons démontré qu'un traitement avec la fluoxétine chez des animaux sous un régime de corticostérone, corrigeait des effets sur l'expression de certains gènes, non seulement dans l'hippocampe, mais aussi dans l'hypothalamus chez la souris adulte. Parmi les gènes étudiés, ceux codant pour les β -arrestines 1 et 2, montrent des changements d'expression. Nos données expérimentales associées à celles obtenues chez l'Homme ([Avissar et al., 2004](#)), laissent penser que les β -arrestines pourraient être des déterminants moléculaires importants des effets des antidépresseurs. L'utilisation de souris KO tissus-spécifiques, n'exprimant pas la β -arrestine 1 ou 2 dans les cellules souches du gyrus dentelé de l'hippocampe (croisement de la lignée flox-arrestin x Nestin Cre ERT2) ou dans les neurones hypothalamiques (croisement de la lignée flox-arrestin x SF1 Cre ERT2, par exemple) permettra de clarifier le rôle de ces protéines dans les effets comportementaux et neurogéniques des antidépresseurs. Par ailleurs, il sera important de poursuivre l'exploration du rôle des récepteurs 5-HT_{1A} et 5-HT_{1B} dans ces effets.

Conclusion

Dans ce travail nous avons montré qu'une administration prolongée de corticostérone induit un comportement de type anxio/dépressif chez la Souris, accompagné de perturbations moléculaires et cellulaires, sensibles à l'administration chronique d'antidépresseurs (fluoxétine ou agomélatine). En outre, les effets de ces molécules provoquent une amélioration de la neurogenèse hippocampique adulte en réponse à la corticostérone. Ce processus de plasticité est davantage répondeur à des effets neurogéniques des antidépresseurs, en conditions pathologiques. Ce nouveau modèle est le premier qui permette l'étude simultanée des multiples effets comportementaux, moléculaires et cellulaires d'un traitement antidépresseur chez le même animal, certains de ces effets étant neurogenèse-dépendants, et d'autres neurogenèse-indépendants. La question la plus importante à laquelle nous devons tenter de répondre maintenant est de savoir lequel de ces effets est le plus pertinent pour expliquer l'action antidépressive d'un médicament chez l'Homme. En d'autres termes, est-ce qu'une molécule qui exercera seulement des effets sur les processus dépendants de la neurogenèse hippocampique, permettra une action thérapeutique aussi efficace que les classes d'antidépresseurs actuelles.

BIBLIOGRAPHIE

- Aberg MA, Aberg ND, Hedbacker H, Oscarsson J, *et al.* (2000). Peripheral infusion of IGF-I selectively induces neurogenesis in the adult rat hippocampus. *J Neurosci*, **20**(8): 2896-2903.
- Abrous DN, Koehl M, Le Moal M (2005). Adult neurogenesis: from precursors to network and physiology. *Physiol Rev*, **85**(2): 523-569.
- Ackerman SH, Hofer MA, Weiner H (1978). Early maternal separation increases gastric ulcer risk in rats by producing a latent thermoregulatory disturbance. *Science*, **201**(4353): 373-376.
- Adell A, Celada P, Artigas F (2001). The role of 5-HT_{1B} receptors in the regulation of serotonin cell firing and release in the rat brain. *J Neurochem*, **79**(1): 172-182.
- Adham N, Romanienko P, Hartig P, Weinshank RL, *et al.* (1992). The rat 5-hydroxytryptamine_{1B} receptor is the species homologue of the human 5-hydroxytryptamine_{1D} beta receptor. *Mol Pharmacol*, **41**(1): 1-7.
- Adrien J, Dugovic C, Martin P (1991). Sleep-wakefulness patterns in the helpless rat. *Physiol Behav*, **49**(2): 257-262.
- Adrien J, Lanfumey L, Gozlan H, Fattaccini CM, *et al.* (1989). Biochemical and electrophysiological evidence for an agonist action of CM 57493 at pre- and postsynaptic 5-hydroxytryptamine_{1A} receptors in brain. *J Pharmacol Exp Ther*, **248**(3): 1222-1230.
- Aghajanian GK, Bloom FE (1967). Localization of tritiated serotonin in rat brain by electron-microscopic autoradiography. *J Pharmacol Exp Ther*, **156**(1): 23-30.
- Ago Y, Arikawa S, Yata M, Yano K, *et al.* (2008). Antidepressant-like effects of the glucocorticoid receptor antagonist RU-43044 are associated with changes in prefrontal dopamine in mouse models of depression. *Neuropharmacology*, **55**(8): 1355-1363.
- Aihara M, Ida I, Yuuki N, Oshima A, *et al.* (2007). HPA axis dysfunction in unmedicated major depressive disorder and its normalization by pharmacotherapy correlates with alteration of neural activity in prefrontal cortex and limbic/paralimbic regions. *Psychiatry Res*, **155**(3): 245-256.
- Aimone JB, Wiles J, Gage FH (2006). Potential role for adult neurogenesis in the encoding of time in new memories. *Nat Neurosci*, **9**(6): 723-727.
- Airan RD, Meltzer LA, Roy M, Gong Y, *et al.* (2007). High-speed imaging reveals neurophysiological links to behavior in an animal model of depression. *Science*, **317**(5839): 819-823.
- Albert PR, Lembo P, Storrington JM, Charest A, *et al.* (1996). The 5-HT_{1A} receptor: signaling, desensitization, and gene transcription. *Neuropsychopharmacology*, **14**(1): 19-25.
- Albert PR, Lemonde S (2004). 5-HT_{1A} receptors, gene repression, and depression: guilt by association. *Neuroscientist*, **10**(6): 575-593.
- Albert PR, Zhou QY, Van Tol HH, Bunzow JR, *et al.* (1990). Cloning, functional expression, and mRNA tissue distribution of the rat 5-hydroxytryptamine_{1A} receptor gene. *J Biol Chem*, **265**(10): 5825-5832.
- Alex KD, Pehek EA (2007). Pharmacologic mechanisms of serotonergic regulation of dopamine neurotransmission. *Pharmacol Ther*, **113**(2): 296-320.

- Alexandre C, Popa D, Fabre V, Bouali S, et al.** (2006). Early life blockade of 5-hydroxytryptamine 1A receptors normalizes sleep and depression-like behavior in adult knock-out mice lacking the serotonin transporter. *J Neurosci*, **26**(20): 5554-5564.
- Allen JP, Allen CF** (1974). Role of the amygdaloid complexes in the stress-induced release of ACTH in the rat. *Neuroendocrinology*, **15**(3-4): 220-230.
- Alonso G** (2000). Prolonged corticosterone treatment of adult rats inhibits the proliferation of oligodendrocyte progenitors present throughout white and gray matter regions of the brain. *Glia*, **31**(3): 219-231.
- Altman J, Das GD** (1966). Autoradiographic and histological studies of postnatal neurogenesis. I. A longitudinal investigation of the kinetics, migration and transformation of cells incorporating tritiated thymidine in neonate rats, with special reference to postnatal neurogenesis in some brain regions. *J Comp Neurol*, **126**(3): 337-389.
- Alvarez-Buylla A, Garcia-Verdugo JM** (2002). Neurogenesis in adult subventricular zone. *J Neurosci*, **22**(3): 629-634.
- Andreoli V, Caillard V, Deo RS, Rybakowski JK, et al.** (2002). Reboxetine, a new noradrenaline selective antidepressant, is at least as effective as fluoxetine in the treatment of depression. *J Clin Psychopharmacol*, **22**(4): 393-399.
- Anisman H, Ravindran AV, Griffiths J, Merali Z** (1999). Endocrine and cytokine correlates of major depression and dysthymia with typical or atypical features. *Mol Psychiatry*, **4**(2): 182-188.
- Anthony JP, Sexton TJ, Neumaier JF** (2000). Antidepressant-induced regulation of 5-HT(1b) mRNA in rat dorsal raphe nucleus reverses rapidly after drug discontinuation. *J Neurosci Res*, **61**(1): 82-87.
- Antonijevic IA** (2006). Depressive disorders -- is it time to endorse different pathophysiologies? *Psychoneuroendocrinology*, **31**(1): 1-15.
- Arango V, Huang YY, Underwood MD, Mann JJ** (2003). Genetics of the serotonergic system in suicidal behavior. *J Psychiatr Res*, **37**(5): 375-386.
- Arango V, Underwood MD, Boldrini M, Tamir H, et al.** (2001). Serotonin 1A receptors, serotonin transporter binding and serotonin transporter mRNA expression in the brainstem of depressed suicide victims. *Neuropsychopharmacology*, **25**(6): 892-903.
- Arendt J** (1998). Complex effects of melatonin. *Therapie*, **53**(5): 479-488.
- Artigas F, Nutt DJ, Shelton R** (2002). Mechanism of action of antidepressants. *Psychopharmacol Bull*, **36 Suppl 2**: 123-132.
- Ase AR, Reader TA, Hen R, Descarries L** (2008). Regionally selective changes in neurotransmitter receptors in the brain of the 5-HT1B knockout mouse. *J Chem Neuroanat*, **35**(4): 356-363.
- Ase AR, Reader TA, Hen R, Riad M, et al.** (2000). Altered serotonin and dopamine metabolism in the CNS of serotonin 5-HT(1A) or 5-HT(1B) receptor knockout mice. *J Neurochem*, **75**(6): 2415-2426.
- Audinot V, Mailliet F, Lahaye-Brasseur C, Bonnaud A, et al.** (2003). New selective ligands of human cloned melatonin MT1 and MT2 receptors. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, **367**(6): 553-561.
- Austin MC, Whitehead RE, Edgar CL, Janosky JE, et al.** (2002). Localized decrease in serotonin transporter-immunoreactive axons in the prefrontal cortex of depressed subjects committing suicide. *Neuroscience*, **114**(3): 807-815.

- Avissar S, Matuzany-Ruban A, Tzukert K, Schreiber G** (2004). Beta-arrestin-1 levels: reduced in leukocytes of patients with depression and elevated by antidepressants in rat brain. *Am J Psychiatry*, **161**(11): 2066-2072.
- Bai L, Zhang X, Ghishan FK** (2003). Characterization of vesicular glutamate transporter in pancreatic alpha - and beta -cells and its regulation by glucose. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, **284**(5): G808-814.
- Balsalobre A, Brown SA, Marcacci L, Tronche F, et al.** (2000). Resetting of circadian time in peripheral tissues by glucocorticoid signaling. *Science*, **289**(5488): 2344-2347.
- Balu DT, Lucki I** (2009). Adult hippocampal neurogenesis: regulation, functional implications, and contribution to disease pathology. *Neurosci Biobehav Rev*, **33**(3): 232-252.
- Balu R, Pressler RT, Strowbridge BW** (2007). Multiple modes of synaptic excitation of olfactory bulb granule cells. *J Neurosci*, **27**(21): 5621-5632.
- Banasr M, Hery M, Brezun JM, Daszuta A** (2001). Serotonin mediates oestrogen stimulation of cell proliferation in the adult dentate gyrus. *Eur J Neurosci*, **14**(9): 1417-1424.
- Banasr M, Hery M, Printemps R, Daszuta A** (2004). Serotonin-induced increases in adult cell proliferation and neurogenesis are mediated through different and common 5-HT receptor subtypes in the dentate gyrus and the subventricular zone. *Neuropsychopharmacology*, **29**(3): 450-460.
- Banasr M, Soumier A, Hery M, Mocaer E, et al.** (2006). Agomelatine, a new antidepressant, induces regional changes in hippocampal neurogenesis. *Biol Psychiatry*, **59**(11): 1087-1096.
- Bannerman DM, Rawlins JN, McHugh SB, Deacon RM, et al.** (2004). Regional dissociations within the hippocampus--memory and anxiety. *Neurosci Biobehav Rev*, **28**(3): 273-283.
- Bao AM, Meynen G, Swaab DF** (2008). The stress system in depression and neurodegeneration: focus on the human hypothalamus. *Brain Res Rev*, **57**(2): 531-553.
- Bao AM, Swaab DF** (2010). Sex differences in the brain, behavior, and neuropsychiatric disorders. *Neuroscientist*, **16**(5): 550-565.
- Barden N, Shink E, Labbe M, Vacher R, et al.** (2005). Antidepressant action of agomelatine (S 20098) in a transgenic mouse model. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, **29**(6): 908-916.
- Barker EL, Blakely RD** (1996). Identification of a single amino acid, phenylalanine 586, that is responsible for high affinity interactions of tricyclic antidepressants with the human serotonin transporter. *Mol Pharmacol*, **50**(4): 957-965.
- Barkho BZ, Song H, Aimone JB, Smrt RD, et al.** (2006). Identification of astrocyte-expressed factors that modulate neural stem/progenitor cell differentiation. *Stem Cells Dev*, **15**(3): 407-421.
- Barnes NM, Sharp T** (1999). A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacology*, **38**(8): 1083-1152.
- Baxter G, Kennett G, Blaney F, Blackburn T** (1995). 5-HT₂ receptor subtypes: a family reunited? *Trends Pharmacol Sci*, **16**(3): 105-110.
- Beaumont K, Fanestil DD** (1983). Characterization of rat brain aldosterone receptors reveals high affinity for corticosterone. *Endocrinology*, **113**(6): 2043-2051.
- Belanoff JK, Rothschild AJ, Cassidy F, DeBattista C, et al.** (2002). An open label trial of C-1073 (mifepristone) for psychotic major depression. *Biol Psychiatry*, **52**(5): 386-392.

- Belluzzi O, Benedusi M, Ackman J, LoTurco JJ** (2003). Electrophysiological differentiation of new neurons in the olfactory bulb. *J Neurosci*, **23**(32): 10411-10418.
- Belmaker RH, Agam G** (2008). Major depressive disorder. *N Engl J Med*, **358**(1): 55-68.
- Benazzi F** (2003). The symptoms of atypical depression. *Can J Psychiatry*, **48**(5): 350-351.
- Bengel D, Johren O, Andrews AM, Heils A, et al.** (1997). Cellular localization and expression of the serotonin transporter in mouse brain. *Brain Res*, **778**(2): 338-345.
- Benloucif S, Keegan MJ, Galloway MP** (1993). Serotonin-facilitated dopamine release in vivo: pharmacological characterization. *J Pharmacol Exp Ther*, **265**(1): 373-377.
- Benne R** (1996). RNA editing. The long and the short of it. *Nature*, **380**(6573): 391-392.
- Benninghoff J, Gritti A, Rizzi M, Lamorte G, et al.** (2010). Serotonin depletion hampers survival and proliferation in neurospheres derived from adult neural stem cells. *Neuropsychopharmacology*, **35**(4): 893-903.
- Berg KA, Cropper JD, Niswender CM, Sanders-Bush E, et al.** (2001). RNA-editing of the 5-HT(2C) receptor alters agonist-receptor-effector coupling specificity. *Br J Pharmacol*, **134**(2): 386-392.
- Berg KA, Harvey JA, Spampinato U, Clarke WP** (2008). Physiological and therapeutic relevance of constitutive activity of 5-HT 2A and 5-HT 2C receptors for the treatment of depression. *Prog Brain Res*, **172**: 287-305.
- Berger S, Wolfer DP, Selbach O, Alter H, et al.** (2006). Loss of the limbic mineralocorticoid receptor impairs behavioral plasticity. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **103**(1): 195-200.
- Berkenbosch F, de Goeij DE, Rey AD, Besedovsky HO** (1989). Neuroendocrine, sympathetic and metabolic responses induced by interleukin-1. *Neuroendocrinology*, **50**(5): 570-576.
- Berrebi D, Bruscoli S, Cohen N, Foussat A, et al.** (2003). Synthesis of glucocorticoid-induced leucine zipper (GILZ) by macrophages: an anti-inflammatory and immunosuppressive mechanism shared by glucocorticoids and IL-10. *Blood*, **101**(2): 729-738.
- Bertaina-Anglade V, la Rochelle CD, Boyer PA, Mocaer E** (2006). Antidepressant-like effects of agomelatine (S 20098) in the learned helplessness model. *Behav Pharmacol*, **17**(8): 703-713.
- Berton O, McClung CA, Dileone RJ, Krishnan V, et al.** (2006). Essential role of BDNF in the mesolimbic dopamine pathway in social defeat stress. *Science*, **311**(5762): 864-868.
- Beskow J, Gottfries CG, Roos BE, Winblad B** (1976). Determination of monoamine and monoamine metabolites in the human brain: post mortem studies in a group of suicides and in a control group. *Acta Psychiatr Scand*, **53**(1): 7-20.
- Bessa JM, Ferreira D, Melo I, Marques F, et al.** (2009). The mood-improving actions of antidepressants do not depend on neurogenesis but are associated with neuronal remodeling. *Mol Psychiatry*, **14**(8): 764-773, 739.
- Bhatnagar S, Dallman M** (1998). Neuroanatomical basis for facilitation of hypothalamic-pituitary-adrenal responses to a novel stressor after chronic stress. *Neuroscience*, **84**(4): 1025-1039.
- Bhatnagar S, Vining C, Denski K** (2004). Regulation of chronic stress-induced changes in hypothalamic-pituitary-adrenal activity by the basolateral amygdala. *Ann N Y Acad Sci*, **1032**: 315-319.
- Bidmon HJ, Schleicher A, Wicke K, Gross G, et al.** (2001). Localisation of mRNA for h5-HT1B and h5-HT1D receptors in human dorsal raphe. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, **363**(3): 364-368.

- Binneman B, Feltner D, Kolluri S, Shi Y, et al.** (2008). A 6-week randomized, placebo-controlled trial of CP-316,311 (a selective CRH1 antagonist) in the treatment of major depression. *Am J Psychiatry*, **165**(5): 617-620.
- Bjorkqvist K** (2001). Social defeat as a stressor in humans. *Physiol Behav*, **73**(3): 435-442.
- Blakely RD, Berson HE, Freneau RT, Jr., Caron MG, et al.** (1991). Cloning and expression of a functional serotonin transporter from rat brain. *Nature*, **354**(6348): 66-70.
- Blanchard DC, Spencer RL, Weiss SM, Blanchard RJ, et al.** (1995). Visible burrow system as a model of chronic social stress: behavioral and neuroendocrine correlates. *Psychoneuroendocrinology*, **20**(2): 117-134.
- Blendy JA** (2006). The role of CREB in depression and antidepressant treatment. *Biol Psychiatry*, **59**(12): 1144-1150.
- Blier P, de Montigny C** (1983). Effects of quipazine on pre- and postsynaptic serotonin receptors: single cell studies in the rat CNS. *Neuropharmacology*, **22**(4): 495-499.
- Blier P, de Montigny C** (1987). Modification of 5-HT neuron properties by sustained administration of the 5-HT1A agonist gepirone: electrophysiological studies in the rat brain. *Synapse*, **1**(5): 470-480.
- Blier P, Pineyro G, el Mansari M, Bergeron R, et al.** (1998). Role of somatodendritic 5-HT autoreceptors in modulating 5-HT neurotransmission. *Ann N Y Acad Sci*, **861**: 204-216.
- Bockaert J, Dumuis A, Bouhelal R, Sebben M, et al.** (1987). Piperazine derivatives including the putative anxiolytic drugs, buspirone and ipsapirone, are agonists at 5-HT1A receptors negatively coupled with adenylate cyclase in hippocampal neurons. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, **335**(5): 588-592.
- Boeijinga PH, Boddeke HW** (1996). Activation of 5-HT1B receptors suppresses low but not high frequency synaptic transmission in the rat subicular cortex in vitro. *Brain Res*, **721**(1-2): 59-65.
- Bohus B, Koolhaas JM, Heijnen CJ, de Boer O** (1993). Immunological responses to social stress: dependence on social environment and coping abilities. *Neuropsychobiology*, **28**(1-2): 95-99.
- Boldrini M, Underwood MD, Hen R, Rosoklija GB, et al.** (2009). Antidepressants increase neural progenitor cells in the human hippocampus. *Neuropsychopharmacology*, **34**(11): 2376-2389.
- Boldrini M, Underwood MD, Mann JJ, Arango V** (2008). Serotonin-1A autoreceptor binding in the dorsal raphe nucleus of depressed suicides. *J Psychiatr Res*, **42**(6): 433-442.
- Bondy B, Buettner A, Zill P** (2006). Genetics of suicide. *Mol Psychiatry*, **11**(4): 336-351.
- Boschert U, Amara DA, Segu L, Hen R** (1994). The mouse 5-hydroxytryptamine1B receptor is localized predominantly on axon terminals. *Neuroscience*, **58**(1): 167-182.
- Bouchard TJ, Jr.** (1994). Genes, environment, and personality. *Science*, **264**(5166): 1700-1701.
- Boudaba C, Szabo K, Tasker JG** (1996). Physiological mapping of local inhibitory inputs to the hypothalamic paraventricular nucleus. *J Neurosci*, **16**(22): 7151-7160.
- Bourin M, Mocaer E, Porsolt R** (2004). Antidepressant-like activity of S 20098 (agomelatine) in the forced swimming test in rodents: involvement of melatonin and serotonin receptors. *J Psychiatry Neurosci*, **29**(2): 126-133.
- Bourne HR, Bunney WE, Jr., Colburn RW, Davis JM, et al.** (1968). Noradrenaline, 5-hydroxytryptamine, and 5-hydroxyindoleacetic acid in hindbrains of suicidal patients. *Lancet*, **2**(7572): 805-808.

- Boutrel B, Franc B, Hen R, Hamon M, et al.** (1999). Key role of 5-HT_{1B} receptors in the regulation of paradoxical sleep as evidenced in 5-HT_{1B} knock-out mice. *J Neurosci*, **19**(8): 3204-3212.
- Bouwknicht JA, Hijzen TH, van der Gugten J, Maes RA, et al.** (2001). Absence of 5-HT_{1B} receptors is associated with impaired impulse control in male 5-HT_{1B} knockout mice. *Biol Psychiatry*, **49**(7): 557-568.
- Bovetti S, Veyrac A, Peretto P, Fasolo A, et al.** (2009). Olfactory enrichment influences adult neurogenesis modulating GAD67 and plasticity-related molecules expression in newborn cells of the olfactory bulb. *PLoS One*, **4**(7): e6359.
- Boyle MP, Brewer JA, Funatsu M, Wozniak DF, et al.** (2005). Acquired deficit of forebrain glucocorticoid receptor produces depression-like changes in adrenal axis regulation and behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **102**(2): 473-478.
- Brain PF** (1972). Mammalian behavior and the adrenal cortex. A review. *Behav Biol*, **7**(4): 453-477.
- Brain PF, Howell PA, Benton D, Jones SE** (1979). Studies on responses by 'resident' rats housed in different ways to intruders of differing endocrine status [proceedings]. *J Endocrinol*, **81**(2): 135P-136P.
- Bramley JR, Sollars PJ, Pickard GE, Dudek FE** (2005). 5-HT_{1B} receptor-mediated presynaptic inhibition of GABA release in the suprachiasmatic nucleus. *J Neurophysiol*, **93**(6): 3157-3164.
- Brandt MD, Jessberger S, Steiner B, Kronenberg G, et al.** (2003). Transient calretinin expression defines early postmitotic step of neuronal differentiation in adult hippocampal neurogenesis of mice. *Mol Cell Neurosci*, **24**(3): 603-613.
- Bremner JD, Narayan M, Anderson ER, Staib LH, et al.** (2000). Hippocampal volume reduction in major depression. *Am J Psychiatry*, **157**(1): 115-118.
- Breton-Provencher V, Lemasson M, Peralta MR, 3rd, Saghatelian A** (2009). Interneurons produced in adulthood are required for the normal functioning of the olfactory bulb network and for the execution of selected olfactory behaviors. *J Neurosci*, **29**(48): 15245-15257.
- Breuner CW, Orchinik M** (2002). Plasma binding proteins as mediators of corticosteroid action in vertebrates. *J Endocrinol*, **175**(1): 99-112.
- Brezun JM, Daszuta A** (1999). Depletion in serotonin decreases neurogenesis in the dentate gyrus and the subventricular zone of adult rats. *Neuroscience*, **89**(4): 999-1002.
- Brinks V, Berger S, Gass P, de Kloet ER, et al.** (2009). Mineralocorticoid receptors in control of emotional arousal and fear memory. *Horm Behav*, **56**(2): 232-238.
- Bristow LJ, O'Connor D, Watts R, Duxon MS, et al.** (2000). Evidence for accelerated desensitisation of 5-HT_{2C} receptors following combined treatment with fluoxetine and the 5-HT_{1A} receptor antagonist, WAY 100,635, in the rat. *Neuropharmacology*, **39**(7): 1222-1236.
- Bronson FH** (1979). Rapid deposition of subcutaneous areolar tissue in response to sexual stimulation in mice. *Nature*, **281**(5729): 301-302.
- Brown GW, Prudo R** (1981). Psychiatric disorder in a rural and an urban population: 1. Aetiology of depression. *Psychol Med*, **11**(3): 581-599.
- Bruel-Jungerman E, Davis S, Rampon C, Laroche S** (2006). Long-term potentiation enhances neurogenesis in the adult dentate gyrus. *J Neurosci*, **26**(22): 5888-5893.
- Bruinvels AT, Palacios JM, Hoyer D** (1993). Autoradiographic characterisation and localisation of 5-HT_{1D} compared to 5-HT_{1B} binding sites in rat brain. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, **347**(6): 569-582.

- Brunello N, Mendlewicz J, Kasper S, Leonard B, et al.** (2002). The role of noradrenaline and selective noradrenaline reuptake inhibition in depression. *Eur Neuropsychopharmacol*, **12**(5): 461-475.
- Brunner D, Hen R** (1997). Insights into the neurobiology of impulsive behavior from serotonin receptor knockout mice. *Ann N Y Acad Sci*, **836**: 81-105.
- Bruss M, Bonisch H, Buhlen M, Nothen MM, et al.** (1999). Modified ligand binding to the naturally occurring Cys-124 variant of the human serotonin 5-HT1B receptor. *Pharmacogenetics*, **9**(1): 95-102.
- Buchanan TW, Lovallo WR** (2001). Enhanced memory for emotional material following stress-level cortisol treatment in humans. *Psychoneuroendocrinology*, **26**(3): 307-317.
- Buhlen M, Fink K, Boing C, Gothert M** (1996). Evidence for presynaptic location of inhibitory 5-HT1D beta-like autoreceptors in the guinea-pig brain cortex. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, **353**(3): 281-289.
- Buhot MC, Patra SK, Naili S** (1995). Spatial memory deficits following stimulation of hippocampal 5-HT1B receptors in the rat. *Eur J Pharmacol*, **285**(3): 221-228.
- Buijs RM, Kalsbeek A** (2001). Hypothalamic integration of central and peripheral clocks. *Nat Rev Neurosci*, **2**(7): 521-526.
- Bunney WE, Jr., Davis JM** (1965). Norepinephrine in depressive reactions. A review. *Arch Gen Psychiatry*, **13**(6): 483-494.
- Burnet PW, Eastwood SL, Lacey K, Harrison PJ** (1995). The distribution of 5-HT1A and 5-HT2A receptor mRNA in human brain. *Brain Res*, **676**(1): 157-168.
- Burns CM, Chu H, Rueter SM, Hutchinson LK, et al.** (1997). Regulation of serotonin-2C receptor G-protein coupling by RNA editing. *Nature*, **387**(6630): 303-308.
- Bursztajn S, Falls WA, Berman SA, Friedman MJ** (2007). Cell proliferation in the brains of NMDAR NR1 transgenic mice. *Brain Res*, **1172**: 10-20.
- Bush VL, Middlemiss DN, Marsden CA, Fone KC** (2003). Implantation of a slow release corticosterone pellet induces long-term alterations in serotonergic neurochemistry in the rat brain. *J Neuroendocrinol*, **15**(6): 607-613.
- Buwalda B, Kole MH, Veenema AH, Huininga M, et al.** (2005). Long-term effects of social stress on brain and behavior: a focus on hippocampal functioning. *Neurosci Biobehav Rev*, **29**(1): 83-97.
- Cai WH, Blundell J, Han J, Greene RW, et al.** (2006). Postreactivation glucocorticoids impair recall of established fear memory. *J Neurosci*, **26**(37): 9560-9566.
- Caldji C, Diorio J, Meaney MJ** (2000). Variations in maternal care in infancy regulate the development of stress reactivity. *Biol Psychiatry*, **48**(12): 1164-1174.
- Camandola S, Mattson MP** (2007). NF-kappa B as a therapeutic target in neurodegenerative diseases. *Expert Opin Ther Targets*, **11**(2): 123-132.
- Camarena B, Aguilar A, Loyzaga C, Nicolini H** (2004). A family-based association study of the 5-HT1Dbeta receptor gene in obsessive-compulsive disorder. *Int J Neuropsychopharmacol*, **7**(1): 49-53.
- Cameron HA, Gould E** (1994). Adult neurogenesis is regulated by adrenal steroids in the dentate gyrus. *Neuroscience*, **61**(2): 203-209.
- Cameron HA, McEwen BS, Gould E** (1995). Regulation of adult neurogenesis by excitatory input and NMDA receptor activation in the dentate gyrus. *J Neurosci*, **15**(6): 4687-4692.
- Carleton A, Petreanu LT, Lansford R, Alvarez-Buylla A, et al.** (2003). Becoming a new neuron in the adult olfactory bulb. *Nat Neurosci*, **6**(5): 507-518.
- Carroll BJ** (1982). Use of the dexamethasone suppression test in depression. *J Clin Psychiatry*, **43**(11 Pt 2): 44-50.

- Carroll BJ, Cassidy F, Naftolowitz D, Tatham NE, et al.** (2007). Pathophysiology of hypercortisolism in depression. *Acta Psychiatr Scand Suppl*, (433): 90-103.
- Caspi A, Hariri AR, Holmes A, Uher R, et al.** (2010). Genetic sensitivity to the environment: the case of the serotonin transporter gene and its implications for studying complex diseases and traits. *Am J Psychiatry*, **167**(5): 509-527.
- Caspi A, Sugden K, Moffitt TE, Taylor A, et al.** (2003). Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene. *Science*, **301**(5631): 386-389.
- Cassel JC, Jeltsch H, Neufang B, Lauth D, et al.** (1995). Downregulation of muscarinic- and 5-HT_{1B}-mediated modulation of [3H]acetylcholine release in hippocampal slices of rats with fimbria-fornix lesions and intrahippocampal grafts of septal origin. *Brain Res*, **704**(2): 153-166.
- Chalmers DT, Watson SJ** (1991). Comparative anatomical distribution of 5-HT_{1A} receptor mRNA and 5-HT_{1A} binding in rat brain--a combined in situ hybridisation/in vitro receptor autoradiographic study. *Brain Res*, **561**(1): 51-60.
- Chang AS, Chang SM, Starnes DM, Schroeter S, et al.** (1996). Cloning and expression of the mouse serotonin transporter. *Brain Res Mol Brain Res*, **43**(1-2): 185-192.
- Chang AS, Lam DM** (1998). Mechanistic analyses of ion dependences in a high-affinity human serotonin transport system in transfected murine fibroblast cells. *J Physiol*, **510** (Pt 3): 903-913.
- Charmandari E, Tsigos C, Chrousos G** (2005). Endocrinology of the stress response. *Annu Rev Physiol*, **67**: 259-284.
- Chen G, Manji HK** (2006). The extracellular signal-regulated kinase pathway: an emerging promising target for mood stabilizers. *Curr Opin Psychiatry*, **19**(3): 313-323.
- Chen Y, Penington NJ** (1996). Differential effects of protein kinase C activation on 5-HT_{1A} receptor coupling to Ca²⁺ and K⁺ currents in rat serotonergic neurones. *J Physiol*, **496** (Pt 1): 129-137.
- Chen ZY, Bath K, McEwen B, Hempstead B, et al.** (2008). Impact of genetic variant BDNF (Val66Met) on brain structure and function. *Novartis Found Symp*, **289**: 180-188; discussion 188-195.
- Cheng MY, Bullock CM, Li C, Lee AG, et al.** (2002). Prokineticin 2 transmits the behavioural circadian rhythm of the suprachiasmatic nucleus. *Nature*, **417**(6887): 405-410.
- Chenu F, David DJ, Leroux-Nicollet I, Le Maitre E, et al.** (2008). Serotonin_{1B} heteroreceptor activation induces an antidepressant-like effect in mice with an alteration of the serotonergic system. *J Psychiatry Neurosci*, **33**(6): 541-550.
- Chojnacka-Wojcik E, Klodzinska A, Tatarczynska E** (2005). The anxiolytic-like effect of 5-HT_{1B} receptor ligands in rats: a possible mechanism of action. *J Pharm Pharmacol*, **57**(2): 253-257.
- Chourbaji S, Zacher C, Sanchis-Segura C, Dormann C, et al.** (2005). Learned helplessness: validity and reliability of depressive-like states in mice. *Brain Res Brain Res Protoc*, **16**(1-3): 70-78.
- Clarke WP, Yocca FD, Maayani S** (1996). Lack of 5-hydroxytryptamine_{1A}-mediated inhibition of adenylyl cyclase in dorsal raphe of male and female rats. *J Pharmacol Exp Ther*, **277**(3): 1259-1266.
- Clawges HM, Depree KM, Parker EM, Graber SG** (1997). Human 5-HT₁ receptor subtypes exhibit distinct G protein coupling behaviors in membranes from Sf9 cells. *Biochemistry*, **36**(42): 12930-12938.

- Colla M, Kronenberg G, Deuschle M, Meichel K, et al.** (2007). Hippocampal volume reduction and HPA-system activity in major depression. *J Psychiatr Res*, **41**(7): 553-560.
- Coppen A** (1967). The biochemistry of affective disorders. *Br J Psychiatry*, **113**(504): 1237-1264.
- Cortes R, Soriano E, Pazos A, Probst A, et al.** (1988). Autoradiography of antidepressant binding sites in the human brain: localization using [3H]imipramine and [3H]paroxetine. *Neuroscience*, **27**(2): 473-496.
- Couillard-Despres S, Winner B, Karl C, Lindemann G, et al.** (2006). Targeted transgene expression in neuronal precursors: watching young neurons in the old brain. *Eur J Neurosci*, **24**(6): 1535-1545.
- Couillard-Despres S, Winner B, Schauback S, Aigner R, et al.** (2005). Doublecortin expression levels in adult brain reflect neurogenesis. *Eur J Neurosci*, **21**(1): 1-14.
- Coupland NJ, Ogilvie CJ, Hegadoren KM, Seres P, et al.** (2005). Decreased prefrontal Myo-inositol in major depressive disorder. *Biol Psychiatry*, **57**(12): 1526-1534.
- Covington HE, 3rd, Miczek KA** (2001). Repeated social-defeat stress, cocaine or morphine. Effects on behavioral sensitization and intravenous cocaine self-administration "binges". *Psychopharmacology (Berl)*, **158**(4): 388-398.
- Cowen PJ** (1998). Back to the future: the neurobiology of major depression. *Psychol Med*, **28**(2): 253-255.
- Craig CG, Tropepe V, Morshead CM, Reynolds BA, et al.** (1996). In vivo growth factor expansion of endogenous subependymal neural precursor cell populations in the adult mouse brain. *J Neurosci*, **16**(8): 2649-2658.
- Cryan JF, Markou A, Lucki I** (2002). Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacol Sci*, **23**(5): 238-245.
- Cryan JF, Slattery DA** (2007). Animal models of mood disorders: Recent developments. *Curr Opin Psychiatry*, **20**(1): 1-7.
- Czeh B, Lucassen PJ** (2007). What causes the hippocampal volume decrease in depression? Are neurogenesis, glial changes and apoptosis implicated? *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, **257**(5): 250-260.
- Czeh B, Michaelis T, Watanabe T, Frahm J, et al.** (2001). Stress-induced changes in cerebral metabolites, hippocampal volume, and cell proliferation are prevented by antidepressant treatment with tianeptine. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **98**(22): 12796-12801.
- Czeh B, Simon M, Schmelting B, Hiemke C, et al.** (2006). Astroglial plasticity in the hippocampus is affected by chronic psychosocial stress and concomitant fluoxetine treatment. *Neuropsychopharmacology*, **31**(8): 1616-1626.
- Czeh B, Welt T, Fischer AK, Erhardt A, et al.** (2002). Chronic psychosocial stress and concomitant repetitive transcranial magnetic stimulation: effects on stress hormone levels and adult hippocampal neurogenesis. *Biol Psychiatry*, **52**(11): 1057-1065.
- D'Amato RJ, Largent BL, Snowman AM, Snyder SH** (1987). Selective labeling of serotonin uptake sites in rat brain by [3H]citalopram contrasted to labeling of multiple sites by [3H]imipramine. *J Pharmacol Exp Ther*, **242**(1): 364-371.
- Dagyte G, Crescente I, Postema F, Seguin L, et al.** (2011). Agomelatine reverses the decrease in hippocampal cell survival induced by chronic mild stress. *Behav Brain Res*, **218**(1): 121-128.
- Dagyte G, Trentani A, Postema F, Luiten PG, et al.** (2010). The novel antidepressant agomelatine normalizes hippocampal neuronal activity and promotes neurogenesis in chronically stressed rats. *CNS Neurosci Ther*, **16**(4): 195-207.

- Dallman MF** (1993). Stress update Adaptation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis to chronic stress. *Trends Endocrinol Metab*, **4**(2): 62-69.
- Dallman MF** (2005). Fast glucocorticoid actions on brain: back to the future. *Front Neuroendocrinol*, **26**(3-4): 103-108.
- Dallman MF, Engeland WC, Rose JC, Wilkinson CW, et al.** (1978). Nycthemeral rhythm in adrenal responsiveness to ACTH. *Am J Physiol*, **235**(5): R210-218.
- David DJ, Klemenhausen KC, Holick KA, Saxe MD, et al.** (2007). Efficacy of the MCHR1 antagonist N-[3-(1-{[4-(3,4-difluorophenoxy)phenyl]methyl}(4-piperidyl))-4-methylphenyl]-2-methylpropanamide (SNAP 94847) in mouse models of anxiety and depression following acute and chronic administration is independent of hippocampal neurogenesis. *J Pharmacol Exp Ther*, **321**(1): 237-248.
- David DJ, Samuels BA, Rainer Q, Wang JW, et al.** (2009). Neurogenesis-dependent and -independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. *Neuron*, **62**(4): 479-493.
- David DJ, Wang J, Samuels BA, Rainer Q, et al.** (2010). Implications of the functional integration of adult-born hippocampal neurons in anxiety-depression disorders. *Neuroscientist*, **16**(5): 578-591.
- Davies PA, Pistis M, Hanna MC, Peters JA, et al.** (1999). The 5-HT_{3B} subunit is a major determinant of serotonin-receptor function. *Nature*, **397**(6717): 359-363.
- Davis DE, Christian JJ** (1957). Relation of adrenal weight to social rank of mice. *Proc Soc Exp Biol Med*, **94**(4): 728-731.
- Dawson LA, Hughes ZA, Starr KR, Storey JD, et al.** (2006). Characterisation of the selective 5-HT_{1B} receptor antagonist SB-616234-A (1-[6-(cis-3,5-dimethylpiperazin-1-yl)-2,3-dihydro-5-methoxyindol-1-yl]-1-[2'-methyl-4'-(5-methyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)biphenyl-4-yl]methanone hydrochloride): in vivo neurochemical and behavioural evidence of anxiolytic/antidepressant activity. *Neuropharmacology*, **50**(8): 975-983.
- Dayas CV, Day TA** (2002). Opposing roles for medial and central amygdala in the initiation of noradrenergic cell responses to a psychological stressor. *Eur J Neurosci*, **15**(10): 1712-1718.
- De Bellis MD, Geraciotti TD, Jr., Altemus M, Kling MA** (1993). Cerebrospinal fluid monoamine metabolites in fluoxetine-treated patients with major depression and in healthy volunteers. *Biol Psychiatry*, **33**(8-9): 636-641.
- de Bodinat C, Guardiola-Lemaitre B, Mocaer E, Renard P, et al.** (2010). Agomelatine, the first melatonergic antidepressant: discovery, characterization and development. *Nat Rev Drug Discov*, **9**(8): 628-642.
- De Deurwaerdere P, Spampinato U** (1999). Role of serotonin(2A) and serotonin(2B/2C) receptor subtypes in the control of accumbal and striatal dopamine release elicited in vivo by dorsal raphe nucleus electrical stimulation. *J Neurochem*, **73**(3): 1033-1042.
- de Groote L, Olivier B, Westenberg HG** (2002). Extracellular serotonin in the prefrontal cortex is limited through terminal 5-HT(1B) autoreceptors: a microdialysis study in knockout mice. *Psychopharmacology (Berl)*, **162**(4): 419-424.
- De Groote L, Olivier B, Westenberg HG** (2003). Role of 5-HT_{1B} receptors in the regulation of extracellular serotonin and dopamine in the dorsal striatum of mice. *Eur J Pharmacol*, **476**(1-2): 71-77.
- de Kloet CS, Vermetten E, Heijnen CJ, Geuze E, et al.** (2007). Enhanced cortisol suppression in response to dexamethasone administration in traumatized veterans with and without posttraumatic stress disorder. *Psychoneuroendocrinology*, **32**(3): 215-226.
- de Kloet ER** (2003). Hormones, brain and stress. *Endocr Regul*, **37**(2): 51-68.

- de Kloet ER, Oitzl MS, Joels M** (1999). Stress and cognition: are corticosteroids good or bad guys? *Trends Neurosci*, **22**(10): 422-426.
- de Montigny C, Aghajanian GK** (1978). Tricyclic antidepressants: long-term treatment increases responsivity of rat forebrain neurons to serotonin. *Science*, **202**(4374): 1303-1306.
- de Montigny C, Blier P, Caille G, Kouassi E** (1981). Pre- and postsynaptic effects of zimelidine and norzimelidine on the serotonergic system: single cell studies in the rat. *Acta Psychiatr Scand Suppl*, **290**: 79-90.
- Deng DR, Djalali S, Holtje M, Grosse G, et al.** (2007). Embryonic and postnatal development of the serotonergic raphe system and its target regions in 5-HT1A receptor deletion or overexpressing mouse mutants. *Neuroscience*, **147**(2): 388-402.
- Dent GW, Smith MA, Levine S** (2001). Stress-induced alterations in locus coeruleus gene expression during ontogeny. *Brain Res Dev Brain Res*, **127**(1): 23-30.
- Dess NK, Raizer J, Chapman CD, Garcia J** (1988). Stressors in the learned helplessness paradigm: effects on body weight and conditioned taste aversion in rats. *Physiol Behav*, **44**(4-5): 483-490.
- Di Giovanni G, De Deurwaerdere P, Di Mascio M, Di Matteo V, et al.** (1999). Selective blockade of serotonin-2C/2B receptors enhances mesolimbic and mesostriatal dopaminergic function: a combined in vivo electrophysiological and microdialysis study. *Neuroscience*, **91**(2): 587-597.
- Di Giovanni G, Di Matteo V, Di Mascio M, Esposito E** (2000). Preferential modulation of mesolimbic vs. nigrostriatal dopaminergic function by serotonin(2C/2B) receptor agonists: a combined in vivo electrophysiological and microdialysis study. *Synapse*, **35**(1): 53-61.
- Dinkel K, MacPherson A, Sapolsky RM** (2003). Novel glucocorticoid effects on acute inflammation in the CNS. *J Neurochem*, **84**(4): 705-716.
- Djavadian RL** (2004). Serotonin and neurogenesis in the hippocampal dentate gyrus of adult mammals. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*, **64**(2): 189-200.
- Doetsch F, Caille I, Lim DA, Garcia-Verdugo JM, et al.** (1999a). Subventricular zone astrocytes are neural stem cells in the adult mammalian brain. *Cell*, **97**(6): 703-716.
- Doetsch F, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A** (1997). Cellular composition and three-dimensional organization of the subventricular germinal zone in the adult mammalian brain. *J Neurosci*, **17**(13): 5046-5061.
- Doetsch F, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A** (1999b). Regeneration of a germinal layer in the adult mammalian brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **96**(20): 11619-11624.
- Dominguez-Escriba L, Hernandez-Rabaza V, Soriano-Navarro M, Barcia JA, et al.** (2006). Chronic cocaine exposure impairs progenitor proliferation but spares survival and maturation of neural precursors in adult rat dentate gyrus. *Eur J Neurosci*, **24**(2): 586-594.
- Donovan MH, Yamaguchi M, Eisch AJ** (2008). Dynamic expression of TrkB receptor protein on proliferating and maturing cells in the adult mouse dentate gyrus. *Hippocampus*, **18**(5): 435-439.
- Doucet E, Pohl M, Fattacini CM, Adrien J, et al.** (1995). In situ hybridization evidence for the synthesis of 5-HT1B receptor in serotonergic neurons of anterior raphe nuclei in the rat brain. *Synapse*, **19**(1): 18-28.
- Dowlatshahi D, MacQueen GM, Wang JF, Young LT** (1998). Increased temporal cortex CREB concentrations and antidepressant treatment in major depression. *Lancet*, **352**(9142): 1754-1755.

- Dracheva S, Patel N, Woo DA, Marcus SM, et al.** (2008). Increased serotonin 2C receptor mRNA editing: a possible risk factor for suicide. *Mol Psychiatry*, **13**(11): 1001-1010.
- Drevets WC** (2003). Neuroimaging abnormalities in the amygdala in mood disorders. *Ann N Y Acad Sci*, **985**: 420-444.
- Drevets WC, Bogers W, Raichle ME** (2002). Functional anatomical correlates of antidepressant drug treatment assessed using PET measures of regional glucose metabolism. *Eur Neuropsychopharmacol*, **12**(6): 527-544.
- Drevets WC, Frank E, Price JC, Kupfer DJ, et al.** (2000). Serotonin type-1A receptor imaging in depression. *Nucl Med Biol*, **27**(5): 499-507.
- Drevets WC, Thase ME, Moses-Kolko EL, Price J, et al.** (2007). Serotonin-1A receptor imaging in recurrent depression: replication and literature review. *Nucl Med Biol*, **34**(7): 865-877.
- Drugan RC, Basile AS, Ha JH, Healy D, et al.** (1997). Analysis of the importance of controllable versus uncontrollable stress on subsequent behavioral and physiological functioning. *Brain Res Brain Res Protoc*, **2**(1): 69-74.
- Dubrovsky BO, Liguornik MS, Noble P, Gijsbers K** (1987). Effects of 5 alpha-dihydrocorticosterone on evoked responses and long-term potentiation. *Brain Res Bull*, **19**(6): 635-638.
- Ducottet C, Griebel G, Belzung C** (2003). Effects of the selective nonpeptide corticotropin-releasing factor receptor 1 antagonist antalarmin in the chronic mild stress model of depression in mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, **27**(4): 625-631.
- Duman RS, Charney DS** (1999). Cell atrophy and loss in major depression. *Biol Psychiatry*, **45**(9): 1083-1084.
- Duman RS, Heninger GR, Nestler EJ** (1997). A molecular and cellular theory of depression. *Arch Gen Psychiatry*, **54**(7): 597-606.
- Duman RS, Malberg J, Nakagawa S, D'Sa C** (2000). Neuronal plasticity and survival in mood disorders. *Biol Psychiatry*, **48**(8): 732-739.
- Duman RS, Nakagawa S, Malberg J** (2001). Regulation of adult neurogenesis by antidepressant treatment. *Neuropsychopharmacology*, **25**(6): 836-844.
- Duman RS, Newton SS** (2007). Epigenetic marking and neuronal plasticity. *Biol Psychiatry*, **62**(1): 1-3.
- Duncan GE, Little KY, Kirkman JA, Kaldas RS, et al.** (1992). Autoradiographic characterization of [3H]imipramine and [3H]citalopram binding in rat and human brain: species differences and relationships to serotonin innervation patterns. *Brain Res*, **591**(2): 181-197.
- Duncan WC, Jr.** (1996). Circadian rhythms and the pharmacology of affective illness. *Pharmacol Ther*, **71**(3): 253-312.
- Dunn JD, Orr SE** (1984). Differential plasma corticosterone responses to hippocampal stimulation. *Exp Brain Res*, **54**(1): 1-6.
- Dupin N, Mailliet F, Rocher C, Kessal K, et al.** (2006). Common efficacy of psychotropic drugs in restoring stress-induced impairment of prefrontal plasticity. *Neurotox Res*, **10**(3-4): 193-198.
- Dwivedi Y, Rizavi HS, Conley RR, Roberts RC, et al.** (2003). Altered gene expression of brain-derived neurotrophic factor and receptor tyrosine kinase B in postmortem brain of suicide subjects. *Arch Gen Psychiatry*, **60**(8): 804-815.
- Earnheart JC, Schweizer C, Crestani F, Iwasato T, et al.** (2007). GABAergic control of adult hippocampal neurogenesis in relation to behavior indicative of trait anxiety and depression states. *J Neurosci*, **27**(14): 3845-3854.

- El Mestikawy S, Riad M, Laporte AM, Verge D, et al.** (1990). Production of specific anti-rat 5-HT_{1A} receptor antibodies in rabbits injected with a synthetic peptide. *Neurosci Lett*, **118**(2): 189-192.
- Encinas JM, Vaahtokari A, Enikolopov G** (2006). Fluoxetine targets early progenitor cells in the adult brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **103**(21): 8233-8238.
- Engin E, Treit D** (2007). The role of hippocampus in anxiety: intracerebral infusion studies. *Behav Pharmacol*, **18**(5-6): 365-374.
- Evanson NK, Tasker JG, Hill MN, Hillard CJ, et al.** (2010). Fast feedback inhibition of the HPA axis by glucocorticoids is mediated by endocannabinoid signaling. *Endocrinology*, **151**(10): 4811-4819.
- Evrard A, Laporte AM, Chastanet M, Hen R, et al.** (1999). 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors control the firing of serotonergic neurons in the dorsal raphe nucleus of the mouse: studies in 5-HT_{1B} knock-out mice. *Eur J Neurosci*, **11**(11): 3823-3831.
- Fales CL, Barch DM, Rundle MM, Mintun MA, et al.** (2009). Antidepressant treatment normalizes hypoactivity in dorsolateral prefrontal cortex during emotional interference processing in major depression. *J Affect Disord*, **112**(1-3): 206-211.
- Fanselow MS, Dong HW** (2010). Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? *Neuron*, **65**(1): 7-19.
- Fargin A, Raymond JR, Lohse MJ, Kobilka BK, et al.** (1988). The genomic clone G-21 which resembles a beta-adrenergic receptor sequence encodes the 5-HT_{1A} receptor. *Nature*, **335**(6188): 358-360.
- Faulkner RL, Jang MH, Liu XB, Duan X, et al.** (2008). Development of hippocampal mossy fiber synaptic outputs by new neurons in the adult brain. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **105**(37): 14157-14162.
- Fava M, Kendler KS** (2000). Major depressive disorder. *Neuron*, **28**(2): 335-341.
- Feldman S, Conforti N, Melamed E** (1987). Paraventricular nucleus serotonin mediates neurally stimulated adrenocortical secretion. *Brain Res Bull*, **18**(2): 165-168.
- Feldman S, Conforti N, Saphier D** (1990). The preoptic area and bed nucleus of the stria terminalis are involved in the effects of the amygdala on adrenocortical secretion. *Neuroscience*, **37**(3): 775-779.
- Fendler K, Karmos G, Telegdy G** (1961). The effect of hippocampal lesion on pituitary-adrenal function. *Acta Physiol Acad Sci Hung*, **20**: 293-297.
- Fernstrom JD, Wurtman RJ** (1972). Brain serotonin content: physiological regulation by plasma neutral amino acids. *Science*, **178**(59): 414-416.
- Filip M, Bader M** (2009). Overview on 5-HT receptors and their role in physiology and pathology of the central nervous system. *Pharmacol Rep*, **61**(5): 761-777.
- Filippov V, Kronenberg G, Pivneva T, Reuter K, et al.** (2003). Subpopulation of nestin-expressing progenitor cells in the adult murine hippocampus shows electrophysiological and morphological characteristics of astrocytes. *Mol Cell Neurosci*, **23**(3): 373-382.
- Finamore TL, Port RL** (2000). Developmental stress disrupts habituation but spares prepulse inhibition in young rats. *Physiol Behav*, **69**(4-5): 527-530.
- Fink KB, Gothert M** (2007). 5-HT receptor regulation of neurotransmitter release. *Pharmacol Rev*, **59**(4): 360-417.
- Fitzgerald LW, Iyer G, Conklin DS, Krause CM, et al.** (1999). Messenger RNA editing of the human serotonin 5-HT_{2C} receptor. *Neuropsychopharmacology*, **21**(2 Suppl): 82S-90S.
- Flannelly K, Lore R** (1977). The influence of females upon aggression in domesticated male rats (*Rattus norvegicus*). *Anim Behav*, **25**(3): 654-659.

- Fone KC, Shalders K, Fox ZD, Arthur R, et al.** (1996). Increased 5-HT_{2C} receptor responsiveness occurs on rearing rats in social isolation. *Psychopharmacology (Berl)*, **123**(4): 346-352.
- Forster EA, Cliffe IA, Bill DJ, Dover GM, et al.** (1995). A pharmacological profile of the selective silent 5-HT_{1A} receptor antagonist, WAY-100635. *Eur J Pharmacol*, **281**(1): 81-88.
- Frances H, Chermat R, Simon P** (1980). Oxotremorine behavioural effects as a screening test in mice. *Prog Neuropsychopharmacol*, **4**(3): 241-246.
- Frances H, Maurin Y, Lecrubier Y, Puech AJ, et al.** (1981). Effect of chronic lithium treatment on isolation-induced behavioral and biochemical effects in mice. *Eur J Pharmacol*, **72**(4): 337-341.
- Frank E, Kupfer DJ, Perel JM, Cornes C, et al.** (1990). Three-year outcomes for maintenance therapies in recurrent depression. *Arch Gen Psychiatry*, **47**(12): 1093-1099.
- Frank E, Thase ME** (1999). Natural history and preventative treatment of recurrent mood disorders. *Annu Rev Med*, **50**: 453-468.
- Frank MG, Miguel ZD, Watkins LR, Maier SF** (2010). Prior exposure to glucocorticoids sensitizes the neuroinflammatory and peripheral inflammatory responses to E. coli lipopolysaccharide. *Brain Behav Immun*, **24**(1): 19-30.
- Frank MG, Stryker MP, Tecott LH** (2002). Sleep and sleep homeostasis in mice lacking the 5-HT_{2c} receptor. *Neuropsychopharmacology*, **27**(5): 869-873.
- Frazer A** (2001). Serotonergic and noradrenergic reuptake inhibitors: prediction of clinical effects from in vitro potencies. *J Clin Psychiatry*, **62 Suppl 12**: 16-23.
- Frielingsdorf H, Simpson DR, Thal LJ, Pizzo DP** (2007). Nerve growth factor promotes survival of new neurons in the adult hippocampus. *Neurobiol Dis*, **26**(1): 47-55.
- Fuchs E, Flugge G** (2002). Social stress in tree shrews: effects on physiology, brain function, and behavior of subordinate individuals. *Pharmacol Biochem Behav*, **73**(1): 247-258.
- Gayrard V, Alvinerie M, Toutain PL** (1996). Interspecies variations of corticosteroid-binding globulin parameters. *Domest Anim Endocrinol*, **13**(1): 35-45.
- Ge S, Pradhan DA, Ming GL, Song H** (2007). GABA sets the tempo for activity-dependent adult neurogenesis. *Trends Neurosci*, **30**(1): 1-8.
- Ge S, Sailor KA, Ming GL, Song H** (2008). Synaptic integration and plasticity of new neurons in the adult hippocampus. *J Physiol*, **586**(16): 3759-3765.
- Germain A, Kupfer DJ** (2008). Circadian rhythm disturbances in depression. *Hum Psychopharmacol*, **23**(7): 571-585.
- Gilbertson MW, Shenton ME, Ciszewski A, Kasai K, et al.** (2002). Smaller hippocampal volume predicts pathologic vulnerability to psychological trauma. *Nat Neurosci*, **5**(11): 1242-1247.
- Giorgetti M, Tecott LH** (2004). Contributions of 5-HT_{2C} receptors to multiple actions of central serotonin systems. *Eur J Pharmacol*, **488**(1-3): 1-9.
- Gobert A, Rivet JM, Lejeune F, Newman-Tancredi A, et al.** (2000). Serotonin_{2C} receptors tonically suppress the activity of mesocortical dopaminergic and adrenergic, but not serotonergic, pathways: a combined dialysis and electrophysiological analysis in the rat. *Synapse*, **36**(3): 205-221.
- Gold PW, Chrousos GP** (2002). Organization of the stress system and its dysregulation in melancholic and atypical depression: high vs low CRH/NE states. *Mol Psychiatry*, **7**(3): 254-275.
- Gold PW, Goodwin FK, Chrousos GP** (1988a). Clinical and biochemical manifestations of depression. Relation to the neurobiology of stress (1). *N Engl J Med*, **319**(6): 348-353.

- Gold PW, Goodwin FK, Chrousos GP** (1988b). Clinical and biochemical manifestations of depression. Relation to the neurobiology of stress (2). *N Engl J Med*, **319**(7): 413-420.
- Gomez-Pinilla F, Lee JW, Cotman CW** (1992). Basic FGF in adult rat brain: cellular distribution and response to entorhinal lesion and fimbria-fornix transection. *J Neurosci*, **12**(1): 345-355.
- Goodwin FK, Murphy DL, Dunner DL, Bunney WE, Jr.** (1972). Lithium response in unipolar versus bipolar depression. *Am J Psychiatry*, **129**(1): 44-47.
- Goodwin GM** (1997). Neuropsychological and neuroimaging evidence for the involvement of the frontal lobes in depression. *J Psychopharmacol*, **11**(2): 115-122.
- Gordon JA, Hen R** (2004). Genetic approaches to the study of anxiety. *Annu Rev Neurosci*, **27**: 193-222.
- Gorwood P** (2009). [Severe depression: genes and the environment]. *Encephale*, **35 Suppl 7**: S306-309.
- Gorzalka B, Hanson L, Harrington J, Killam S, et al.** (2003). Conditioned taste aversion: modulation by 5-HT receptor activity and corticosterone. *Eur J Pharmacol*, **471**(2): 129-134.
- Gorzalka BB, Hanson LA, Hong JJ** (2001). Ketanserin attenuates the behavioural effects of corticosterone: implications for 5-HT(2A) receptor regulation. *Eur J Pharmacol*, **428**(2): 235-240.
- Gould E, Beylin A, Tanapat P, Reeves A, et al.** (1999). Learning enhances adult neurogenesis in the hippocampal formation. *Nat Neurosci*, **2**(3): 260-265.
- Gould E, Cameron HA, Daniels DC, Woolley CS, et al.** (1992). Adrenal hormones suppress cell division in the adult rat dentate gyrus. *J Neurosci*, **12**(9): 3642-3650.
- Gould E, McEwen BS, Tanapat P, Galea LA, et al.** (1997). Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated by psychosocial stress and NMDA receptor activation. *J Neurosci*, **17**(7): 2492-2498.
- Gould E, Tanapat P, McEwen BS, Flugge G, et al.** (1998). Proliferation of granule cell precursors in the dentate gyrus of adult monkeys is diminished by stress. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **95**(6): 3168-3171.
- Gourley SL, Kedves AT, Olausson P, Taylor JR** (2009). A history of corticosterone exposure regulates fear extinction and cortical NR2B, GluR2/3, and BDNF. *Neuropsychopharmacology*, **34**(3): 707-716.
- Gourley SL, Wu FJ, Kiraly DD, Ploski JE, et al.** (2008). Regionally specific regulation of ERK MAP kinase in a model of antidepressant-sensitive chronic depression. *Biol Psychiatry*, **63**(4): 353-359.
- Graeff FG, Guimaraes FS, De Andrade TG, Deakin JF** (1996). Role of 5-HT in stress, anxiety, and depression. *Pharmacol Biochem Behav*, **54**(1): 129-141.
- Grahn RE, Watkins LR, Maier SF** (2000). Impaired escape performance and enhanced conditioned fear in rats following exposure to an uncontrollable stressor are mediated by glutamate and nitric oxide in the dorsal raphe nucleus. *Behav Brain Res*, **112**(1-2): 33-41.
- Gravel P, de Montigny C** (1987). Noradrenergic denervation prevents sensitization of rat forebrain neurons to serotonin by tricyclic antidepressant treatment. *Synapse*, **1**(3): 233-239.
- Greenberg L, Edwards E, Henn FA** (1989). Dexamethasone suppression test in helpless rats. *Biol Psychiatry*, **26**(5): 530-532.
- Gregus A, Wintink AJ, Davis AC, Kalynchuk LE** (2005). Effect of repeated corticosterone injections and restraint stress on anxiety and depression-like behavior in male rats. *Behav Brain Res*, **156**(1): 105-114.

- Griebel G, Perrault G, Sanger DJ** (1997). A comparative study of the effects of selective and non-selective 5-HT₂ receptor subtype antagonists in rat and mouse models of anxiety. *Neuropharmacology*, **36**(6): 793-802.
- Griebel G, Simiand J, Serradeil-Le Gal C, Wagnon J, et al.** (2002). Anxiolytic- and antidepressant-like effects of the non-peptide vasopressin V1b receptor antagonist, SSR149415, suggest an innovative approach for the treatment of stress-related disorders. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **99**(9): 6370-6375.
- Gross C, Zhuang X, Stark K, Ramboz S, et al.** (2002). Serotonin_{1A} receptor acts during development to establish normal anxiety-like behaviour in the adult. *Nature*, **416**(6879): 396-400.
- Gross-Isseroff R, Cohen R, Sasson Y, Voet H, et al.** (2004). Serotonergic dissection of obsessive compulsive symptoms: a challenge study with m-chlorophenylpiperazine and sumatriptan. *Neuropsychobiology*, **50**(3): 200-205.
- Guelfi JD** (1993). [Comorbidity of anxiety-depression and its treatment]. *Encephale*, **19 Spec No 2**: 397-404.
- Guiard BP, El Mansari M, Blier P** (2009). Prospect of a dopamine contribution in the next generation of antidepressant drugs: the triple reuptake inhibitors. *Curr Drug Targets*, **10**(11): 1069-1084.
- Guilloux JP, David DJ, Guiard BP, Chenu F, et al.** (2006). Blockade of 5-HT_{1A} receptors by (+/-)-pindolol potentiates cortical 5-HT outflow, but not antidepressant-like activity of paroxetine: microdialysis and behavioral approaches in 5-HT_{1A} receptor knockout mice. *Neuropsychopharmacology*, **31**(10): 2162-2172.
- Gundlach C, Alves SE, Clark JA, Pai LY, et al.** (2005). Estrogen receptor-beta regulates tryptophan hydroxylase-1 expression in the murine midbrain raphe. *Biol Psychiatry*, **57**(8): 938-942.
- Gurevich I, Tamir H, Arango V, Dwork AJ, et al.** (2002). Altered editing of serotonin 2C receptor pre-mRNA in the prefrontal cortex of depressed suicide victims. *Neuron*, **34**(3): 349-356.
- Habert E, Graham D, Tahraoui L, Claustre Y, et al.** (1985). Characterization of [3H]paroxetine binding to rat cortical membranes. *Eur J Pharmacol*, **118**(1-2): 107-114.
- Hack I, Bancila M, Loulier K, Carroll P, et al.** (2002). Reelin is a detachment signal in tangential chain-migration during postnatal neurogenesis. *Nat Neurosci*, **5**(10): 939-945.
- Haddjeri N, Lavoie N, Blier P** (2004). Electrophysiological evidence for the tonic activation of 5-HT_{1A} autoreceptors in the rat dorsal raphe nucleus. *Neuropsychopharmacology*, **29**(10): 1800-1806.
- Haj-Dahmane S, Hamon M, Lanfumey L** (1991). K⁺ channel and 5-hydroxytryptamine_{1A} autoreceptor interactions in the rat dorsal raphe nucleus: an in vitro electrophysiological study. *Neuroscience*, **41**(2-3): 495-505.
- Hajszan T, Dow A, Warner-Schmidt JL, Szigeti-Buck K, et al.** (2009). Remodeling of hippocampal spine synapses in the rat learned helplessness model of depression. *Biol Psychiatry*, **65**(5): 392-400.
- Hamblin MW, Metcalf MA** (1991). Primary structure and functional characterization of a human 5-HT_{1D}-type serotonin receptor. *Mol Pharmacol*, **40**(2): 143-148.
- Hamilton M** (1960). A rating scale for depression. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, **23**: 56-62.

- Han F, Ozawa H, Matsuda K, Nishi M, et al.** (2005). Colocalization of mineralocorticoid receptor and glucocorticoid receptor in the hippocampus and hypothalamus. *Neurosci Res*, **51**(4): 371-381.
- Hashimoto K, Kita H** (2008). Serotonin activates presynaptic and postsynaptic receptors in rat globus pallidus. *J Neurophysiol*, **99**(4): 1723-1732.
- Hasler G, Bonwetsch R, Giovacchini G, Toczek MT, et al.** (2007). 5-HT_{1A} receptor binding in temporal lobe epilepsy patients with and without major depression. *Biol Psychiatry*, **62**(11): 1258-1264.
- Hastings MH** (2000). Circadian clockwork: two loops are better than one. *Nat Rev Neurosci*, **1**(2): 143-146.
- Hayashi R, Wada H, Ito K, Adcock IM** (2004). Effects of glucocorticoids on gene transcription. *Eur J Pharmacol*, **500**(1-3): 51-62.
- He M, Sibille E, Benjamin D, Toth M, et al.** (2001). Differential effects of 5-HT_{1A} receptor deletion upon basal and fluoxetine-evoked 5-HT concentrations as revealed by in vivo microdialysis. *Brain Res*, **902**(1): 11-17.
- Heine VM, Maslam S, Zareno J, Joels M, et al.** (2004). Suppressed proliferation and apoptotic changes in the rat dentate gyrus after acute and chronic stress are reversible. *Eur J Neurosci*, **19**(1): 131-144.
- Heisler LK, Chu HM, Brennan TJ, Danao JA, et al.** (1998). Elevated anxiety and antidepressant-like responses in serotonin 5-HT_{1A} receptor mutant mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **95**(25): 15049-15054.
- Hensler JG** (2003). Regulation of 5-HT_{1A} receptor function in brain following agonist or antidepressant administration. *Life Sci*, **72**(15): 1665-1682.
- Herbert J, Goodyer IM, Grossman AB, Hastings MH, et al.** (2006). Do corticosteroids damage the brain? *J Neuroendocrinol*, **18**(6): 393-411.
- Herman JP, Ostrander MM, Mueller NK, Figueiredo H** (2005). Limbic system mechanisms of stress regulation: hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, **29**(8): 1201-1213.
- Herman JP, Renda A, Bodie B** (2003). Norepinephrine-gamma-aminobutyric acid (GABA) interaction in limbic stress circuits: effects of reboxetine on GABAergic neurons. *Biol Psychiatry*, **53**(2): 166-174.
- Herrick-Davis K, Grinde E, Niswender CM** (1999). Serotonin 5-HT_{2C} receptor RNA editing alters receptor basal activity: implications for serotonergic signal transduction. *J Neurochem*, **73**(4): 1711-1717.
- Heslop KE, Curzon G** (1999). Effect of reserpine on behavioural responses to agonists at 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, 5-HT_{2A}, and 5-HT_{2C} receptor subtypes. *Neuropharmacology*, **38**(6): 883-891.
- Heuser IJ, Schweiger U, Gotthardt U, Schmider J, et al.** (1996). Pituitary-adrenal-system regulation and psychopathology during amitriptyline treatment in elderly depressed patients and normal comparison subjects. *Am J Psychiatry*, **153**(1): 93-99.
- Hickie I, Naismith S, Ward PB, Turner K, et al.** (2005). Reduced hippocampal volumes and memory loss in patients with early- and late-onset depression. *Br J Psychiatry*, **186**: 197-202.
- Hillegaart V, Ahlenius S** (1998). Facilitation and inhibition of male rat ejaculatory behaviour by the respective 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptor agonists 8-OH-DPAT and anpirtoline, as evidenced by use of the corresponding new and selective receptor antagonists NAD-299 and NAS-181. *Br J Pharmacol*, **125**(8): 1733-1743.
- Hitzemann R** (2000). Animal models of psychiatric disorders and their relevance to alcoholism. *Alcohol Res Health*, **24**(3): 149-158.

- Hjorth S, Sharp T** (1991). Effect of the 5-HT_{1A} receptor agonist 8-OH-DPAT on the release of 5-HT in dorsal and median raphe-innervated rat brain regions as measured by in vivo microdialysis. *Life Sci*, **48**(18): 1779-1786.
- Hlavacova N, Jezova D** (2008). Chronic treatment with the mineralocorticoid hormone aldosterone results in increased anxiety-like behavior. *Horm Behav*, **54**(1): 90-97.
- Hoglinger GU, Rizk P, Muriel MP, Duyckaerts C, et al.** (2004). Dopamine depletion impairs precursor cell proliferation in Parkinson disease. *Nat Neurosci*, **7**(7): 726-735.
- Holick KA, Lee DC, Hen R, Dulawa SC** (2008). Behavioral effects of chronic fluoxetine in BALB/cJ mice do not require adult hippocampal neurogenesis or the serotonin 1A receptor. *Neuropsychopharmacology*, **33**(2): 406-417.
- Hollenberg SM, Weinberger C, Ong ES, Cerelli G, et al.** (1985). Primary structure and expression of a functional human glucocorticoid receptor cDNA. *Nature*, **318**(6047): 635-641.
- Holsboer F** (2000). The corticosteroid receptor hypothesis of depression. *Neuropsychopharmacology*, **23**(5): 477-501.
- Holsboer F** (2001). CRHR1 antagonists as novel treatment strategies. *CNS Spectr*, **6**(7): 590-594.
- Holsboer F, Barden N** (1996). Antidepressants and hypothalamic-pituitary-adrenocortical regulation. *Endocr Rev*, **17**(2): 187-205.
- Holsboer F, Liebl R, Hofschuster E** (1982). Repeated dexamethasone suppression test during depressive illness. Normalisation of test result compared with clinical improvement. *J Affect Disord*, **4**(2): 93-101.
- Hoplight BJ, Vincow ES, Neumaier JF** (2005). The effects of SB 224289 on anxiety and cocaine-related behaviors in a novel object task. *Physiol Behav*, **84**(5): 707-714.
- Hoyer D, Clarke DE, Fozard JR, Hartig PR, et al.** (1994). International Union of Pharmacology classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (Serotonin). *Pharmacol Rev*, **46**(2): 157-203.
- Hoyer D, Hannon JP, Martin GR** (2002). Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors. *Pharmacol Biochem Behav*, **71**(4): 533-554.
- Hoyer D, Pazos A, Probst A, Palacios JM** (1986). Serotonin receptors in the human brain. I. Characterization and autoradiographic localization of 5-HT_{1A} recognition sites. Apparent absence of 5-HT_{1B} recognition sites. *Brain Res*, **376**(1): 85-96.
- Hrdina PD, Foy B, Hepner A, Summers RJ** (1990). Antidepressant binding sites in brain: autoradiographic comparison of [3H]paroxetine and [3H]imipramine localization and relationship to serotonin transporter. *J Pharmacol Exp Ther*, **252**(1): 410-418.
- Hu XJ, Wang FH, Stenfors C, Ogren SO, et al.** (2007). Effects of the 5-HT_{1B} receptor antagonist NAS-181 on extracellular levels of acetylcholine, glutamate and GABA in the frontal cortex and ventral hippocampus of awake rats: a microdialysis study. *Eur Neuropsychopharmacol*, **17**(9): 580-586.
- Huang GJ, Bannerman D, Flint J** (2008). Chronic fluoxetine treatment alters behavior, but not adult hippocampal neurogenesis, in BALB/cJ mice. *Mol Psychiatry*, **13**(2): 119-121.
- Huang YY, Oquendo MA, Friedman JM, Greenhill LL, et al.** (2003). Substance abuse disorder and major depression are associated with the human 5-HT_{1B} receptor gene (HTR1B) G861C polymorphism. *Neuropsychopharmacology*, **28**(1): 163-169.
- Hughes FB, Brodie BB** (1959). The mechanism of serotonin and catecholamine uptake by platelets. *J Pharmacol Exp Ther*, **127**: 96-102.
- Huttmann K, Sadgrove M, Wallraff A, Hinterkeuser S, et al.** (2003). Seizures preferentially stimulate proliferation of radial glia-like astrocytes in the adult dentate

- gyrus: functional and immunocytochemical analysis. *Eur J Neurosci*, **18**(10): 2769-2778.
- Invernizzi RW** (2007). Role of TPH-2 in brain function: news from behavioral and pharmacologic studies. *J Neurosci Res*, **85**(14): 3030-3035.
- Iwamoto K, Bundo M, Kato T** (2009). Serotonin receptor 2C and mental disorders: genetic, expression and RNA editing studies. *RNA Biol*, **6**(3): 248-253.
- Iwamoto K, Kato T** (2003). RNA editing of serotonin 2C receptor in human postmortem brains of major mental disorders. *Neurosci Lett*, **346**(3): 169-172.
- Ixart G, Barbanel G, Nouguié-Soule J, Assenmacher I** (1991). A quantitative study of the pulsatile parameters of CRH-41 secretion in unanesthetized free-moving rats. *Exp Brain Res*, **87**(1): 153-158.
- Jacobs BL, van Praag H, Gage FH** (2000). Adult brain neurogenesis and psychiatry: a novel theory of depression. *Mol Psychiatry*, **5**(3): 262-269.
- Jacobsen JP, Mork A** (2006). Chronic corticosterone decreases brain-derived neurotrophic factor (BDNF) mRNA and protein in the hippocampus, but not in the frontal cortex, of the rat. *Brain Res*, **1110**(1): 221-225.
- Jacobsen KX, Vanderluit JL, Slack RS, Albert PR** (2008). HES1 regulates 5-HT1A receptor gene transcription at a functional polymorphism: essential role in developmental expression. *Mol Cell Neurosci*, **38**(3): 349-358.
- Jacobson L, Sapolsky R** (1991). The role of the hippocampus in feedback regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Endocr Rev*, **12**(2): 118-134.
- Jaferi A, Bhatnagar S** (2006). Corticosterone can act at the posterior paraventricular thalamus to inhibit hypothalamic-pituitary-adrenal activity in animals that habituate to repeated stress. *Endocrinology*, **147**(10): 4917-4930.
- Jagasia R, Steib K, Englberger E, Herold S, et al.** (2009). GABA-cAMP response element-binding protein signaling regulates maturation and survival of newly generated neurons in the adult hippocampus. *J Neurosci*, **29**(25): 7966-7977.
- Jahn H, Schick M, Kiefer F, Kellner M, et al.** (2004). Metyrapone as additive treatment in major depression: a double-blind and placebo-controlled trial. *Arch Gen Psychiatry*, **61**(12): 1235-1244.
- Jankord R, Herman JP** (2008). Limbic regulation of hypothalamo-pituitary-adrenocortical function during acute and chronic stress. *Ann N Y Acad Sci*, **1148**: 64-73.
- Jayatissa MN, Henningsen K, West MJ, Wiborg O** (2009). Decreased cell proliferation in the dentate gyrus does not associate with development of anhedonic-like symptoms in rats. *Brain Res*, **1290**: 133-141.
- Jensen KP, Covault J, Conner TS, Tennen H, et al.** (2009). A common polymorphism in serotonin receptor 1B mRNA moderates regulation by miR-96 and associates with aggressive human behaviors. *Mol Psychiatry*, **14**(4): 381-389.
- Jesberger JA, Richardson JS** (1985). Animal models of depression: parallels and correlates to severe depression in humans. *Biol Psychiatry*, **20**(7): 764-784.
- Jessberger S, Nakashima K, Clemenson GD, Jr., Mejia E, et al.** (2007). Epigenetic modulation of seizure-induced neurogenesis and cognitive decline. *J Neurosci*, **27**(22): 5967-5975.
- Jha S, Rajendran R, Davda J, Vaidya VA** (2006). Selective serotonin depletion does not regulate hippocampal neurogenesis in the adult rat brain: differential effects of p-chlorophenylalanine and 5,7-dihydroxytryptamine. *Brain Res*, **1075**(1): 48-59.
- Jha S, Rajendran R, Fernandes KA, Vaidya VA** (2008). 5-HT2A/2C receptor blockade regulates progenitor cell proliferation in the adult rat hippocampus. *Neurosci Lett*, **441**(2): 210-214.

- Jhaveri DJ, Mackay EW, Hamlin AS, Marathe SV, et al.** (2010). Norepinephrine directly activates adult hippocampal precursors via beta3-adrenergic receptors. *J Neurosci*, **30**(7): 2795-2806.
- Jin H, Oksenberg D, Ashkenazi A, Peroutka SJ, et al.** (1992). Characterization of the human 5-hydroxytryptamine1B receptor. *J Biol Chem*, **267**(9): 5735-5738.
- Jin K, Zhu Y, Sun Y, Mao XO, et al.** (2002). Vascular endothelial growth factor (VEGF) stimulates neurogenesis in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **99**(18): 11946-11950.
- Joca SR, Ferreira FR, Guimaraes FS** (2007). Modulation of stress consequences by hippocampal monoaminergic, glutamatergic and nitrenergic neurotransmitter systems. *Stress*, **10**(3): 227-249.
- Joels M, Karst H, DeRijk R, de Kloet ER** (2008). The coming out of the brain mineralocorticoid receptor. *Trends Neurosci*, **31**(1): 1-7.
- John CD, Buckingham JC** (2003). Cytokines: regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Curr Opin Pharmacol*, **3**(1): 78-84.
- Jolas T, Haj-Dahmane S, Lanfumey L, Fattaccini CM, et al.** (1993). (-)Tertatolol is a potent antagonist at pre- and postsynaptic serotonin 5-HT1A receptors in the rat brain. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*, **347**(5): 453-463.
- Jongsma ME, Bosker FJ, Cremers TI, Westerink BH, et al.** (2005). The effect of chronic selective serotonin reuptake inhibitor treatment on serotonin 1B receptor sensitivity and HPA axis activity. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, **29**(5): 738-744.
- Joseph-Vanderpool JR, Rosenthal NE, Chrousos GP, Wehr TA, et al.** (1991). Abnormal pituitary-adrenal responses to corticotropin-releasing hormone in patients with seasonal affective disorder: clinical and pathophysiological implications. *J Clin Endocrinol Metab*, **72**(6): 1382-1387.
- Kalynchuk LE, Gregus A, Boudreau D, Perrot-Sinal TS** (2004). Corticosterone increases depression-like behavior, with some effects on predator odor-induced defensive behavior, in male and female rats. *Behav Neurosci*, **118**(6): 1365-1377.
- Kanner AM** (2004). Is major depression a neurologic disorder with psychiatric symptoms? *Epilepsy Behav*, **5**(5): 636-644.
- Karege F, Perret G, Bondolfi G, Schwald M, et al.** (2002). Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in major depressed patients. *Psychiatry Res*, **109**(2): 143-148.
- Karst H, Berger S, Turiault M, Tronche F, et al.** (2005). Mineralocorticoid receptors are indispensable for nongenomic modulation of hippocampal glutamate transmission by corticosterone. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **102**(52): 19204-19207.
- Katayama J, Yakushiji T, Akaike N** (1997). Characterization of the K⁺ current mediated by 5-HT1A receptor in the acutely dissociated rat dorsal raphe neurons. *Brain Res*, **745**(1-2): 283-292.
- Katz RJ** (1981). Animal models and human depressive disorders. *Neurosci Biobehav Rev*, **5**(2): 231-246.
- Katz RJ** (1982). Animal model of depression: pharmacological sensitivity of a hedonic deficit. *Pharmacol Biochem Behav*, **16**(6): 965-968.
- Katz RJ, Roth KA, Carroll BJ** (1981). Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: implications for a model of depression. *Neurosci Biobehav Rev*, **5**(2): 247-251.
- Kayser V, Elfassi IE, Aubel B, Melfort M, et al.** (2007). Mechanical, thermal and formalin-induced nociception is differentially altered in 5-HT1A^{-/-}, 5-HT1B^{-/-}, 5-HT2A^{-/-}, 5-HT3A^{-/-} and 5-HTT^{-/-} knock-out male mice. *Pain*, **130**(3): 235-248.

- Kehoe P, Blass EM** (1986). Opioid-mediation of separation distress in 10-day-old rats: reversal of stress with maternal stimuli. *Dev Psychobiol*, **19**(4): 385-398.
- Keller-Wood M, Shinsako J, Dallman MF** (1984). Interaction between stimulus intensity and corticosteroid feedback in control of ACTH. *Am J Physiol*, **247**(4 Pt 1): E489-494.
- Kellner M, Demiralay C, Muhtz C, Husemann J, et al.** (2008). No effect of six weeks of treatment with escitalopram on mood in healthy volunteers--irrespective of genotype for the promoter of the serotonin transporter. *Psychiatry Res*, **161**(3): 339-343.
- Kellner M, Muhtz C, Demiralay C, Husemann J, et al.** (2009). The selective serotonin re-uptake inhibitor escitalopram modulates the panic response to cholecystikinin tetrapeptide in healthy men depending on 5-HTTLPR genotype. *J Psychiatr Res*, **43**(6): 642-648.
- Kellner M, Wiedemann K** (2008). Mineralocorticoid receptors in brain, in health and disease: possibilities for new pharmacotherapy. *Eur J Pharmacol*, **583**(2-3): 372-378.
- Kelsch W, Lin CW, Lois C** (2008). Sequential development of synapses in dendritic domains during adult neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **105**(43): 16803-16808.
- Kempermann G, Chesler EJ, Lu L, Williams RW, et al.** (2006). Natural variation and genetic covariance in adult hippocampal neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **103**(3): 780-785.
- Kendler KS** (1996). Major depression and generalised anxiety disorder. Same genes, (partly)different environments--revisited. *Br J Psychiatry Suppl*, (30): 68-75.
- Kendler KS** (1999). Preparing for gene discovery: a further agenda for psychiatry. *Arch Gen Psychiatry*, **56**(6): 554-555.
- Kendler KS, Karkowski LM, Prescott CA** (1999). Causal relationship between stressful life events and the onset of major depression. *Am J Psychiatry*, **156**(6): 837-841.
- Kennedy SH, Emsley R** (2006). Placebo-controlled trial of agomelatine in the treatment of major depressive disorder. *Eur Neuropsychopharmacol*, **16**(2): 93-100.
- Kennedy SH, Rizvi SJ** (2010). Agomelatine in the treatment of major depressive disorder: potential for clinical effectiveness. *CNS Drugs*, **24**(6): 479-499.
- Kennett GA, Lightowler S, de Biasi V, Stevens NC, et al.** (1994). Effect of chronic administration of selective 5-hydroxytryptamine and noradrenaline uptake inhibitors on a putative index of 5-HT_{2C/2B} receptor function. *Neuropharmacology*, **33**(12): 1581-1588.
- Kessler RC** (2003). Epidemiology of women and depression. *J Affect Disord*, **74**(1): 5-13.
- Kessler RC, McGonagle KA, Nelson CB, Hughes M, et al.** (1994). Sex and depression in the National Comorbidity Survey. II: Cohort effects. *J Affect Disord*, **30**(1): 15-26.
- Khawaja X** (1995). Quantitative autoradiographic characterisation of the binding of [3H]WAY-100635, a selective 5-HT_{1A} receptor antagonist. *Brain Res*, **673**(2): 217-225.
- Kino T, Manoli I, Kelkar S, Wang Y, et al.** (2009a). Glucocorticoid receptor (GR) beta has intrinsic, GRalpha-independent transcriptional activity. *Biochem Biophys Res Commun*, **381**(4): 671-675.
- Kino T, Su YA, Chrousos GP** (2009b). Human glucocorticoid receptor isoform beta: recent understanding of its potential implications in physiology and pathophysiology. *Cell Mol Life Sci*, **66**(21): 3435-3448.
- Klempin F, Babu H, Tonelli Dde P, Alarcon E, et al.** (2010). Oppositional Effects of Serotonin Receptors 5-HT_{1a}, 2, and 2c in the Regulation of Adult Hippocampal Neurogenesis. *Front Mol Neurosci*, **3**.
- Knigge KM, Hays M** (1963). Evidence of Inhibitive Role of Hippocampus in Neural Regulation of Acth Release. *Proc Soc Exp Biol Med*, **114**: 67-69.

- Knobelman DA, Hen R, Blendy JA, Lucki I** (2001). Regional patterns of compensation following genetic deletion of either 5-hydroxytryptamine(1A) or 5-hydroxytryptamine(1B) receptor in the mouse. *J Pharmacol Exp Ther*, **298**(3): 1092-1100.
- Kobilka BK, Frielle T, Collins S, Yang-Feng T, et al.** (1987). An intronless gene encoding a potential member of the family of receptors coupled to guanine nucleotide regulatory proteins. *Nature*, **329**(6134): 75-79.
- Kolber BJ, Wiczorek L, Muglia LJ** (2008). Hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysregulation and behavioral analysis of mouse mutants with altered glucocorticoid or mineralocorticoid receptor function. *Stress*, **11**(5): 321-338.
- Konarski JZ, McIntyre RS, Kennedy SH, Rafi-Tari S, et al.** (2008). Volumetric neuroimaging investigations in mood disorders: bipolar disorder versus major depressive disorder. *Bipolar Disord*, **10**(1): 1-37.
- Koob GF** (2008). A role for brain stress systems in addiction. *Neuron*, **59**(1): 11-34.
- Korte SM** (2001). Corticosteroids in relation to fear, anxiety and psychopathology. *Neurosci Biobehav Rev*, **25**(2): 117-142.
- Kovacs KJ, Sawchenko PE** (1996). Sequence of stress-induced alterations in indices of synaptic and transcriptional activation in parvocellular neurosecretory neurons. *J Neurosci*, **16**(1): 262-273.
- Krishnan V, Han MH, Graham DL, Berton O, et al.** (2007). Molecular adaptations underlying susceptibility and resistance to social defeat in brain reward regions. *Cell*, **131**(2): 391-404.
- Kronenberg G, Tebartz van Elst L, Regen F, Deuschle M, et al.** (2009). Reduced amygdala volume in newly admitted psychiatric in-patients with unipolar major depression. *J Psychiatr Res*, **43**(13): 1112-1117.
- Kuhn DM, Wolf WA, Youdim MB** (1986). Serotonin neurochemistry revisited: A new look at some old axioms. *Neurochem Int*, **8**(2): 141-154.
- Kuhn HG, Dickinson-Anson H, Gage FH** (1996). Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult rat: age-related decrease of neuronal progenitor proliferation. *J Neurosci*, **16**(6): 2027-2033.
- Kuhn HG, Winkler J, Kempermann G, Thal LJ, et al.** (1997). Epidermal growth factor and fibroblast growth factor-2 have different effects on neural progenitors in the adult rat brain. *J Neurosci*, **17**(15): 5820-5829.
- Kulkarni VA, Jha S, Vaidya VA** (2002). Depletion of norepinephrine decreases the proliferation, but does not influence the survival and differentiation, of granule cell progenitors in the adult rat hippocampus. *Eur J Neurosci*, **16**(10): 2008-2012.
- Kusserow H, Davies B, Hortnagl H, Voigt I, et al.** (2004). Reduced anxiety-related behaviour in transgenic mice overexpressing serotonin 1A receptors. *Brain Res Mol Brain Res*, **129**(1-2): 104-116.
- Kuzelova H, Ptacek R, Macek M** (2010). The serotonin transporter gene (5-HTT) variant and psychiatric disorders: review of current literature. *Neuro Endocrinol Lett*, **31**(1): 4-10.
- Ladd CO, Owens MJ, Nemeroff CB** (1996). Persistent changes in corticotropin-releasing factor neuronal systems induced by maternal deprivation. *Endocrinology*, **137**(4): 1212-1218.
- Laplagne DA, Esposito MS, Piatti VC, Morgenstern NA, et al.** (2006). Functional convergence of neurons generated in the developing and adult hippocampus. *PLoS Biol*, **4**(12): e409.

- Laporte AM, Lima L, Gozlan H, Hamon M** (1994). Selective in vivo labelling of brain 5-HT_{1A} receptors by [3H]WAY 100635 in the mouse. *Eur J Pharmacol*, **271**(2-3): 505-514.
- Lazarini F, Mouthon MA, Gheusi G, de Chaumont F, et al.** (2009). Cellular and behavioral effects of cranial irradiation of the subventricular zone in adult mice. *PLoS One*, **4**(9): e7017.
- Le Francois B, Czesak M, Steubl D, Albert PR** (2008). Transcriptional regulation at a HTR_{1A} polymorphism associated with mental illness. *Neuropharmacology*, **55**(6): 977-985.
- Le Poul E, Boni C, Hanoun N, Laporte AM, et al.** (2000). Differential adaptation of brain 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} receptors and 5-HT transporter in rats treated chronically with fluoxetine. *Neuropharmacology*, **39**(1): 110-122.
- Lee J, Duan W, Mattson MP** (2002). Evidence that brain-derived neurotrophic factor is required for basal neurogenesis and mediates, in part, the enhancement of neurogenesis by dietary restriction in the hippocampus of adult mice. *J Neurochem*, **82**(6): 1367-1375.
- Lee KS, Han TH, Jo JY, Kang G, et al.** (2008). Serotonin inhibits GABA synaptic transmission in presympathetic paraventricular nucleus neurons. *Neurosci Lett*, **439**(2): 138-142.
- Lemaire V, Deminiere JM, Mormede P** (1994). Chronic social stress conditions differentially modify vulnerability to amphetamine self-administration. *Brain Res*, **649**(1-2): 348-352.
- Lemaire V, Taylor GT, Mormede P** (1997). Adrenal axis activation by chronic social stress fails to inhibit gonadal function in male rats. *Psychoneuroendocrinology*, **22**(8): 563-573.
- Lemonde S, Turecki G, Bakish D, Du L, et al.** (2003). Impaired repression at a 5-hydroxytryptamine 1A receptor gene polymorphism associated with major depression and suicide. *J Neurosci*, **23**(25): 8788-8799.
- Lesch KP** (2001). Serotonergic gene expression and depression: implications for developing novel antidepressants. *J Affect Disord*, **62**(1-2): 57-76.
- Lesch KP, Wolozin BL, Murphy DL, Reiderer P** (1993). Primary structure of the human platelet serotonin uptake site: identity with the brain serotonin transporter. *J Neurochem*, **60**(6): 2319-2322.
- Levine S** (1957). Infantile experience and resistance to physiological stress. *Science*, **126**(3270): 405.
- Levitan RD, Vaccarino FJ, Brown GM, Kennedy SH** (2002). Low-dose dexamethasone challenge in women with atypical major depression: pilot study. *J Psychiatry Neurosci*, **27**(1): 47-51.
- Lewin GR, Barde YA** (1996). Physiology of the neurotrophins. *Annu Rev Neurosci*, **19**: 289-317.
- Leysen JE** (2004). 5-HT₂ receptors. *Curr Drug Targets CNS Neurol Disord*, **3**(1): 11-26.
- Li Y, Mu Y, Gage FH** (2009). Development of neural circuits in the adult hippocampus. *Curr Top Dev Biol*, **87**: 149-174.
- Lieberman AC, Druker J, Perone MJ, Arzt E** (2007). Glucocorticoids in the regulation of transcription factors that control cytokine synthesis. *Cytokine Growth Factor Rev*, **18**(1-2): 45-56.
- Lichtenwalner RJ, Forbes ME, Sonntag WE, Riddle DR** (2006). Adult-onset deficiency in growth hormone and insulin-like growth factor-I decreases survival of dentate granule

- neurons: insights into the regulation of adult hippocampal neurogenesis. *J Neurosci Res*, **83**(2): 199-210.
- Lifschytz T, Gur E, Lerer B, Newman ME** (2004). Effects of triiodothyronine and fluoxetine on 5-HT_{1A} and 5-HT_{1B} autoreceptor activity in rat brain: regional differences. *J Neurosci Methods*, **140**(1-2): 133-139.
- Lim DA, Alvarez-Buylla A** (1999). Interaction between astrocytes and adult subventricular zone precursors stimulates neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **96**(13): 7526-7531.
- Lin D, Parsons LH** (2002). Anxiogenic-like effect of serotonin(1B) receptor stimulation in the rat elevated plus-maze. *Pharmacol Biochem Behav*, **71**(4): 581-587.
- Liposits Z, Bohn MC** (1993). Association of glucocorticoid receptor immunoreactivity with cell membrane and transport vesicles in hippocampal and hypothalamic neurons of the rat. *J Neurosci Res*, **35**(1): 14-19.
- Liu Z, Zhu F, Wang G, Xiao Z, et al.** (2006). Association of corticotropin-releasing hormone receptor1 gene SNP and haplotype with major depression. *Neurosci Lett*, **404**(3): 358-362.
- Livneh Y, Feinstein N, Klein M, Mizrahi A** (2009). Sensory input enhances synaptogenesis of adult-born neurons. *J Neurosci*, **29**(1): 86-97.
- Lledo PM** (2009). Dissecting the pathophysiology of depression with a Swiss army knife. *Neuron*, **62**(4): 453-455.
- Lledo PM, Alonso M, Grubb MS** (2006). Adult neurogenesis and functional plasticity in neuronal circuits. *Nat Rev Neurosci*, **7**(3): 179-193.
- Lledo PM, Saghatelian A** (2005). Integrating new neurons into the adult olfactory bulb: joining the network, life-death decisions, and the effects of sensory experience. *Trends Neurosci*, **28**(5): 248-254.
- Lloyd SA, Balest ZR, Corotto FS, Smeyne RJ** (2010). Cocaine selectively increases proliferation in the adult murine hippocampus. *Neurosci Lett*, **485**(2): 112-116.
- Lois C, Alvarez-Buylla A** (1994). Long-distance neuronal migration in the adult mammalian brain. *Science*, **264**(5162): 1145-1148.
- Lois C, Garcia-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A** (1996). Chain migration of neuronal precursors. *Science*, **271**(5251): 978-981.
- Loo H, Hale A, D'Haenen H** (2002). Determination of the dose of agomelatine, a melatonergic agonist and selective 5-HT_{2C} antagonist, in the treatment of major depressive disorder: a placebo-controlled dose range study. *Int Clin Psychopharmacol*, **17**(5): 239-247.
- Lopez-Figueroa AL, Norton CS, Lopez-Figueroa MO, Armellini-Dodel D, et al.** (2004). Serotonin 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B}, and 5-HT_{2A} receptor mRNA expression in subjects with major depression, bipolar disorder, and schizophrenia. *Biol Psychiatry*, **55**(3): 225-233.
- Lowry CA** (2002). Functional subsets of serotonergic neurones: implications for control of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *J Neuroendocrinol*, **14**(11): 911-923.
- Lowther S, Katona CL, Crompton MR, Horton RW** (1997). 5-HT_{1D} and 5-HT_{1E/1F} binding sites in depressed suicides: increased 5-HT_{1D} binding in globus pallidus but not cortex. *Mol Psychiatry*, **2**(4): 314-321.
- Lucas G, Rymar VV, Du J, Mnie-Filali O, et al.** (2007). Serotonin(4) (5-HT₄) receptor agonists are putative antidepressants with a rapid onset of action. *Neuron*, **55**(5): 712-725.

- Lucas G, Spampinato U** (2000). Role of striatal serotonin_{2A} and serotonin_{2C} receptor subtypes in the control of in vivo dopamine outflow in the rat striatum. *J Neurochem*, **74**(2): 693-701.
- Lucassen PJ, Meerlo P, Naylor AS, van Dam AM, et al.** (2010). Regulation of adult neurogenesis by stress, sleep disruption, exercise and inflammation: Implications for depression and antidepressant action. *Eur Neuropsychopharmacol*, **20**(1): 1-17.
- Lundberg J, Borg J, Halldin C, Farde L** (2007). A PET study on regional coexpression of 5-HT_{1A} receptors and 5-HTT in the human brain. *Psychopharmacology (Berl)*, **195**(3): 425-433.
- Luscher B, Shen Q, Sahir N** (2010). The GABAergic deficit hypothesis of major depressive disorder. *Mol Psychiatry*.
- Maccari S, Piazza PV, Deminiere JM, Lemaire V, et al.** (1991). Life events-induced decrease of corticosteroid type I receptors is associated with reduced corticosterone feedback and enhanced vulnerability to amphetamine self-administration. *Brain Res*, **547**(1): 7-12.
- Macor JE, Burkhardt CA, Heym JH, Ives JL, et al.** (1990). 3-(1,2,5,6-Tetrahydropyrid-4-yl)pyrrolo[3,2-b]pyrid-5-one: a potent and selective serotonin (5-HT_{1B}) agonist and rotationally restricted phenolic analogue of 5-methoxy-3-(1,2,5,6-tetrahydropyrid-4-yl)indole. *J Med Chem*, **33**(8): 2087-2093.
- Madrigal JL, Moro MA, Lizasoain I, Lorenzo P, et al.** (2003). Induction of cyclooxygenase-2 accounts for restraint stress-induced oxidative status in rat brain. *Neuropsychopharmacology*, **28**(9): 1579-1588.
- Maes M, Westenberg H, Vandoolaeghe E, Demedts P, et al.** (1997). Effects of trazodone and fluoxetine in the treatment of major depression: therapeutic pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions through formation of meta-chlorophenylpiperazine. *J Clin Psychopharmacol*, **17**(5): 358-364.
- Magarinos AM, Deslandes A, McEwen BS** (1999). Effects of antidepressants and benzodiazepine treatments on the dendritic structure of CA3 pyramidal neurons after chronic stress. *Eur J Pharmacol*, **371**(2-3): 113-122.
- Magarinos AM, McEwen BS, Flugge G, Fuchs E** (1996). Chronic psychosocial stress causes apical dendritic atrophy of hippocampal CA3 pyramidal neurons in subordinate tree shrews. *J Neurosci*, **16**(10): 3534-3540.
- Magarinos AM, Orchinik M, McEwen BS** (1998). Morphological changes in the hippocampal CA3 region induced by non-invasive glucocorticoid administration: a paradox. *Brain Res*, **809**(2): 314-318.
- Magavi SS, Mitchell BD, Szentirmai O, Carter BS, et al.** (2005). Adult-born and preexisting olfactory granule neurons undergo distinct experience-dependent modifications of their olfactory responses in vivo. *J Neurosci*, **25**(46): 10729-10739.
- Mailliet F, Qi H, Rocher C, Spedding M, et al.** (2008). Protection of stress-induced impairment of hippocampal/prefrontal LTP through blockade of glucocorticoid receptors: implication of MEK signaling. *Exp Neurol*, **211**(2): 593-596.
- Mak GK, Weiss S** (2010). Paternal recognition of adult offspring mediated by newly generated CNS neurons. *Nat Neurosci*, **13**(6): 753-758.
- Malagie I, Trillat AC, Bourin M, Jacquot C, et al.** (2001). 5-HT_{1B} Autoreceptors limit the effects of selective serotonin re-uptake inhibitors in mouse hippocampus and frontal cortex. *J Neurochem*, **76**(3): 865-871.
- Malberg JE, Duman RS** (2003). Cell proliferation in adult hippocampus is decreased by inescapable stress: reversal by fluoxetine treatment. *Neuropsychopharmacology*, **28**(9): 1562-1571.

- Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, Duman RS** (2000). Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurosci*, **20**(24): 9104-9110.
- Malleret G, Hen R, Guillou JL, Segu L, et al.** (1999). 5-HT_{1B} receptor knock-out mice exhibit increased exploratory activity and enhanced spatial memory performance in the Morris water maze. *J Neurosci*, **19**(14): 6157-6168.
- Mandairon N, Stack C, Kiselycznyk C, Linster C** (2006). Broad activation of the olfactory bulb produces long-lasting changes in odor perception. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **103**(36): 13543-13548.
- Mann JJ** (2003). Neurobiology of suicidal behaviour. *Nat Rev Neurosci*, **4**(10): 819-828.
- Mannoury la Cour C, Boni C, Hanoun N, Lesch KP, et al.** (2001). Functional consequences of 5-HT transporter gene disruption on 5-HT_{1A} receptor-mediated regulation of dorsal raphe and hippocampal cell activity. *J Neurosci*, **21**(6): 2178-2185.
- Maroteaux L, Saudou F, Amlaiky N, Boschert U, et al.** (1992). Mouse 5HT_{1B} serotonin receptor: cloning, functional expression, and localization in motor control centers. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **89**(7): 3020-3024.
- Martin JR, Ballard TM, Higgins GA** (2002). Influence of the 5-HT_{2C} receptor antagonist, SB-242084, in tests of anxiety. *Pharmacol Biochem Behav*, **71**(4): 615-625.
- Martin P, Soubrie P, Simon P** (1987). The effect of monoamine oxidase inhibitors compared with classical tricyclic antidepressants on learned helplessness paradigm. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, **11**(1): 1-7.
- Masuzaki H, Flier JS** (2003). Tissue-specific glucocorticoid reactivating enzyme, 11 beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (11 beta-HSD1)--a promising drug target for the treatment of metabolic syndrome. *Curr Drug Targets Immune Endocr Metabol Disord*, **3**(4): 255-262.
- Mathew SJ** (2008). Treatment-resistant depression: recent developments and future directions. *Depress Anxiety*, **25**(12): 989-992.
- Maya Vetencourt JF, Sale A, Viegi A, Baroncelli L, et al.** (2008). The antidepressant fluoxetine restores plasticity in the adult visual cortex. *Science*, **320**(5874): 385-388.
- McDonald HY, Wojtowicz JM** (2005). Dynamics of neurogenesis in the dentate gyrus of adult rats. *Neurosci Lett*, **385**(1): 70-75.
- McEwen BS** (1999). Stress and hippocampal plasticity. *Annu Rev Neurosci*, **22**: 105-122.
- McEwen BS** (2000). Effects of adverse experiences for brain structure and function. *Biol Psychiatry*, **48**(8): 721-731.
- McEwen BS** (2007). Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol Rev*, **87**(3): 873-904.
- McEwen BS** (2010). Stress, sex, and neural adaptation to a changing environment: mechanisms of neuronal remodeling. *Ann N Y Acad Sci*, **1204 Suppl**: E38-59.
- McEwen BS, Olie JP** (2005). Neurobiology of mood, anxiety, and emotions as revealed by studies of a unique antidepressant: tianeptine. *Mol Psychiatry*, **10**(6): 525-537.
- McEwen BS, Sapolsky RM** (1995). Stress and cognitive function. *Curr Opin Neurobiol*, **5**(2): 205-216.
- McGaugh JL** (2004). The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. *Annu Rev Neurosci*, **27**: 1-28.
- McGaugh JL, Roozendaal B** (2002). Role of adrenal stress hormones in forming lasting memories in the brain. *Curr Opin Neurobiol*, **12**(2): 205-210.
- McIntyre J, Moral MA** (2006). Spotlight on lamotrigine for depression. *Drug News Perspect*, **19**(7): 427-430.

- McKittrick CR, Magarinos AM, Blanchard DC, Blanchard RJ, et al.** (2000). Chronic social stress reduces dendritic arbors in CA3 of hippocampus and decreases binding to serotonin transporter sites. *Synapse*, **36**(2): 85-94.
- Meaney MJ, Diorio J, Francis D, Widdowson J, et al.** (1996). Early environmental regulation of forebrain glucocorticoid receptor gene expression: implications for adrenocortical responses to stress. *Dev Neurosci*, **18**(1-2): 49-72.
- Mehta M, Ahmed Z, Fernando SS, Cano-Sanchez P, et al.** (2007). Plasticity of 5-HT 1A receptor-mediated signaling during early postnatal brain development. *J Neurochem*, **101**(4): 918-928.
- Meijer OC, de Kloet ER** (1998). Corticosterone and serotonergic neurotransmission in the hippocampus: functional implications of central corticosteroid receptor diversity. *Crit Rev Neurobiol*, **12**(1-2): 1-20.
- Meltzer CC, Price JC, Mathis CA, Butters MA, et al.** (2004). Serotonin 1A receptor binding and treatment response in late-life depression. *Neuropsychopharmacology*, **29**(12): 2258-2265.
- Meneses A** (2001). Could the 5-HT_{1B} receptor inverse agonism affect learning consolidation? *Neurosci Biobehav Rev*, **25**(2): 193-201.
- Merali Z, Kent P, Du L, Hrdina P, et al.** (2006). Corticotropin-releasing hormone, arginine vasopressin, gastrin-releasing peptide, and neuromedin B alterations in stress-relevant brain regions of suicides and control subjects. *Biol Psychiatry*, **59**(7): 594-602.
- Meshi D, Drew MR, Saxe M, Ansorge MS, et al.** (2006). Hippocampal neurogenesis is not required for behavioral effects of environmental enrichment. *Nat Neurosci*, **9**(6): 729-731.
- Meyer JH, Ginovart N, Boovariwala A, Sagrati S, et al.** (2006). Elevated monoamine oxidase a levels in the brain: an explanation for the monoamine imbalance of major depression. *Arch Gen Psychiatry*, **63**(11): 1209-1216.
- Meynen G, Unmehopa UA, van Heerikhuizen JJ, Hofman MA, et al.** (2006). Increased arginine vasopressin mRNA expression in the human hypothalamus in depression: A preliminary report. *Biol Psychiatry*, **60**(8): 892-895.
- Miczek KA, Yap JJ, Covington HE, 3rd** (2008). Social stress, therapeutics and drug abuse: preclinical models of escalated and depressed intake. *Pharmacol Ther*, **120**(2): 102-128.
- Miczek KA, Yoshimura H** (1982). Disruption of primate social behavior by d-amphetamine and cocaine: differential antagonism by antipsychotics. *Psychopharmacology (Berl)*, **76**(2): 163-171.
- Millan MJ** (2006). Multi-target strategies for the improved treatment of depressive states: Conceptual foundations and neuronal substrates, drug discovery and therapeutic application. *Pharmacol Ther*, **110**(2): 135-370.
- Millan MJ, Brocco M, Gobert A, Dekeyne A** (2005). Anxiolytic properties of agomelatine, an antidepressant with melatonergic and serotonergic properties: role of 5-HT_{2C} receptor blockade. *Psychopharmacology (Berl)*, **177**(4): 448-458.
- Millan MJ, Gobert A, Lejeune F, Dekeyne A, et al.** (2003a). The novel melatonin agonist agomelatine (S20098) is an antagonist at 5-hydroxytryptamine_{2C} receptors, blockade of which enhances the activity of frontocortical dopaminergic and adrenergic pathways. *J Pharmacol Exp Ther*, **306**(3): 954-964.
- Millan MJ, Gobert A, Rivet JM, Adhumeau-Auclair A, et al.** (2000). Mirtazapine enhances frontocortical dopaminergic and corticolimbic adrenergic, but not serotonergic, transmission by blockade of alpha₂-adrenergic and serotonin_{2C} receptors: a comparison with citalopram. *Eur J Neurosci*, **12**(3): 1079-1095.

- Millan MJ, Marin P, Kamal M, Jockers R, et al.** (2010). The melatonergic agonist and clinically active antidepressant, agomelatine, is a neutral antagonist at 5-HT_{2C} receptors. *Int J Neuropsychopharmacol*: 1-16.
- Millan MJ, Veiga S, Girardon S, Brocco M** (2003b). Blockade of serotonin 5-HT_{1B} and 5-HT_{2A} receptors suppresses the induction of locomotor activity by 5-HT reuptake inhibitors, citalopram and fluvoxamine, in NMRI mice exposed to a novel environment: a comparison to other 5-HT receptor subtypes. *Psychopharmacology (Berl)*, **168**(4): 397-409.
- Mineka S, Watson D, Clark LA** (1998). Comorbidity of anxiety and unipolar mood disorders. *Annu Rev Psychol*, **49**: 377-412.
- Mineur YS, Prasol DJ, Belzung C, Crusio WE** (2003). Agonistic behavior and unpredictable chronic mild stress in mice. *Behav Genet*, **33**(5): 513-519.
- Ming GL, Song H** (2005). Adult neurogenesis in the mammalian central nervous system. *Annu Rev Neurosci*, **28**: 223-250.
- Miquel MC, Doucet E, Boni C, El Mestikawy S, et al.** (1991). Central serotonin_{1A} receptors: Respective distributions of encoding mRNA, receptor protein and binding sites by in situ hybridization histochemistry, radioimmunohistochemistry and autoradiographic mapping in the rat brain. *Neurochem. Int.*, (19): 453-465.
- Mirescu C, Gould E** (2006). Stress and adult neurogenesis. *Hippocampus*, **16**(3): 233-238.
- Mirescu C, Peters JD, Gould E** (2004). Early life experience alters response of adult neurogenesis to stress. *Nat Neurosci*, **7**(8): 841-846.
- Mitchell PJ, Redfern PH** (2005). Animal models of depressive illness: the importance of chronic drug treatment. *Curr Pharm Des*, **11**(2): 171-203.
- Mitra R, Ferguson D, Sapolsky RM** (2009). Mineralocorticoid receptor overexpression in basolateral amygdala reduces corticosterone secretion and anxiety. *Biol Psychiatry*, **66**(7): 686-690.
- Mitra R, Sapolsky RM** (2008). Acute corticosterone treatment is sufficient to induce anxiety and amygdaloid dendritic hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **105**(14): 5573-5578.
- Mizoguchi K, Ishige A, Aburada M, Tabira T** (2003). Chronic stress attenuates glucocorticoid negative feedback: involvement of the prefrontal cortex and hippocampus. *Neuroscience*, **119**(3): 887-897.
- Mizoguchi K, Yuzurihara M, Ishige A, Sasaki H, et al.** (2001). Effect of chronic stress on cholinergic transmission in rat hippocampus. *Brain Res*, **915**(1): 108-111.
- Mocellin S, Panelli MC, Wang E, Nagorsen D, et al.** (2003). The dual role of IL-10. *Trends Immunol*, **24**(1): 36-43.
- Molofsky AV, Slutsky SG, Joseph NM, He S, et al.** (2006). Increasing p16INK4a expression decreases forebrain progenitors and neurogenesis during ageing. *Nature*, **443**(7110): 448-452.
- Monleon S, D'Aquila P, Parra A, Simon VM, et al.** (1995). Attenuation of sucrose consumption in mice by chronic mild stress and its restoration by imipramine. *Psychopharmacology (Berl)*, **117**(4): 453-457.
- Montgomery SA, Asberg M** (1979). A new depression scale designed to be sensitive to change. *Br J Psychiatry*, **134**: 382-389.
- Montgomery SA, Baldwin DS, Blier P, Fineberg NA, et al.** (2007). Which antidepressants have demonstrated superior efficacy? A review of the evidence. *Int Clin Psychopharmacol*, **22**(6): 323-329.

- Montkowski A, Barden N, Wotjak C, Stec I, et al.** (1995). Long-term antidepressant treatment reduces behavioural deficits in transgenic mice with impaired glucocorticoid receptor function. *J Neuroendocrinol*, **7**(11): 841-845.
- Moore KA, Baba H, Woolf CJ** (2000). Synaptic transmission and plasticity in the superficial dorsal horn. *Prog Brain Res*, **129**: 63-80.
- Morgan PJ, Barrett P, Howell HE, Helliwell R** (1994). Melatonin receptors: localization, molecular pharmacology and physiological significance. *Neurochem Int*, **24**(2): 101-146.
- Morimoto M, Morita N, Ozawa H, Yokoyama K, et al.** (1996). Distribution of glucocorticoid receptor immunoreactivity and mRNA in the rat brain: an immunohistochemical and in situ hybridization study. *Neurosci Res*, **26**(3): 235-269.
- Mormede P, Andanson S, Auperin B, Beerda B, et al.** (2007). Exploration of the hypothalamic-pituitary-adrenal function as a tool to evaluate animal welfare. *Physiol Behav*, **92**(3): 317-339.
- Moser MB, Moser EI** (1998). Functional differentiation in the hippocampus. *Hippocampus*, **8**(6): 608-619.
- Moses-Kolko EL, Wisner KL, Price JC, Berga SL, et al.** (2008). Serotonin 1A receptor reductions in postpartum depression: a positron emission tomography study. *Fertil Steril*, **89**(3): 685-692.
- Mouret A, Gheusi G, Gabellec MM, de Chaumont F, et al.** (2008). Learning and survival of newly generated neurons: when time matters. *J Neurosci*, **28**(45): 11511-11516.
- Muller MB, Zimmermann S, Sillaber I, Hagemeyer TP, et al.** (2003). Limbic corticotropin-releasing hormone receptor 1 mediates anxiety-related behavior and hormonal adaptation to stress. *Nat Neurosci*, **6**(10): 1100-1107.
- Mundo E, Rouillon F, Figuera ML, Stigler M** (2001). Fluvoxamine in obsessive-compulsive disorder: similar efficacy but superior tolerability in comparison with clomipramine. *Hum Psychopharmacol*, **16**(6): 461-468.
- Murray F, Smith DW, Hutson PH** (2008). Chronic low dose corticosterone exposure decreased hippocampal cell proliferation, volume and induced anxiety and depression like behaviours in mice. *Eur J Pharmacol*, **583**(1): 115-127.
- Nacher J, McEwen BS** (2006). The role of N-methyl-D-aspartate receptors in neurogenesis. *Hippocampus*, **16**(3): 267-270.
- Nacher J, Rosell DR, Alonso-Llosa G, McEwen BS** (2001). NMDA receptor antagonist treatment induces a long-lasting increase in the number of proliferating cells, PSA-NCAM-immunoreactive granule neurons and radial glia in the adult rat dentate gyrus. *Eur J Neurosci*, **13**(3): 512-520.
- Nacher J, Varea E, Miguel Blasco-Ibanez J, Gomez-Clement MA, et al.** (2007). N-methyl-d-aspartate receptor expression during adult neurogenesis in the rat dentate gyrus. *Neuroscience*, **144**(3): 855-864.
- Nakagawa S, Kim JE, Lee R, Malberg JE, et al.** (2002). Regulation of neurogenesis in adult mouse hippocampus by cAMP and the cAMP response element-binding protein. *J Neurosci*, **22**(9): 3673-3682.
- Navailles S, Hof PR, Schmauss C** (2008). Antidepressant drug-induced stimulation of mouse hippocampal neurogenesis is age-dependent and altered by early life stress. *J Comp Neurol*, **509**(4): 372-381.
- Nemeroff CB** (1996). The corticotropin-releasing factor (CRF) hypothesis of depression: new findings and new directions. *Mol Psychiatry*, **1**(4): 336-342.

- Nemeroff CB, Widerlov E, Bissette G, Walleus H, et al.** (1984). Elevated concentrations of CSF corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in depressed patients. *Science*, **226**(4680): 1342-1344.
- Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ, Eisch AJ, et al.** (2002a). Neurobiology of depression. *Neuron*, **34**(1): 13-25.
- Nestler EJ, Gould E, Manji H, Buncan M, et al.** (2002b). Preclinical models: status of basic research in depression. *Biol Psychiatry*, **52**(6): 503-528.
- Nestler EJ, Hyman SE** (2010). Animal models of neuropsychiatric disorders. *Nat Neurosci*, **13**(10): 1161-1169.
- Neumaier JF, Root DC, Hamblin MW** (1996). Chronic fluoxetine reduces serotonin transporter mRNA and 5-HT1B mRNA in a sequential manner in the rat dorsal raphe nucleus. *Neuropsychopharmacology*, **15**(5): 515-522.
- Neumeister A, Bain E, Nugent AC, Carson RE, et al.** (2004). Reduced serotonin type 1A receptor binding in panic disorder. *J Neurosci*, **24**(3): 589-591.
- Neumeister A, Wood S, Bonne O, Nugent AC, et al.** (2005). Reduced hippocampal volume in unmedicated, remitted patients with major depression versus control subjects. *Biol Psychiatry*, **57**(8): 935-937.
- New AS, Gelernter J, Goodman M, Mitropoulou V, et al.** (2001). Suicide, impulsive aggression, and HTR1B genotype. *Biol Psychiatry*, **50**(1): 62-65.
- Nissant A, Bardy C, Katagiri H, Murray K, et al.** (2009). Adult neurogenesis promotes synaptic plasticity in the olfactory bulb. *Nat Neurosci*, **12**(6): 728-730.
- Niswender CM, Copeland SC, Herrick-Davis K, Emeson RB, et al.** (1999). RNA editing of the human serotonin 5-hydroxytryptamine 2C receptor silences constitutive activity. *J Biol Chem*, **274**(14): 9472-9478.
- Nothen MM, Erdmann J, Shimron-Abarbanell D, Propping P** (1994). Identification of genetic variation in the human serotonin 1D beta receptor gene. *Biochem Biophys Res Commun*, **205**(2): 1194-1200.
- O'Neil MF, Moore NA** (2003). Animal models of depression: are there any? *Hum Psychopharmacol*, **18**(4): 239-254.
- Oboti L, Savalli G, Giachino C, De Marchis S, et al.** (2009). Integration and sensory experience-dependent survival of newly-generated neurons in the accessory olfactory bulb of female mice. *Eur J Neurosci*, **29**(4): 679-692.
- Ohta Y, Nagai M, Nagata T, Murakami T, et al.** (2006). Intrathecal injection of epidermal growth factor and fibroblast growth factor 2 promotes proliferation of neural precursor cells in the spinal cords of mice with mutant human SOD1 gene. *J Neurosci Res*, **84**(5): 980-992.
- Oitzl MS, Reichardt HM, Joels M, de Kloet ER** (2001). Point mutation in the mouse glucocorticoid receptor preventing DNA binding impairs spatial memory. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **98**(22): 12790-12795.
- Oitzl MS, van Haarst AD, Sutanto W, de Kloet ER** (1995). Corticosterone, brain mineralocorticoid receptors (MRs) and the activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis: the Lewis rat as an example of increased central MR capacity and a hyporesponsive HPA axis. *Psychoneuroendocrinology*, **20**(6): 655-675.
- Oleskevich S** (1995). G alpha o1 decapeptide modulates the hippocampal 5-HT1A potassium current. *J Neurophysiol*, **74**(5): 2189-2193.
- Olie JP, Kasper S** (2007). Efficacy of agomelatine, a MT1/MT2 receptor agonist with 5-HT2C antagonistic properties, in major depressive disorder. *Int J Neuropsychopharmacol*, **10**(5): 661-673.

- Olijslagers JE, de Kloet ER, Elgersma Y, van Woerden GM, et al.** (2008). Rapid changes in hippocampal CA1 pyramidal cell function via pre- as well as postsynaptic membrane mineralocorticoid receptors. *Eur J Neurosci*, **27**(10): 2542-2550.
- Olivier B, Soudijn W, van Wijngaarden I** (2000). Serotonin, dopamine and norepinephrine transporters in the central nervous system and their inhibitors. *Prog Drug Res*, **54**: 59-119.
- Olivier B, van Oorschot R** (2005). 5-HT_{1B} receptors and aggression: a review. *Eur J Pharmacol*, **526**(1-3): 207-217.
- Oomen CA, Girardi CE, Cahyadi R, Verbeek EC, et al.** (2009). Opposite effects of early maternal deprivation on neurogenesis in male versus female rats. *PLoS One*, **4**(1): e3675.
- Orchinik M, Murray TF, Moore FL** (1991). A corticosteroid receptor in neuronal membranes. *Science*, **252**(5014): 1848-1851.
- Overstreet-Wadiche LS, Bromberg DA, Bensen AL, Westbrook GL** (2006). Seizures accelerate functional integration of adult-generated granule cells. *J Neurosci*, **26**(15): 4095-4103.
- Paizanis E, Renoir T, Lelievre V, Saurini F, et al.** (2010). Behavioural and neuroplastic effects of the new-generation antidepressant agomelatine compared to fluoxetine in glucocorticoid receptor-impaired mice. *Int J Neuropsychopharmacol*, **13**(6): 759-774.
- Palmer TD, Willhoite AR, Gage FH** (2000). Vascular niche for adult hippocampal neurogenesis. *J Comp Neurol*, **425**(4): 479-494.
- Pan L, Gilbert F** (1992). Activation of 5-HT_{1A} receptor subtype in the paraventricular nuclei of the hypothalamus induces CRH and ACTH release in the rat. *Neuroendocrinology*, **56**(6): 797-802.
- Papakostas GI** (2008). Tolerability of modern antidepressants. *J Clin Psychiatry*, **69 Suppl E1**: 8-13.
- Papakostas GI, Fava M, Thase ME** (2008). Treatment of SSRI-resistant depression: a meta-analysis comparing within- versus across-class switches. *Biol Psychiatry*, **63**(7): 699-704.
- Papp M, Gruca P, Boyer PA, Mocaer E** (2003). Effect of agomelatine in the chronic mild stress model of depression in the rat. *Neuropsychopharmacology*, **28**(4): 694-703.
- Papp M, Litwa E, Gruca P, Mocaer E** (2006). Anxiolytic-like activity of agomelatine and melatonin in three animal models of anxiety. *Behav Pharmacol*, **17**(1): 9-18.
- Parent JM, von dem Bussche N, Lowenstein DH** (2006). Prolonged seizures recruit caudal subventricular zone glial progenitors into the injured hippocampus. *Hippocampus*, **16**(3): 321-328.
- Pariante CM** (2003). Depression, stress and the adrenal axis. *J Neuroendocrinol*, **15**(8): 811-812.
- Parks CL, Robinson PS, Sibille E, Shenk T, et al.** (1998). Increased anxiety of mice lacking the serotonin_{1A} receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **95**(18): 10734-10739.
- Parsey RV, Oquendo MA, Ogden RT, Olvet DM, et al.** (2006). Altered serotonin 1A binding in major depression: a [carbonyl-C-11]WAY100635 positron emission tomography study. *Biol Psychiatry*, **59**(2): 106-113.
- Parsons LH, Kerr TM, Tecott LH** (2001). 5-HT_{1A} receptor mutant mice exhibit enhanced tonic, stress-induced and fluoxetine-induced serotonergic neurotransmission. *J Neurochem*, **77**(2): 607-617.
- Patel TD, Zhou FC** (2005). Ontogeny of 5-HT_{1A} receptor expression in the developing hippocampus. *Brain Res Dev Brain Res*, **157**(1): 42-57.

- Payne JL, Quiroz JA, Zarate CA, Jr., Manji HK** (2002). Timing is everything: does the robust upregulation of noradrenergically regulated plasticity genes underlie the rapid antidepressant effects of sleep deprivation? *Biol Psychiatry*, **52**(10): 921-926.
- Pazos A, Palacios JM** (1985). Quantitative autoradiographic mapping of serotonin receptors in the rat brain. I. Serotonin-1 receptors. *Brain Res*, **346**(2): 205-230.
- Pego JM, Morgado P, Pinto LG, Cerqueira JJ, et al.** (2008). Dissociation of the morphological correlates of stress-induced anxiety and fear. *Eur J Neurosci*, **27**(6): 1503-1516.
- Pellow S, File SE** (1986). Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. *Pharmacol Biochem Behav*, **24**(3): 525-529.
- Peretto P, Merighi A, Fasolo A, Bonfanti L** (1997). Glial tubes in the rostral migratory stream of the adult rat. *Brain Res Bull*, **42**(1): 9-21.
- Perez-Nievas BG, Garcia-Bueno B, Caso JR, Menchen L, et al.** (2007). Corticosterone as a marker of susceptibility to oxidative/nitrosative cerebral damage after stress exposure in rats. *Psychoneuroendocrinology*, **32**(6): 703-711.
- Perico CA, Skaf CR, Yamada A, Duran F, et al.** (2005). Relationship between regional cerebral blood flow and separate symptom clusters of major depression: a single photon emission computed tomography study using statistical parametric mapping. *Neurosci Lett*, **384**(3): 265-270.
- Peruzzi D, Dut A** (2004). GABA, serotonin and serotonin receptors in the rat inferior colliculus. *Brain Res*, **998**(2): 247-250.
- Petit-Demouliere B, Chenu F, Bourin M** (2005). Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity. *Psychopharmacology (Berl)*, **177**(3): 245-255.
- Petreaanu L, Alvarez-Buylla A** (2002). Maturation and death of adult-born olfactory bulb granule neurons: role of olfaction. *J Neurosci*, **22**(14): 6106-6113.
- Pezawas L, Meyer-Lindenberg A, Drabant EM, Verchinski BA, et al.** (2005). 5-HTTLPR polymorphism impacts human cingulate-amygdala interactions: a genetic susceptibility mechanism for depression. *Nat Neurosci*, **8**(6): 828-834.
- Picard-Riera N, Decker L, Delarasse C, Goude K, et al.** (2002). Experimental autoimmune encephalomyelitis mobilizes neural progenitors from the subventricular zone to undergo oligodendrogenesis in adult mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **99**(20): 13211-13216.
- Pineyro G, Castanon N, Hen R, Blier P** (1995). Regulation of [3H]5-HT release in raphe, frontal cortex and hippocampus of 5-HT1B knock-out mice. *Neuroreport*, **7**(1): 353-359.
- Pittenger C, Duman RS** (2008). Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, **33**(1): 88-109.
- Plotsky PM** (1988). Hypophysiotropic regulation of stress-induced ACTH secretion. *Adv Exp Med Biol*, **245**: 65-81.
- Plotsky PM, Meaney MJ** (1993). Early, postnatal experience alters hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence CRF content and stress-induced release in adult rats. *Brain Res Mol Brain Res*, **18**(3): 195-200.
- Plumpe T, Ehninger D, Steiner B, Klempin F, et al.** (2006). Variability of doublecortin-associated dendrite maturation in adult hippocampal neurogenesis is independent of the regulation of precursor cell proliferation. *BMC Neurosci*, **7**: 77.
- Pompeiano M, Palacios JM, Mengod G** (1992). Distribution and cellular localization of mRNA coding for 5-HT1A receptor in the rat brain: correlation with receptor binding. *J Neurosci*, **12**(2): 440-453.

- Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M** (1977). Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, **266**(5604): 730-732.
- Pothion S, Bizot JC, Trovero F, Belzung C** (2004). Strain differences in sucrose preference and in the consequences of unpredictable chronic mild stress. *Behav Brain Res*, **155**(1): 135-146.
- Prager EM, Johnson LR** (2009). Stress at the synapse: signal transduction mechanisms of adrenal steroids at neuronal membranes. *Sci Signal*, **2**(86): re5.
- Prut L, Belzung C** (2003). The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur J Pharmacol*, **463**(1-3): 3-33.
- Pugeat M, Bonneton A, Perrot D, Rocle-Nicolas B, et al.** (1989). Decreased immunoreactivity and binding activity of corticosteroid-binding globulin in serum in septic shock. *Clin Chem*, **35**(8): 1675-1679.
- Qian Y, Melikian HE, Rye DB, Levey AI, et al.** (1995). Identification and characterization of antidepressant-sensitive serotonin transporter proteins using site-specific antibodies. *J Neurosci*, **15**(2): 1261-1274.
- Quasted DJ, Sargent PA, Cowen PJ** (1997). SSRI treatment decreases prolactin and hyperthermic responses to mCPP. *Psychopharmacology (Berl)*, **133**(3): 305-308.
- Quirarte GL, Roozendaal B, McGaugh JL** (1997). Glucocorticoid enhancement of memory storage involves noradrenergic activation in the basolateral amygdala. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **94**(25): 14048-14053.
- Raab A, Dantzer R, Michaud B, Mormede P, et al.** (1986). Behavioural, physiological and immunological consequences of social status and aggression in chronically coexisting resident-intruder dyads of male rats. *Physiol Behav*, **36**(2): 223-228.
- Raadsheer FC, Hoogendijk WJ, Stam FC, Tilders FJ, et al.** (1994). Increased numbers of corticotropin-releasing hormone expressing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus of depressed patients. *Neuroendocrinology*, **60**(4): 436-444.
- Radley JJ, Jacobs BL** (2002). 5-HT_{1A} receptor antagonist administration decreases cell proliferation in the dentate gyrus. *Brain Res*, **955**(1-2): 264-267.
- Rajkowska G, Miguel-Hidalgo JJ, Wei J, Dilley G, et al.** (1999). Morphometric evidence for neuronal and glial prefrontal cell pathology in major depression. *Biol Psychiatry*, **45**(9): 1085-1098.
- Ramboz S, Oosting R, Amara DA, Kung HF, et al.** (1998). Serotonin receptor 1A knockout: an animal model of anxiety-related disorder. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **95**(24): 14476-14481.
- Ramboz S, Saudou F, Amara DA, Belzung C, et al.** (1996). 5-HT_{1B} receptor knock out--behavioral consequences. *Behav Brain Res*, **73**(1-2): 305-312.
- Ramirez-Castillejo C, Sanchez-Sanchez F, Andreu-Agullo C, Ferron SR, et al.** (2006). Pigment epithelium-derived factor is a niche signal for neural stem cell renewal. *Nat Neurosci*, **9**(3): 331-339.
- Rao MS, Shetty AK** (2004). Efficacy of doublecortin as a marker to analyse the absolute number and dendritic growth of newly generated neurons in the adult dentate gyrus. *Eur J Neurosci*, **19**(2): 234-246.
- Ratka A, Sutanto W, Bloemers M, de Kloet ER** (1989). On the role of brain mineralocorticoid (type I) and glucocorticoid (type II) receptors in neuroendocrine regulation. *Neuroendocrinology*, **50**(2): 117-123.
- Raymond JR, Mukhin YV, Gelasco A, Turner J, et al.** (2001). Multiplicity of mechanisms of serotonin receptor signal transduction. *Pharmacol Ther*, **92**(2-3): 179-212.

- Raymond JR, Olsen CL, Gettys TW** (1993). Cell-specific physical and functional coupling of human 5-HT_{1A} receptors to inhibitory G protein alpha-subunits and lack of coupling to Gs alpha. *Biochemistry*, **32**(41): 11064-11073.
- Redgate ES, Fahringer EE** (1973). A comparison of the pituitary adrenal activity elicited by electrical stimulation of preoptic, amygdaloid and hypothalamic sites in the rat brain. *Neuroendocrinology*, **12**(6): 334-343.
- Reul JM, de Kloet ER** (1985). Two receptor systems for corticosterone in rat brain: microdistribution and differential occupation. *Endocrinology*, **117**(6): 2505-2511.
- Revest JM, Dupret D, Koehl M, Funk-Reiter C, et al.** (2009). Adult hippocampal neurogenesis is involved in anxiety-related behaviors. *Mol Psychiatry*, **14**(10): 959-967.
- Riad M, Garcia S, Watkins KC, Jodoin N, et al.** (2000). Somatodendritic localization of 5-HT_{1A} and preterminal axonal localization of 5-HT_{1B} serotonin receptors in adult rat brain. *J Comp Neurol*, **417**(2): 181-194.
- Ricciardi-Castagnoli P, Granucci F** (2002). Opinion: Interpretation of the complexity of innate immune responses by functional genomics. *Nat Rev Immunol*, **2**(11): 881-889.
- Richardson-Jones JW, Craige CP, Guiard BP, Stephen A, et al.** (2010). 5-HT_{1A} autoreceptor levels determine vulnerability to stress and response to antidepressants. *Neuron*, **65**(1): 40-52.
- Ridder S, Chourbaji S, Hellweg R, Urani A, et al.** (2005). Mice with genetically altered glucocorticoid receptor expression show altered sensitivity for stress-induced depressive reactions. *J Neurosci*, **25**(26): 6243-6250.
- Rocha BA, Goulding EH, O'Dell LE, Mead AN, et al.** (2002). Enhanced locomotor, reinforcing, and neurochemical effects of cocaine in serotonin 5-hydroxytryptamine 2C receptor mutant mice. *J Neurosci*, **22**(22): 10039-10045.
- Rocha BA, Searce-Levie K, Lucas JJ, Hiroi N, et al.** (1998). Increased vulnerability to cocaine in mice lacking the serotonin-1B receptor. *Nature*, **393**(6681): 175-178.
- Rocher C, Spedding M, Munoz C, Jay TM** (2004). Acute stress-induced changes in hippocampal/prefrontal circuits in rats: effects of antidepressants. *Cereb Cortex*, **14**(2): 224-229.
- Rodrigues SM, LeDoux JE, Sapolsky RM** (2009). The influence of stress hormones on fear circuitry. *Annu Rev Neurosci*, **32**: 289-313.
- Roland BL, Sawchenko PE** (1993). Local origins of some GABAergic projections to the paraventricular and supraoptic nuclei of the hypothalamus in the rat. *J Comp Neurol*, **332**(1): 123-143.
- Roosendaal B, McReynolds JR, McGaugh JL** (2004). The basolateral amygdala interacts with the medial prefrontal cortex in regulating glucocorticoid effects on working memory impairment. *J Neurosci*, **24**(6): 1385-1392.
- Rosenfeld P, Wetmore JB, Levine S** (1992). Effects of repeated maternal separations on the adrenocortical response to stress of preweanling rats. *Physiol Behav*, **52**(4): 787-791.
- Rossi C, Angelucci A, Costantin L, Braschi C, et al.** (2006). Brain-derived neurotrophic factor (BDNF) is required for the enhancement of hippocampal neurogenesis following environmental enrichment. *Eur J Neurosci*, **24**(7): 1850-1856.
- Rozeboom AM, Akil H, Seasholtz AF** (2007). Mineralocorticoid receptor overexpression in forebrain decreases anxiety-like behavior and alters the stress response in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **104**(11): 4688-4693.
- Ruat M, Traiffort E, Leurs R, Tardivel-Lacombe J, et al.** (1993). Molecular cloning, characterization, and localization of a high-affinity serotonin receptor (5-HT₇) activating cAMP formation. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **90**(18): 8547-8551.

- Rubin RT, Poland RE, Lesser IM, Winston RA, et al.** (1987). Neuroendocrine aspects of primary endogenous depression. I. Cortisol secretory dynamics in patients and matched controls. *Arch Gen Psychiatry*, **44**(4): 328-336.
- Rudnick G, Wall SC** (1992a). The molecular mechanism of "ecstasy" [3,4-methylenedioxy-methamphetamine (MDMA)]: serotonin transporters are targets for MDMA-induced serotonin release. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **89**(5): 1817-1821.
- Rudnick G, Wall SC** (1992b). The platelet plasma membrane serotonin transporter catalyzes exchange between neurotoxic amphetamines and serotonin. *Ann N Y Acad Sci*, **648**: 345-347.
- Ruf BM, Bhagwagar Z** (2009). The 5-HT_{1B} receptor: a novel target for the pathophysiology of depression. *Curr Drug Targets*, **10**(11): 1118-1138.
- Ruhe HG, Mason NS, Schene AH** (2007). Mood is indirectly related to serotonin, norepinephrine and dopamine levels in humans: a meta-analysis of monoamine depletion studies. *Mol Psychiatry*, **12**(4): 331-359.
- Rutz S, Riegert C, Rothmaier AK, Buhot MC, et al.** (2006). Presynaptic serotonergic modulation of 5-HT and acetylcholine release in the hippocampus and the cortex of 5-HT_{1B}-receptor knockout mice. *Brain Res Bull*, **70**(1): 81-93.
- Rygula R, Abumaria N, Flugge G, Fuchs E, et al.** (2005). Anhedonia and motivational deficits in rats: impact of chronic social stress. *Behav Brain Res*, **162**(1): 127-134.
- Sahay A, Hen R** (2007). Adult hippocampal neurogenesis in depression. *Nat Neurosci*, **10**(9): 1110-1115.
- Sairanen M, Lucas G, Ernfors P, Castren M, et al.** (2005). Brain-derived neurotrophic factor and antidepressant drugs have different but coordinated effects on neuronal turnover, proliferation, and survival in the adult dentate gyrus. *J Neurosci*, **25**(5): 1089-1094.
- Sanders AR, Cao Q, Taylor J, Levin TE, et al.** (2001). Genetic diversity of the human serotonin receptor 1B (HTR1B) gene. *Genomics*, **72**(1): 1-14.
- Santarelli L, Saxe M, Gross C, Surget A, et al.** (2003). Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science*, **301**(5634): 805-809.
- Sapolsky RM** (2000). The possibility of neurotoxicity in the hippocampus in major depression: a primer on neuron death. *Biol Psychiatry*, **48**(8): 755-765.
- Sapolsky RM** (2003). Stress and plasticity in the limbic system. *Neurochem Res*, **28**(11): 1735-1742.
- Sapolsky RM** (2004). Is impaired neurogenesis relevant to the affective symptoms of depression? *Biol Psychiatry*, **56**(3): 137-139.
- Sapolsky RM, Krey LC, McEwen BS** (1984). Glucocorticoid-sensitive hippocampal neurons are involved in terminating the adrenocortical stress response. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **81**(19): 6174-6177.
- Sapolsky RM, Krey LC, McEwen BS** (1986). The adrenocortical axis in the aged rat: impaired sensitivity to both fast and delayed feedback inhibition. *Neurobiol Aging*, **7**(5): 331-335.
- Sargent PA, Kjaer KH, Bench CJ, Rabiner EA, et al.** (2000). Brain serotonin_{1A} receptor binding measured by positron emission tomography with [¹¹C]WAY-100635: effects of depression and antidepressant treatment. *Arch Gen Psychiatry*, **57**(2): 174-180.
- Sari Y** (2004). Serotonin_{1B} receptors: from protein to physiological function and behavior. *Neurosci Biobehav Rev*, **28**(6): 565-582.
- Sari Y, Miquel MC, Brisorgueil MJ, Ruiz G, et al.** (1999). Cellular and subcellular localization of 5-hydroxytryptamine_{1B} receptors in the rat central nervous system:

- immunocytochemical, autoradiographic and lesion studies. *Neuroscience*, **88**(3): 899-915.
- Sartorius N, Baghai TC, Baldwin DS, Barrett B, et al.** (2007). Antidepressant medications and other treatments of depressive disorders: a CINP Task Force report based on a review of evidence. *Int J Neuropsychopharmacol*, **10 Suppl 1**: S1-207.
- Saudou F, Amara DA, Dierich A, LeMeur M, et al.** (1994). Enhanced aggressive behavior in mice lacking 5-HT_{1B} receptor. *Science*, **265**(5180): 1875-1878.
- Sawchenko PE, Li HY, Ericsson A** (2000). Circuits and mechanisms governing hypothalamic responses to stress: a tale of two paradigms. *Prog Brain Res*, **122**: 61-78.
- Sawchenko PE, Swanson LW, Steinbusch HW, Verhofstad AA** (1983). The distribution and cells of origin of serotonergic inputs to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat. *Brain Res*, **277**(2): 355-360.
- Saxe MD, Battaglia F, Wang JW, Malleret G, et al.** (2006). Ablation of hippocampal neurogenesis impairs contextual fear conditioning and synaptic plasticity in the dentate gyrus. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **103**(46): 17501-17506.
- Schanzer A, Wachs FP, Wilhelm D, Acker T, et al.** (2004). Direct stimulation of adult neural stem cells in vitro and neurogenesis in vivo by vascular endothelial growth factor. *Brain Pathol*, **14**(3): 237-248.
- Schanzer H, Eisenberg D** (2004). Management of steal syndrome resulting from dialysis access. *Semin Vasc Surg*, **17**(1): 45-49.
- Scharfman H, Goodman J, Macleod A, Phani S, et al.** (2005). Increased neurogenesis and the ectopic granule cells after intrahippocampal BDNF infusion in adult rats. *Exp Neurol*, **192**(2): 348-356.
- Schechter LE, Bolanos FJ, Gozlan H, Lanfumey L, et al.** (1990). Alterations of central serotonergic and dopaminergic neurotransmission in rats chronically treated with ipsapirone: biochemical and electrophysiological studies. *J Pharmacol Exp Ther*, **255**(3): 1335-1347.
- Schildkraut JJ** (1965). The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am J Psychiatry*, **122**(5): 509-522.
- Schmidt HD, Duman RS** (2007). The role of neurotrophic factors in adult hippocampal neurogenesis, antidepressant treatments and animal models of depressive-like behavior. *Behav Pharmacol*, **18**(5-6): 391-418.
- Schmidt-Hieber C, Jonas P, Bischofberger J** (2004). Enhanced synaptic plasticity in newly generated granule cells of the adult hippocampus. *Nature*, **429**(6988): 184-187.
- Schoeffter P, Hoyer D** (1989). 5-Hydroxytryptamine 5-HT_{1B} and 5-HT_{1D} receptors mediating inhibition of adenylate cyclase activity. Pharmacological comparison with special reference to the effects of yohimbine, rauwolscine and some beta-adrenoceptor antagonists. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol*, **340**(3): 285-292.
- Seckl JR, Walker BR** (2004). 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1 as a modulator of glucocorticoid action: from metabolism to memory. *Trends Endocrinol Metab*, **15**(9): 418-424.
- Seib LM, Wellman CL** (2003). Daily injections alter spine density in rat medial prefrontal cortex. *Neurosci Lett*, **337**(1): 29-32.
- Seligman ME, Maier SF** (1967). Failure to escape traumatic shock. *J Exp Psychol*, **74**(1): 1-9.
- Sen S, Duman R, Sanacora G** (2008). Serum brain-derived neurotrophic factor, depression, and antidepressant medications: meta-analyses and implications. *Biol Psychiatry*, **64**(6): 527-532.

- Serra M, Pisu MG, Floris I, Biggio G** (2005). Social isolation-induced changes in the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the rat. *Stress*, **8**(4): 259-264.
- Shah PJ, Ebmeier KP, Glabus MF, Goodwin GM** (1998). Cortical grey matter reductions associated with treatment-resistant chronic unipolar depression. Controlled magnetic resonance imaging study. *Br J Psychiatry*, **172**: 527-532.
- Shapiro LA, Korn MJ, Ribak CE** (2005). Newly generated dentate granule cells from epileptic rats exhibit elongated hilar basal dendrites that align along GFAP-immunolabeled processes. *Neuroscience*, **136**(3): 823-831.
- Sharp T, Bramwell SR, Grahame-Smith DG** (1990). Release of endogenous 5-hydroxytryptamine in rat ventral hippocampus evoked by electrical stimulation of the dorsal raphe nucleus as detected by microdialysis: sensitivity to tetrodotoxin, calcium and calcium antagonists. *Neuroscience*, **39**(3): 629-637.
- Sheline YI, Gado MH, Kraemer HC** (2003). Untreated depression and hippocampal volume loss. *Am J Psychiatry*, **160**(8): 1516-1518.
- Sheline YI, Sanghavi M, Mintun MA, Gado MH** (1999). Depression duration but not age predicts hippocampal volume loss in medically healthy women with recurrent major depression. *J Neurosci*, **19**(12): 5034-5043.
- Sheline YI, Wang PW, Gado MH, Csernansky JG, et al.** (1996). Hippocampal atrophy in recurrent major depression. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **93**(9): 3908-3913.
- Shen KZ, Johnson SW** (2008). 5-HT inhibits synaptic transmission in rat subthalamic nucleus neurons in vitro. *Neuroscience*, **151**(4): 1029-1033.
- Shih JC** (2004). Cloning, after cloning, knock-out mice, and physiological functions of MAO A and B. *Neurotoxicology*, **25**(1-2): 21-30.
- Shimizu E, Hashimoto K, Okamura N, Koike K, et al.** (2003). Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants. *Biol Psychiatry*, **54**(1): 70-75.
- Shimon H, Agam G, Belmaker RH, Hyde TM, et al.** (1997). Reduced frontal cortex inositol levels in postmortem brain of suicide victims and patients with bipolar disorder. *Am J Psychiatry*, **154**(8): 1148-1150.
- Shingo T, Sorokan ST, Shimazaki T, Weiss S** (2001). Erythropoietin regulates the in vitro and in vivo production of neuronal progenitors by mammalian forebrain neural stem cells. *J Neurosci*, **21**(24): 9733-9743.
- Shippenberg TS, Hen R, He M** (2000). Region-specific enhancement of basal extracellular and cocaine-evoked dopamine levels following constitutive deletion of the Serotonin(1B) receptor. *J Neurochem*, **75**(1): 258-265.
- Shors TJ, Leuner B** (2003). Estrogen-mediated effects on depression and memory formation in females. *J Affect Disord*, **74**(1): 85-96.
- Sibille E, Su J, Leman S, Le Guisquet AM, et al.** (2007). Lack of serotonin1B receptor expression leads to age-related motor dysfunction, early onset of brain molecular aging and reduced longevity. *Mol Psychiatry*, **12**(11): 1042-1056, 1975.
- Sierksma AS, van den Hove DL, Steinbusch HW, Prickaerts J** (2010). Major depression, cognitive dysfunction and Alzheimer's disease: is there a link? *Eur J Pharmacol*, **626**(1): 72-82.
- Sklair-Tavron L, Nestler EJ** (1995). Opposing effects of morphine and the neurotrophins, NT-3, NT-4, and BDNF, on locus coeruleus neurons in vitro. *Brain Res*, **702**(1-2): 117-125.
- Skorzewska A, Bidzinski A, Lehner M, Turzynska D, et al.** (2006). The effects of acute and chronic administration of corticosterone on rat behavior in two models of fear

- responses, plasma corticosterone concentration, and c-Fos expression in the brain structures. *Pharmacol Biochem Behav*, **85**(3): 522-534.
- Smith HC, Sowden MP** (1996). Base-modification mRNA editing through deamination--the good, the bad and the unregulated. *Trends Genet*, **12**(10): 418-424.
- Smith MA, Makino S, Kvetnansky R, Post RM** (1995). Stress and glucocorticoids affect the expression of brain-derived neurotrophic factor and neurotrophin-3 mRNAs in the hippocampus. *J Neurosci*, **15**(3 Pt 1): 1768-1777.
- Smythe JW, Murphy D, Timothy C, Costall B** (1997). Hippocampal mineralocorticoid, but not glucocorticoid, receptors modulate anxiety-like behavior in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, **56**(3): 507-513.
- Sorrells SF, Caso JR, Munhoz CD, Sapolsky RM** (2009). The stressed CNS: when glucocorticoids aggravate inflammation. *Neuron*, **64**(1): 33-39.
- Souetre E, Salvati E, Belugou JL, Pringuey D, et al.** (1989). Circadian rhythms in depression and recovery: evidence for blunted amplitude as the main chronobiological abnormality. *Psychiatry Res*, **28**(3): 263-278.
- Soumier A, Banasr M, Goff LK, Daszuta A** (2010). Region- and phase-dependent effects of 5-HT(1A) and 5-HT(2C) receptor activation on adult neurogenesis. *Eur Neuropsychopharmacol*, **20**(5): 336-345.
- Soumier A, Banasr M, Lortet S, Masméjean F, et al.** (2009). Mechanisms contributing to the phase-dependent regulation of neurogenesis by the novel antidepressant, agomelatine, in the adult rat hippocampus. *Neuropsychopharmacology*, **34**(11): 2390-2403.
- Sousa AR, Lane SJ, Cidlowski JA, Staynov DZ, et al.** (2000). Glucocorticoid resistance in asthma is associated with elevated in vivo expression of the glucocorticoid receptor beta-isoform. *J Allergy Clin Immunol*, **105**(5): 943-950.
- Sousa N, Cerqueira JJ, Almeida OF** (2008). Corticosteroid receptors and neuroplasticity. *Brain Res Rev*, **57**(2): 561-570.
- Southwick SM, Vythilingam M, Charney DS** (2005). The psychobiology of depression and resilience to stress: implications for prevention and treatment. *Annu Rev Clin Psychol*, **1**: 255-291.
- Sprouse JS, Aghajanian GK** (1987). Electrophysiological responses of serotonergic dorsal raphe neurons to 5-HT1A and 5-HT1B agonists. *Synapse*, **1**(1): 3-9.
- Stahl SM, Muntner N, Stahl SMS** (2008). *Depression and bipolar disorder : Stahl's essential psychopharmacology*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Stahn C, Buttgerit F** (2008). Genomic and nongenomic effects of glucocorticoids. *Nat Clin Pract Rheumatol*, **4**(10): 525-533.
- Stanford IM, Lacey MG** (1996). Differential actions of serotonin, mediated by 5-HT1B and 5-HT2C receptors, on GABA-mediated synaptic input to rat substantia nigra pars reticulata neurons in vitro. *J Neurosci*, **16**(23): 7566-7573.
- Starr KR, Price GW, Watson JM, Atkinson PJ, et al.** (2007). SB-649915-B, a novel 5-HT1A/B autoreceptor antagonist and serotonin reuptake inhibitor, is anxiolytic and displays fast onset activity in the rat high light social interaction test. *Neuropsychopharmacology*, **32**(10): 2163-2172.
- Steffens DC, Byrum CE, McQuoid DR, Greenberg DL, et al.** (2000). Hippocampal volume in geriatric depression. *Biol Psychiatry*, **48**(4): 301-309.
- Steiner B, Kronenberg G, Jessberger S, Brandt MD, et al.** (2004). Differential regulation of gliogenesis in the context of adult hippocampal neurogenesis in mice. *Glia*, **46**(1): 41-52.

- Sterner EY, Kalynchuk LE** (2010). Behavioral and neurobiological consequences of prolonged glucocorticoid exposure in rats: relevance to depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, **34**(5): 777-790.
- Steru L, Chermat R, Thierry B, Simon P** (1985). The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology (Berl)*, **85**(3): 367-370.
- Stockmeier CA, Shapiro LA, Dilley GE, Kolli TN, et al.** (1998). Increase in serotonin-1A autoreceptors in the midbrain of suicide victims with major depression-postmortem evidence for decreased serotonin activity. *J Neurosci*, **18**(18): 7394-7401.
- Surget A, Saxe M, Leman S, Ibarguen-Vargas Y, et al.** (2008). Drug-dependent requirement of hippocampal neurogenesis in a model of depression and of antidepressant reversal. *Biol Psychiatry*, **64**(4): 293-301.
- Surget A, Wang Y, Leman S, Ibarguen-Vargas Y, et al.** (2009). Corticolimbic transcriptome changes are state-dependent and region-specific in a rodent model of depression and of antidepressant reversal. *Neuropsychopharmacology*, **34**(6): 1363-1380.
- Svenningsson P, Chergui K, Rachleff I, Flajolet M, et al.** (2006). Alterations in 5-HT_{1B} receptor function by p11 in depression-like states. *Science*, **311**(5757): 77-80.
- Takamori K, Yoshida S, Okuyama S** (2001). Repeated treatment with imipramine, fluvoxamine and tranylcypromine decreases the number of escape failures by activating dopaminergic systems in a rat learned helplessness test. *Life Sci*, **69**(16): 1919-1926.
- Tarullo AR, Gunnar MR** (2006). Child maltreatment and the developing HPA axis. *Horm Behav*, **50**(4): 632-639.
- Tasker JG, Boudaba C, Schrader LA** (1998). Local glutamatergic and GABAergic synaptic circuits and metabotropic glutamate receptors in the hypothalamic paraventricular and supraoptic nuclei. *Adv Exp Med Biol*, **449**: 117-121.
- Tataczynska E, Klodzinska A, Chojnacka-Wojcik E** (2002). Effects of combined administration of 5-HT_{1A} and/or 5-HT_{1B} receptor antagonists and paroxetine or fluoxetine in the forced swimming test in rats. *Pol J Pharmacol*, **54**(6): 615-623.
- Tataczynska E, Klodzinska A, Stachowicz K, Chojnacka-Wojcik E** (2004). Effects of a selective 5-HT_{1B} receptor agonist and antagonists in animal models of anxiety and depression. *Behav Pharmacol*, **15**(8): 523-534.
- Tecott LH, Sun LM, Akana SF, Strack AM, et al.** (1995). Eating disorder and epilepsy in mice lacking 5-HT_{2c} serotonin receptors. *Nature*, **374**(6522): 542-546.
- Thiebot MH, Martin P, Puech AJ** (1992). Animal behavioural studies in the evaluation of antidepressant drugs. *Br J Psychiatry Suppl*, (15): 44-50.
- Tidey JW, Miczek KA** (1996). Social defeat stress selectively alters mesocorticolimbic dopamine release: an in vivo microdialysis study. *Brain Res*, **721**(1-2): 140-149.
- Toni N, Teng EM, Bushong EA, Aimone JB, et al.** (2007). Synapse formation on neurons born in the adult hippocampus. *Nat Neurosci*, **10**(6): 727-734.
- Torres GE, Gainetdinov RR, Caron MG** (2003). Plasma membrane monoamine transporters: structure, regulation and function. *Nat Rev Neurosci*, **4**(1): 13-25.
- Tozuka Y, Fukuda S, Namba T, Seki T, et al.** (2005). GABAergic excitation promotes neuronal differentiation in adult hippocampal progenitor cells. *Neuron*, **47**(6): 803-815.
- Trillat AC, Malagie I, Searce K, Pons D, et al.** (1997). Regulation of serotonin release in the frontal cortex and ventral hippocampus of homozygous mice lacking 5-HT_{1B} receptors: in vivo microdialysis studies. *J Neurochem*, **69**(5): 2019-2025.

- Tronche F, Kellendonk C, Kretz O, Gass P, et al.** (1999). Disruption of the glucocorticoid receptor gene in the nervous system results in reduced anxiety. *Nat Genet*, **23**(1): 99-103.
- Tronel S, Fabre A, Charrier V, Olier SH, et al.** (2010). Spatial learning sculpts the dendritic arbor of adult-born hippocampal neurons. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **107**(17): 7963-7968.
- Tsankova NM, Berton O, Renthal W, Kumar A, et al.** (2006). Sustained hippocampal chromatin regulation in a mouse model of depression and antidepressant action. *Nat Neurosci*, **9**(4): 519-525.
- Tuma J, Strubbe JH, Mocaer E, Koolhaas JM** (2005). Anxiolytic-like action of the antidepressant agomelatine (S 20098) after a social defeat requires the integrity of the SCN. *Eur Neuropsychopharmacol*, **15**(5): 545-555.
- Valdizan EM, Gutierrez O, Pazos A** (2003). Adenylate cyclase activity in postmortem brain of suicide subjects: reduced response to beta-adrenergic stimulation. *Biol Psychiatry*, **54**(12): 1457-1464.
- Valzelli L** (1973). The "isolation syndrome" in mice. *Psychopharmacologia*, **31**(4): 305-320.
- Van de Kar LD, Javed A, Zhang Y, Serres F, et al.** (2001). 5-HT_{2A} receptors stimulate ACTH, corticosterone, oxytocin, renin, and prolactin release and activate hypothalamic CRF and oxytocin-expressing cells. *J Neurosci*, **21**(10): 3572-3579.
- Van de Kar LD, Piechowski RA, Rittenhouse PA, Gray TS** (1991). Amygdaloid lesions: differential effect on conditioned stress and immobilization-induced increases in corticosterone and renin secretion. *Neuroendocrinology*, **54**(2): 89-95.
- van der Laan S, Meijer OC** (2008). Pharmacology of glucocorticoids: beyond receptors. *Eur J Pharmacol*, **585**(2-3): 483-491.
- van Eijndhoven P, van Wingen G, van Oijen K, Rijpkema M, et al.** (2009). Amygdala volume marks the acute state in the early course of depression. *Biol Psychiatry*, **65**(9): 812-818.
- van Haarst AD, Oitzl MS, de Kloet ER** (1997). Facilitation of feedback inhibition through blockade of glucocorticoid receptors in the hippocampus. *Neurochem Res*, **22**(11): 1323-1328.
- Van Kampen JM, Eckman CB** (2006). Dopamine D₃ receptor agonist delivery to a model of Parkinson's disease restores the nigrostriatal pathway and improves locomotor behavior. *J Neurosci*, **26**(27): 7272-7280.
- Van Oekelen D, Luyten WH, Leysen JE** (2003). 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors and their atypical regulation properties. *Life Sci*, **72**(22): 2429-2449.
- van Praag H, Schinder AF, Christie BR, Toni N, et al.** (2002). Functional neurogenesis in the adult hippocampus. *Nature*, **415**(6875): 1030-1034.
- van Praag H, Shubert T, Zhao C, Gage FH** (2005). Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. *J Neurosci*, **25**(38): 8680-8685.
- van Steensel B, Brink M, van der Meulen K, van Binnendijk EP, et al.** (1995). Localization of the glucocorticoid receptor in discrete clusters in the cell nucleus. *J Cell Sci*, **108** (Pt 9): 3003-3011.
- van West D, Del-Favero J, Aulchenko Y, Oswald P, et al.** (2004). A major SNP haplotype of the arginine vasopressin 1B receptor protects against recurrent major depression. *Mol Psychiatry*, **9**(3): 287-292.
- van West D, Van Den Eede F, Del-Favero J, Souery D, et al.** (2006). Glucocorticoid receptor gene-based SNP analysis in patients with recurrent major depression. *Neuropsychopharmacology*, **31**(3): 620-627.

- Varrault A, Journot L, Audigier Y, Bockaert J** (1992). Transfection of human 5-hydroxytryptamine_{1A} receptors in NIH-3T3 fibroblasts: effects of increasing receptor density on the coupling of 5-hydroxytryptamine_{1A} receptors to adenylyl cyclase. *Mol Pharmacol*, **41**(6): 999-1007.
- Verge D, Daval G, Marcinkiewicz M, Patey A, et al.** (1986). Quantitative autoradiography of multiple 5-HT₁ receptor subtypes in the brain of control or 5,7-dihydroxytryptamine-treated rats. *J Neurosci*, **6**(12): 3474-3482.
- Viau V, Meaney MJ** (1996). The inhibitory effect of testosterone on hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress is mediated by the medial preoptic area. *J Neurosci*, **16**(5): 1866-1876.
- Videbech P, Ravnikilde B** (2004). Hippocampal volume and depression: a meta-analysis of MRI studies. *Am J Psychiatry*, **161**(11): 1957-1966.
- Voigt MM, Laurie DJ, Seeburg PH, Bach A** (1991). Molecular cloning and characterization of a rat brain cDNA encoding a 5-hydroxytryptamine_{1B} receptor. *Embo J*, **10**(13): 4017-4023.
- Von Frijtag JC, Reijmers LG, Van der Harst JE, Leus IE, et al.** (2000). Defeat followed by individual housing results in long-term impaired reward- and cognition-related behaviours in rats. *Behav Brain Res*, **117**(1-2): 137-146.
- Wachs FP, Winner B, Couillard-Despres S, Schiller T, et al.** (2006). Transforming growth factor-beta₁ is a negative modulator of adult neurogenesis. *J Neuropathol Exp Neurol*, **65**(4): 358-370.
- Walicke P, Cowan WM, Ueno N, Baird A, et al.** (1986). Fibroblast growth factor promotes survival of dissociated hippocampal neurons and enhances neurite extension. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **83**(9): 3012-3016.
- Walther DJ, Peter JU, Bashammakh S, Hortnagl H, et al.** (2003). Synthesis of serotonin by a second tryptophan hydroxylase isoform. *Science*, **299**(5603): 76.
- Wang Q, O'Brien PJ, Chen CX, Cho DS, et al.** (2000). Altered G protein-coupling functions of RNA editing isoform and splicing variant serotonin_{2C} receptors. *J Neurochem*, **74**(3): 1290-1300.
- Warner-Schmidt JL, Duman RS** (2006). Hippocampal neurogenesis: opposing effects of stress and antidepressant treatment. *Hippocampus*, **16**(3): 239-249.
- Watanabe Y, Gould E, Cameron HA, Daniels DC, et al.** (1992). Phenytoin prevents stress- and corticosterone-induced atrophy of CA3 pyramidal neurons. *Hippocampus*, **2**(4): 431-435.
- Webster MJ, Knable MB, O'Grady J, Orthmann J, et al.** (2002). Regional specificity of brain glucocorticoid receptor mRNA alterations in subjects with schizophrenia and mood disorders. *Mol Psychiatry*, **7**(9): 985-994, 924.
- Weissbach H, Redfield BG, Titus E** (1960). Effect of cardiac glycosides and inorganic ions on binding of serotonin by platelets. *Nature*, **185**: 99-100.
- Weitzman ED, Fukushima D, Nogeire C, Roffwarg H, et al.** (1971). Twenty-four hour pattern of the episodic secretion of cortisol in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab*, **33**(1): 14-22.
- Wellman CL** (2001). Dendritic reorganization in pyramidal neurons in medial prefrontal cortex after chronic corticosterone administration. *J Neurobiol*, **49**(3): 245-253.
- Whitman MC, Greer CA** (2007). Synaptic integration of adult-generated olfactory bulb granule cells: basal axodendritic centrifugal input precedes apical dendrodendritic local circuits. *J Neurosci*, **27**(37): 9951-9961.
- Willner P** (1984). The validity of animal models of depression. *Psychopharmacology (Berl)*, **83**(1): 1-16.


- Willner P** (2005). Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. *Neuropsychobiology*, **52**(2): 90-110.
- Willner P, Muscat R, Papp M** (1992). Chronic mild stress-induced anhedonia: a realistic animal model of depression. *Neurosci Biobehav Rev*, **16**(4): 525-534.
- Willner P, Towell A, Sampson D, Sophokleous S, et al.** (1987). Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology (Berl)*, **93**(3): 358-364.
- Winner B, Cooper-Kuhn CM, Aigner R, Winkler J, et al.** (2002). Long-term survival and cell death of newly generated neurons in the adult rat olfactory bulb. *Eur J Neurosci*, **16**(9): 1681-1689.
- Wolkowitz OM, Reus VI** (1999). Treatment of depression with antiglucocorticoid drugs. *Psychosom Med*, **61**(5): 698-711.
- Wolkowitz OM, Reus VI, Chan T, Manfredi F, et al.** (1999). Antiglucoctericoid treatment of depression: double-blind ketoconazole. *Biol Psychiatry*, **45**(8): 1070-1074.
- Wong EY, Herbert J** (2004). The corticoid environment: a determining factor for neural progenitors' survival in the adult hippocampus. *Eur J Neurosci*, **20**(10): 2491-2498.
- Wong EY, Herbert J** (2005). Roles of mineralocorticoid and glucocorticoid receptors in the regulation of progenitor proliferation in the adult hippocampus. *Eur J Neurosci*, **22**(4): 785-792.
- Wong EY, Herbert J** (2006). Raised circulating corticosterone inhibits neuronal differentiation of progenitor cells in the adult hippocampus. *Neuroscience*, **137**(1): 83-92.
- Wong ML, Dong C, Esposito K, Thakur S, et al.** (2008). Elevated stress-hemoconcentration in major depression is normalized by antidepressant treatment: secondary analysis from a randomized, double-blind clinical trial and relevance to cardiovascular disease risk. *PLoS One*, **3**(7): e2350.
- Wood MD, Reavill C, Trail B, Wilson A, et al.** (2001). SB-243213; a selective 5-HT_{2C} receptor inverse agonist with improved anxiolytic profile: lack of tolerance and withdrawal anxiety. *Neuropharmacology*, **41**(2): 186-199.
- Yamaguchi M, Mori K** (2005). Critical period for sensory experience-dependent survival of newly generated granule cells in the adult mouse olfactory bulb. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **102**(27): 9697-9702.
- Yan QS, Yan SE** (2001). Activation of 5-HT(1B/1D) receptors in the mesolimbic dopamine system increases dopamine release from the nucleus accumbens: a microdialysis study. *Eur J Pharmacol*, **418**(1-2): 55-64.
- Yang W, Wang Q, Kaness SJ, Murray JM, et al.** (2004). Altered RNA editing of serotonin 5-HT_{2C} receptor induced by interferon: implications for depression associated with cytokine therapy. *Brain Res Mol Brain Res*, **124**(1): 70-78.
- Yanpallewar SU, Fernandes K, Marathe SV, Vadodaria KC, et al.** (2010). Alpha2-adrenoceptor blockade accelerates the neurogenic, neurotrophic, and behavioral effects of chronic antidepressant treatment. *J Neurosci*, **30**(3): 1096-1109.
- Yoshihara S, Omichi K, Yanazawa M, Kitamura K, et al.** (2005). Arx homeobox gene is essential for development of mouse olfactory system. *Development*, **132**(4): 751-762.
- Young SN, Tsang D, Lal S, Sourkes TL** (1977). Changes in the tryptophan content of excised human cerebral cortex. *J Neurochem*, **28**(2): 439-440.
- Zaharia MD, Kulczycki J, Shanks N, Meaney MJ, et al.** (1996). The effects of early postnatal stimulation on Morris water-maze acquisition in adult mice: genetic and maternal factors. *Psychopharmacology (Berl)*, **128**(3): 227-239.

- Zanchi NE, Filho MA, Felitti V, Nicastro H, et al.** (2010). Glucocorticoids: extensive physiological actions modulated through multiple mechanisms of gene regulation. *J Cell Physiol*, **224**(2): 311-315.
- Zgombick JM, Borden LA, Cochran TL, Kucharewicz SA, et al.** (1993). Dual coupling of cloned human 5-hydroxytryptamine_{1D} alpha and 5-hydroxytryptamine_{1D} beta receptors stably expressed in murine fibroblasts: inhibition of adenylate cyclase and elevation of intracellular calcium concentrations via pertussis toxin-sensitive G protein(s). *Mol Pharmacol*, **44**(3): 575-582.
- Zhang X, Beaulieu JM, Sotnikova TD, Gainetdinov RR, et al.** (2004). Tryptophan hydroxylase-2 controls brain serotonin synthesis. *Science*, **305**(5681): 217.
- Zhang X, Gainetdinov RR, Beaulieu JM, Sotnikova TD, et al.** (2005). Loss-of-function mutation in tryptophan hydroxylase-2 identified in unipolar major depression. *Neuron*, **45**(1): 11-16.
- Zhao B, Etter L, Hinton RB, Jr., Benson DW** (2007). BMP and FGF regulatory pathways in semilunar valve precursor cells. *Dev Dyn*, **236**(4): 971-980.
- Zhao C, Deng W, Gage FH** (2008). Mechanisms and functional implications of adult neurogenesis. *Cell*, **132**(4): 645-660.
- Zhao C, Teng EM, Summers RG, Jr., Ming GL, et al.** (2006). Distinct morphological stages of dentate granule neuron maturation in the adult mouse hippocampus. *J Neurosci*, **26**(1): 3-11.
- Zhou FC, Tao-Cheng JH, Segu L, Patel T, et al.** (1998). Serotonin transporters are located on the axons beyond the synaptic junctions: anatomical and functional evidence. *Brain Res*, **805**(1-2): 241-254.
- Zhu Y, Jin K, Mao XO, Greenberg DA** (2003). Vascular endothelial growth factor promotes proliferation of cortical neuron precursors by regulating E2F expression. *FASEB J*, **17**(2): 186-193.
- Zhuang X, Gross C, Santarelli L, Compan V, et al.** (1999). Altered emotional states in knockout mice lacking 5-HT_{1A} or 5-HT_{1B} receptors. *Neuropsychopharmacology*, **21**(2 Suppl): 52S-60S.
- Zilliacus J, Wright AP, Carlstedt-Duke J, Gustafsson JA** (1995). Structural determinants of DNA-binding specificity by steroid receptors. *Mol Endocrinol*, **9**(4): 389-400.
- Zobel AW, Nickel T, Kunzel HE, Ackl N, et al.** (2000). Effects of the high-affinity corticotropin-releasing hormone receptor 1 antagonist R121919 in major depression: the first 20 patients treated. *J Psychiatr Res*, **34**(3): 171-181.

ANNEXE 1

Implications of the Functional Integration of Adult-Born Hippocampal Neurons in Anxiety-Depression Disorders

Implications of the Functional Integration of Adult-Born Hippocampal Neurons in Anxiety-Depression Disorders

The Neuroscientist
16(5) 578–591
© The Author(s) 2010
Reprints and permission: <http://www.sagepub.com/journalsPermissions.nav>
DOI: 10.1177/1073858409360281
<http://nro.sagepub.com>


Denis J. David¹, Jingwen Wang²,
Benjamin Adam Samuels², Quentin Rainer¹,
Indira David², Alain M. Gardier¹, and René Hen²

Abstract

Adult neurogenesis in the dentate gyrus of the hippocampus has gained considerable attention as a cellular substrate for both the pathophysiology and treatment of depression. Overall, the studies of adult hippocampal neurogenesis are still in their infancy because most of them explore only one stage of this process. Importantly, given the built-in homeostatic mechanisms that act at each stage during the progression from stem cells to mature neurons (proliferation, differentiation, maturation, survival), it is very difficult to extrapolate the efficiency of a drug on adult neurogenesis from analysis of one stage alone. Here, we review the most significant data on hippocampal neurogenesis, focusing on the importance of studying each stage of adult hippocampal neurogenesis and also on the importance of choosing the appropriate mouse strain to perform the experiment. Specifically, strains with a high number of basal proliferating cells in the dentate gyrus of the hippocampus should be used only under stressed conditions to detect the effects of antidepressants on adult neurogenesis. We also discuss how adult hippocampal neurogenesis could be involved in affective state disorders such as depression and anxiety. Finally, we reveal that the behavioral effects of fluoxetine are mediated through both neurogenesis-dependent and -independent actions.

Keywords

adult neurogenesis, antidepressant, corticosterone model, hippocampus, mice, neurogenesis dependent, neurogenesis independent, strain

Mood disorders impact 7% of the world's population, and severe forms of depression affect 2% to 5% of the US population (Kessler and others 2005). The diagnostic criteria of major depressive disorder (MDD) includes the persistence of depressed mood, low self-esteem, feelings of hopelessness, anhedonia, decreased ability to concentrate, abnormalities in appetite, neurovegetative symptoms, weight loss or gain, insomnia or hypersomnia, and recurrent thoughts of suicide (American Psychiatric Association 1990). The heterogeneous nature of depression suggests an involvement of multiple distinct brain regions, which may be responsible for the diverse symptoms. Human imaging and postmortem studies have supported this hypothesis, implicating brain areas including the prefrontal and cingulate cortex, hippocampus, striatum, amygdala, and thalamus (Drevets 2001; Liotti and Mayberg 2001; Nestler and others 2002). Together, these brain regions operate a series of

highly interacting circuits that forms a neural circuitry involved in depression (Drevets 2001; Manji and others 2001; Nestler and others 2002).

The hippocampus is one of several limbic structures that has been extensively studied in individuals with psychiatric and neurological disorders in the last decade (Eisch and others 2008). Besides its critical role in learning and memory, the hippocampus is one of only 2 areas in the mammalian brain in which adult neurogenesis

¹Faculté de Pharmacie, Université Paris-Sud, Châtenay-Malabry, France

²Center for Neurobiology and Behavior, Columbia University, New York, New York

Corresponding Author:

Denis J. David, Université Paris-Sud EA 3544, Faculté de Pharmacie, 5, rue JB Clément, 92296 Châtenay-Malabry Cedex, France
Email: denis.david@u-psud.fr

occurs (Eisch and others 2008). This physiological phenomenon can be divided into discrete stages, each of which is defined by distinct physiological and morphological properties (Sahay and Hen 2007). Birth of new neurons, or neurogenesis, occurs throughout life, specifically in 2 areas of the brain in adult mammals: the subventricular zone (SVZ) of the lateral ventricles and the subgranular zone (SGZ) of the dentate gyrus (DG) of the hippocampus. New neurons born in the SGZ migrate into the granule cell layer of the DG and eventually become granule cells. These newborn neurons integrate into the existing circuitry and receive functional input (Zhao and others 2008). Adult neurogenesis in the hippocampus is therefore defined as the progression from neural stem cell to mature dentate granule neuron. All stages of adult neurogenesis are regulated by physiological activity, including the proliferation, differentiation, fate determination of adult neural stem cells (NSCs) and progenitors, and the survival, maturation, and integration of newborn neurons (Zhao and others 2008). To fully understand the pathophysiology and treatment of depression, it is essential to delineate molecular, cellular, and circuit-level determinants of chronic antidepressant action in addition to behavioral models. Of the current leading hypotheses of the pathophysiology and treatment of depression, one deserves particular attention because it allows the characterization of changes in the brain following chronic but not acute antidepressant treatments: the neurogenesis hypothesis of depression. This review revisits the role of adult hippocampal neurogenesis in the pathophysiology of mood disorders, especially anxiety/depression, and also in the antidepressant responses, especially in nonstressed and stressed rodents.

Quantitative Analysis of Proliferation, Survival, Maturation, and Differentiation of Newborn Cells

For a full characterization of the neurogenic effects of new compounds, all the steps of neurogenesis, including proliferation, survival, maturation, and differentiation, have to be completed. Proliferation, differentiation, and survival steps require a specific protocol using the administration of a synthetic thymidine analog, “5-bromo-3'-deoxyuridine” (BrdU), which substitutes for thymidine incorporation into DNA synthesized during the S phase of the cycle. Quantitative analysis of proliferation, differentiation, and survival of newborn cells is made by varying the time interval between the pulse administration of BrdU and the sacrifice of animals (Kempermann and others 1997; Miller and Nowakowski 1988) (Fig. 1A, 1E). Usually, for the quantification of number of rate of cell division, animals are administered BrdU 2 hours before

sacrifice (Taupin 2007) (Fig. 1A). The fate of the newly generated cells can be determined 3 to 4 weeks later once migration has been achieved (Cameron and others 1995; Paizanis and others 2007) (Fig. 1E). Proliferation, differentiation, or survival is quantified by counting BrdU-positive cells (Fig. 1D, 1F). Interestingly, quantification of the BrdU-positive clusters could also be performed to measure proliferation because a positive correlation exists between BrdU-positive clusters and BrdU-positive cells (Fig. 1C). Because the quantification of BrdU-positive clusters is much less time consuming than counting BrdU-positive cells, this method can be used as a rapid indicator of the neurogenic effect of drugs or other manipulations. This is important also because BrdU immunostaining has been used not only to test whether new drugs affect adult hippocampal neurogenesis but also whether the anxiety/depressive-like state has been related to changes in hippocampal neurogenesis.

Anxiety/Depressive-Like State and Adult Hippocampal Neurogenesis

The neurogenesis hypothesis of depression postulates that a decrease in the production of newborn granule cells in the dentate gyrus of the hippocampus is related to the pathophysiology of depression and that enhanced hippocampal neurogenesis is required for the behavioral effect of antidepressant treatments (Sheline and others 1996). However, the study of adult hippocampal neurogenesis in depressed patients has relied primarily on histological examination of postmortem brain tissue and magnetic resonance imaging studies. The only study to date did not detect a difference in proliferation of stem cells (using KI-67) in the hippocampus of depressed patients (Reif and others 2006). Although notable, the study is limited in power and confounded by the effects of medication (all the depressed subjects studied, with the exception of one, were prescribed antidepressant medications at time of death) that may have masked small differences in cell proliferation. Moreover, no toxicology data were available for those subjects, and thus, it is not known whether the medications prescribed were actually taken by the patient. More importantly, given the built-in homeostatic mechanisms that act at each stage of progression from stem cell to mature neuron, it is very difficult to extrapolate from analysis of one stage alone.

Magnetic resonance imaging studies have been also used to investigate whether impaired adult neurogenesis is an etiological factor for depression. A reduction in hippocampal volume in depressed patients has been consistently shown, and 2 meta-analyses have compellingly demonstrated a reduction in hippocampal volume relative to age- and sex-matched controls in people with

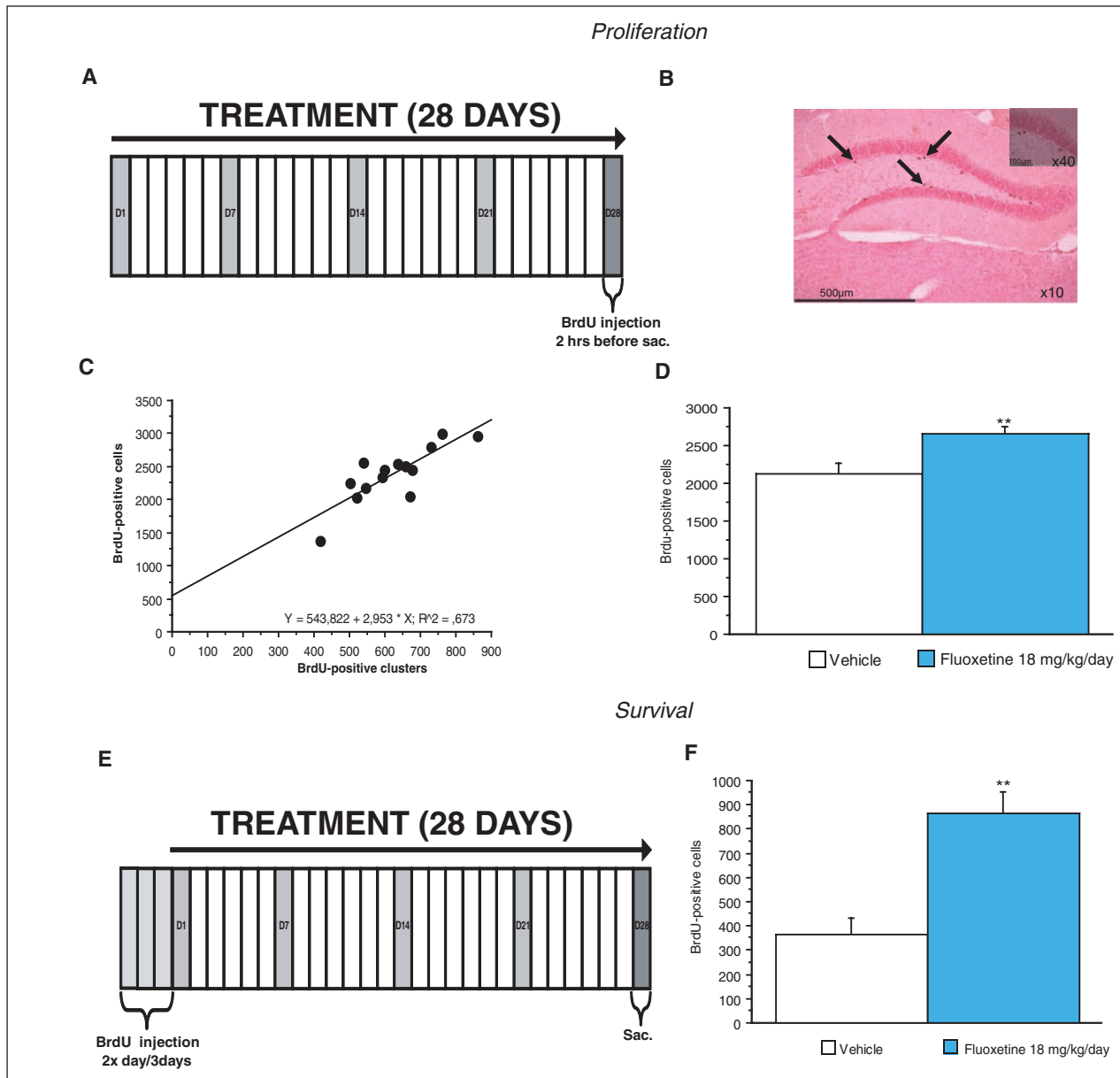


Figure 1. Experimental protocol to assess the effects of monoaminergic antidepressant treatment on proliferation and survival steps of adult hippocampal neurogenesis in 129SvEv strain. (A) To assess the effects of chronic fluoxetine treatment (28 days of treatment) on cell proliferation, “5-bromo-3’-deoxyuridine” (BrdU) (150 mg/kg) is administered 2 hours before sacrifice. (B) Photograph of BrdU-positive clusters in the dentate gyrus of adult hippocampus. BrdU-positive cell counts for the subgranular zone and adjacent zone are defined as a 2-cell body-wide zone along the hilar border (10 \times magnification). (C) A positive correlation between BrdU-positive clusters and BrdU-positive cells is observed ($R^2 = 0.67$). The quantification of BrdU-positive clusters could be used as a rapid indicator of the neurogenic effect of drugs. (D) Immunohistochemistry of cell proliferation of newborn cells in the dentate gyrus of the hippocampus indicates a significant enhancement of BrdU-positive cells after chronic fluoxetine treatment (18 mg/kg/d) in 129SvEv mice. Values plotted are mean \pm SEM ($n = 7$ per group). ** $P < 0.01$ versus control group. Data were analyzed using StatView 5.0 software (SAS Institute, Cary, NC). One-way ANOVA was applied to the data as appropriate ($F_{1,12} = 8.96$; ** $P < 0.01$), followed by Fisher protected least significant difference (PLSD) post hoc analysis. (E) To assess the effects of chronic fluoxetine treatment (28 days of treatment) on survival of newborn neurons, BrdU (150 mg/kg) is administered for 3 days, twice a day, before the start of the treatment. Animals are sacrificed at the end of the chronic treatment. (F) Immunohistochemistry of survival of newborn cells in the dentate gyrus of the hippocampus indicates a significant enhancement of BrdU-positive cells after chronic fluoxetine treatment (18 mg/kg/d) in 129SvEv mice. Values plotted are mean \pm SEM ($n = 9$ per group). ** $P < 0.01$ versus control group. Data were analyzed using StatView 5.0 software (SAS Institute). One-way ANOVA was applied to the data as appropriate ($F_{1,16} = 12.88$; ** $P < 0.01$), followed by Fisher PLSD post hoc analysis.

recurrent depression (Videbech and Ravnkilde 2004). The frequency of depressive episodes and how long the depression remains untreated correlate with the magnitude of reduction in hippocampal volume. However, pathohistological studies of postmortem tissue indicate that changes in neuropil and glial cell number may be responsible for reductions in hippocampal volume (Czeh and Lucassen 2007).

Preclinical studies have proven to be informative in bridging the causality between adult hippocampal neurogenesis and behavior. Using exposure to different forms of chronic stress, such as social subordination, immobilization, physical restraint, and foot shock, a decrease in SGZ proliferation in rodents has been observed (Gould, McEwen and others 1997; Gould, Tanapat and others 1998). However, the dissection of the causal relationship between hippocampal neurogenesis and behavior came from ablation of progenitor cells. Several methods have been developed to decrease or ablate neurogenesis, including 1) low-dose X-ray or gamma-ray irradiation of either the whole brain or restricted brain regions (Santarelli and others 2003); 2) systemic treatment with antimitotic drugs such as methylazoxymethanol acetate (MAM) (Jayatissa and others 2009); and 3) genetically manipulated mice to specifically ablate neurogenesis, such as the GFAP-TK mice in which dividing GFAP+ progenitors are susceptible to ganciclovir treatment (Saxe and others 2006). It is important to keep in mind the drawbacks of these methods, such as nonspecific effects of ablation that could involve not only the hippocampus but also other brain regions and functions and the lack of temporal specificity of ablation. Impaired adult neurogenesis in the hippocampus was hypothesized to be a part of the pathogenesis of major depressive disorders (Duman and others 2000; Kempermann and Kronenberg 2003). Blocking hippocampal neurogenesis using X-irradiation or genetic ablation (GFAP-TK mice) does not influence anxiety-related behavior as assessed in conflict-based tests, such as the open field, light-dark choice test, and elevated plus maze or in anxiety tests that are also used to screen for antidepressant activity, such as novelty-suppressed feeding (Santarelli and others 2003; Saxe and others 2006; David and others 2007). Moreover, the X-irradiation of the hippocampus per se had no effect on stress, suggesting that a loss of hippocampal neurogenesis is not sufficient to induce anxiety/depressive-like behavior and does not worsen the behavioral changes induced by stress. Similarly, using a pharmacological ablation of cell proliferation with MAM, it was demonstrated that suppression of cell proliferation in the hippocampal formation is not an absolute factor for induction of an anhedonia-like state in rats (Jayatissa and others 2009). Thus, it seems that a decrease in neurogenesis is not sufficient to mediate the

development of an anxiety/depressive-like state in rodents. However, further studies suggested that the situation is more complicated. Recently, results indicate that adult hippocampal neurogenesis plays an important role in the regulation of affective states (Revest and others 2009). In this transgenic model, adult hippocampal neurogenesis is selectively impaired by overexpression of the proapoptotic protein Bax in neuronal precursors. Using several behavioral paradigms, authors showed that a deficit in hippocampal neurogenesis increased anxiety-related behaviors but did not modify behaviors that are related to the affective sphere underlying depression. Finally, Airan and others (2007) further explored the potential link between depression and neurogenesis using voltage-sensitive dye imaging to probe hippocampal activity. Intriguingly, against the neurogenesis hypothesis of depression, chronic stress in rats was not associated with a down-regulation in neurogenesis, and ablation of neurogenesis did not induce a depression-like state (Airan and others 2007). In summary, current evidence indicates that adult hippocampal neurogenesis may not be a major contributor to the development of depression but may be required for some of the behavioral effects of antidepressants (Sahay and Hen 2007).

Antidepressant Effects on Proliferation, Differentiation, Maturation, and Survival on Stages in Adult Nonstressed Animals

One of the primary focuses for the role of adult hippocampal neurogenesis in depression is the observation that antidepressants and environmental interventions that confer antidepressant-like behavioral effects stimulate adult hippocampal neurogenesis in rodents and in humans. A recent elegant study showed the first evidence that in the human dentate gyrus, there are more neuronal progenitor cells (Nestin-Immunoreactive) and more dividing cells (Ki-67-Immunoreactive) in selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI) (sertraline, fluoxetine)—or tricyclic antidepressant (TCA) (nortriptyline, clomipramine)—treated MDD patients compared with untreated MDD or controls (Boldrini and others 2009).

Antidepressant Effects on Proliferation or Survival Stages

In this review, we replicated previous data showing that chronic fluoxetine (18 mg/kg/d) treatment and other monoaminergic antidepressants increased proliferation of progenitor cells in 129SvEv mice (Santarelli and others 2003) (Fig. 1D). Moreover, aside from increasing proliferation, fluoxetine also enhanced the survival of postmitotic granule cells (Fig. 1F). The

effects of monoaminergic antidepressants on cell proliferation and survival of newborn neurons have also been demonstrated in rats (Encinas and others 2006; Malberg and others 2000). Interestingly, the effects of monoaminergic antidepressants on proliferation and survival were observed after chronic but not subchronic treatment (Malberg and others 2000; Duman and others 2001; Santarelli and others 2003; David and others 2007; Wang and others 2008). Furthermore, other antidepressants such as atypical antidepressant tianeptine, electroconvulsive therapy, mood stabilizers, and the novel antidepressant agomelatine (a mixed MT1/MT2 melatonin receptor agonist and 5-HT_{2C} receptor antagonist) also increased proliferation and survival stages in the adult hippocampus (Chen and others 2006; Banasr and others 2006). Interestingly, it was shown recently that antidepressants could differentially affect various stages of neurogenesis in the dorsal and ventral hippocampus. For example, chronic (3 weeks) administration of agomelatine increased cell proliferation and survival in the ventral dentate gyrus, a region notably implicated in response to emotion (Banasr and others 2006).

Studies have suggested that distinct mechanisms regulate proliferation and survival. For example, environmental enrichment enhances the survival of immature cells without affecting proliferation (Kempermann and others 1997). In contrast, voluntary exercise increases proliferation and survival but does not alter the rate of maturation (Plumpe and others 2006) or dendritic morphology of newborn neurons (van Praag and others 2005). Pilocarpine-induced seizures cause both increased proliferation and survival (Radley and Jacobs 2003), along with improved dendritic outgrowth in newborn neurons (Overstreet-Wadiche and others 2006). Finally, a recent study has shown that fluoxetine targets a class of amplifying neural progenitors by increasing the rate of symmetric divisions (Encinas and others 2006).

Antidepressant Effects on Maturation Stage

Until recently, it was not clear whether SSRIs also target immature neurons by influencing their maturation and functional integration. We showed here (Fig. 2) and also recently (Wang and others 2008) that chronic fluoxetine increases proliferation of progenitors and also survival of immature neurons in the adult dentate gyrus of the hippocampus, which is consistent with several previous studies (Encinas and others 2006; Malberg and others 2000; Santarelli and others 2003; Soumier and others 2009). We have demonstrated for the first time that chronic, but not subchronic, fluoxetine administration stimulates maturation of immature granule cells: first, a

larger fraction of doublecortin-positive (DCX⁺) cells possessed tertiary dendrites following chronic fluoxetine treatment; and second, these immature DCX⁺ cells displayed more complex dendritic arborization following chronic fluoxetine (Fig. 3B). Overall, newborn neurons undergo an accelerated maturation after chronic fluoxetine treatment, as shown by the increased proportion of newborn cells that ceased to express the immature neuronal marker DCX. The delayed effects of fluoxetine to stimulate maturation of young granule cells parallel the delayed onset of its behavioral effects. Interestingly, electroconvulsive therapy (ECT), one of the fastest and most effective antidepressant treatments (American Psychiatric Association 1990), stimulates neurogenesis more rapidly than fluoxetine (Warner-Schmidt and Duman 2007). In addition, the induction of seizures, a prerequisite for achieving therapeutic effects during ECT (American Psychiatric Association 1990), stimulates dendritic development and maturation (Overstreet-Wadiche and others 2006). Specifically, following seizure induction, newborn granule cells display increased dendritic outgrowth and start receiving glutamatergic synaptic input earlier than those from noninduced animals (Overstreet-Wadiche and others 2006). These studies, together with our results, suggest that the processes that promote the maturation of newborn cells, such as agomelatine, may be targets for future drug development (Soumier and others 2009).

Antidepressant Effects on Differentiation Stage

Adult NSCs, or neural progenitors, can differentiate into neurons and glial cells (astrocytes and oligodendrocytes) (Gage 2000). There are 2 types of neural progenitors in the SGZ: type 1 progenitors have a radial process spanning the granule cell layer, expressing nestin, glial fibrillary acidic protein (GFAP), and the Sry-related HMG box transcription factor, Sox2 (Fukuda and others 2003; Garcia and others 2004; Suh and others 2007). These type 1 cells are sometimes referred to as NSCs (neural stem cells). Type 2 hippocampal progenitors have only short processes and express Sox-2 but not GFAP (Zhao and others 2008) and are sometimes referred to as transit-amplifying cells or intermediate progenitors. Four weeks after birth, newly generated granule cells have acquired the typical features of mature granule cells; for example, newborn cells have ceased to express immature neuronal markers such as DCX or polysialated neural cell adhesion molecule (PSA-NCAM), and they receive similar glutamatergic and GABAergic inputs as existing mature neurons in the dentate gyrus (Laplagne and others 2006; Toni and others 2007; Zhao and others 2006). However, newborn cells continue to mature

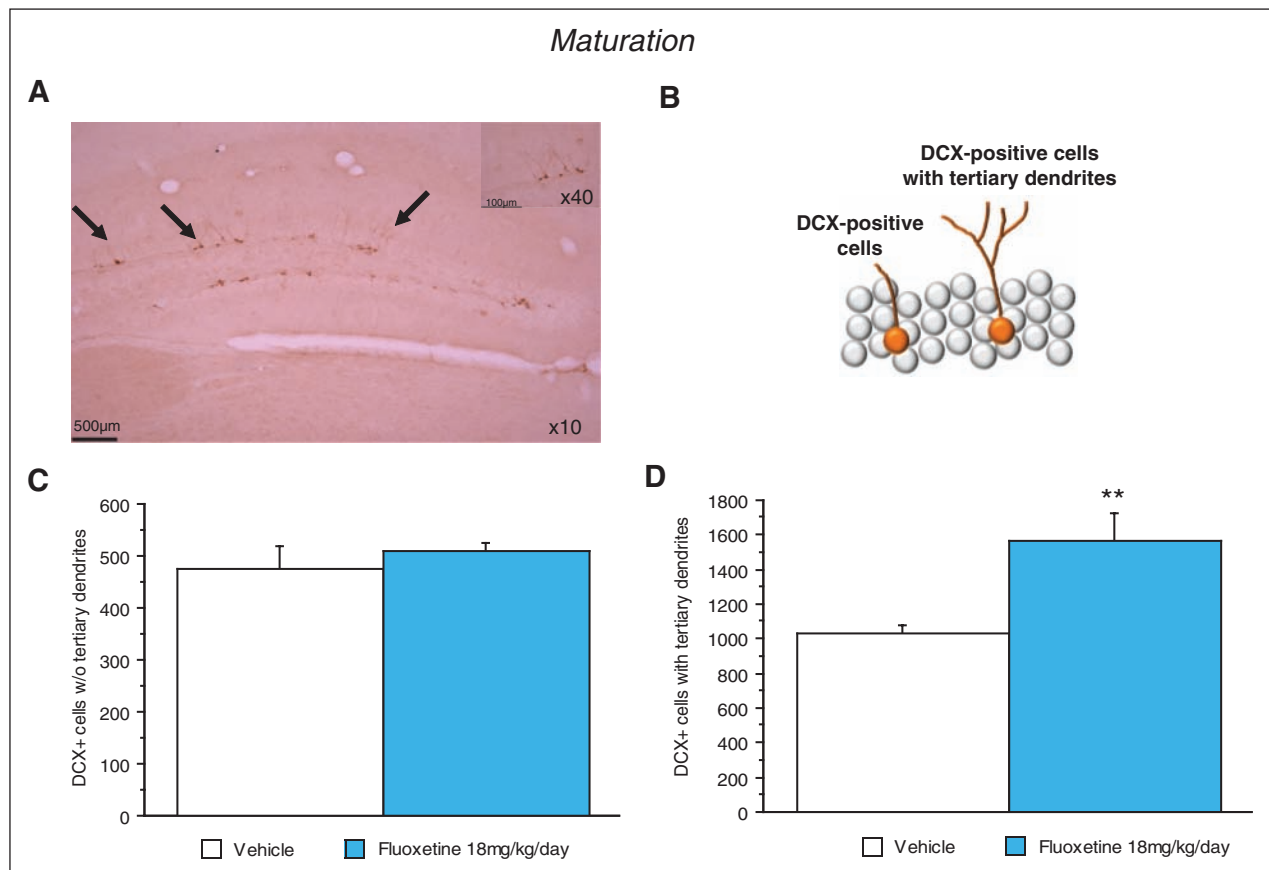


Figure 2. Chronic monoaminergic antidepressant stimulates dendritic maturation in I29SvEv strain. (A) Doublecortin (DCX) images were taken at 10 \times magnification and 40 \times magnification for the inset. (B) Categorization of DCX+ immature cells. We categorized DCX+ cells according to their dendritic morphology into DCX+ cells without tertiary dendrites and DCX+ cells with tertiary dendrites. (C) Chronic fluoxetine treatment (18 mg/kg/d) in I29SvEv strain did not change the total number of DCX+ cells. Values plotted are mean \pm SEM ($n = 4$ -5 per group). Data were analyzed using StatView 5.0 software (SAS Institute, Cary, NC). One-way ANOVA was applied to the data as appropriate ($F_{1,7} = 0.78$). (D) Chronic fluoxetine treatment (18 mg/kg/d) in I29SvEv strain significantly increased the number of DCX+ cells with tertiary dendrites. Values plotted are mean \pm SEM ($n = 4$ -5 per group). ** $P < 0.01$ versus control group. Data were analyzed using StatView 5.0 software (SAS Institute). One-way ANOVA was applied to the data as appropriate ($F_{1,7} = 8.06$; ** $P < 0.01$), followed by Fisher protected least significant difference post hoc analysis.

morphologically and physiologically. The spines of 4-week-old neurons are more likely to be associated with multiple-synapse boutons than older neurons, and the density of mushroom spines continues to increase after 8 weeks (Laplagne and others 2006). Furthermore, 2- to 4-week-old neurons display enhanced excitability and low long-term potentiation (LTP) induction threshold, whereas 4- to 6-week-old neurons display larger LTP amplitude (Schmidt-Hieber and others 2004). In addition, a form of LTP (ACSF-LTP) acquired using field recordings in the dentate gyrus has been shown to require hippocampal neurogenesis: ACSF-LTP is completely blocked by ablation of neurogenesis with either irradiation or a genetic manipulation (Saxe and others 2006). This

critical period for the young neurons coincides with the developmentally regulated expression of NR2B-containing NMDARs in adult-born neurons (Tashiro and others 2007; Ge and others 2008).

Following differentiation, newborn neurons go through several developmental stages with distinctive physiological and morphological characteristics. Similar to newborn neurons in the developing brain, adult-born granule cells less than 3 weeks old depolarize in response to GABA because of their high intracellular chloride concentrations (Ge and others 2006). At 2 to 4 weeks after birth, the response to GABA switches from depolarization to hyperpolarization, the same period during which the growth of dendritic spines and the onset of glutamatergic

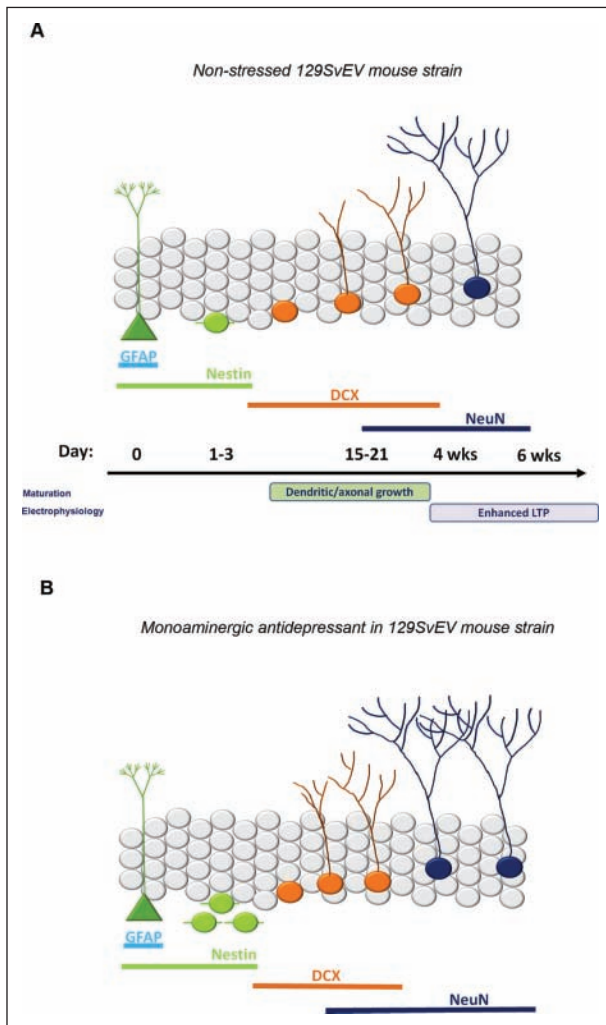


Figure 3. Chronic fluoxetine stimulates dendritic maturation and synaptic plasticity of newborn granule cells, a possible mechanism for antidepressant action in 129SvEv mice. (A, B) From left to right, anatomical and functional stages during neuronal differentiation and maturation, including quiescent, positive radial glia-like progenitors (green), rapidly amplifying neural progenitors (light green), immature granule cells (orange), and mature granule cells. Bottom panels show immunohistochemical markers for each stage (A). Fluoxetine stimulates adult neurogenesis in a multifold fashion in 129SvEv mice (B). Chronic fluoxetine treatment: first, increases proliferation of neural progenitors; second, stimulates dendritic branching as well as facilitates maturation; third, enhances survival of immature granule cells; and fourth, enables young neurons to be functionally integrated into the local hippocampal circuit, resulting in an enhancement of long-term synaptic plasticity (Wang and others 2008). Finally, these synergistic actions lead to an improved behavior outcome (Encinas and others 2006; Malberg and others 2000). Reprinted from Wang and others 2008, with permission of Society for Neuroscience.

input occurs (Ge and others 2006). In addition, newly generated granule cells form synaptic contacts with hilar

and CA3 targets at 2 weeks of age, while the complexity of the synapses increases as neurons mature (Faulkner and others 2008).

Influence of Mouse Strain on Effects of Antidepressant on Adult Hippocampal Neurogenesis

Studies on different strains of mice yielded contrasting results with regard to the effects of antidepressant drugs on adult hippocampal neurogenesis (Table 1). For example, previous findings showed that in the 129SvEv strain, fluoxetine increases cell proliferation and survival of newborn cells (Santarelli and others 2003), whereas in BALB/cJ, it did not (Holick and others 2008). A recent report confirmed these data, indicating that neurogenesis may not always be required for the behavioral effects of fluoxetine, at least in the BALB/cJ strain (Huang and others 2008). For these reasons, the mouse strain might be an important factor, potentially accounting for the conflicting results of neurogenesis studies. It is possible that the 2 strains utilize different cellular and molecular machinery to mediate the neurogenic and behavioral effects of chronic antidepressant treatment. It has been examined whether strain differences exist in baseline or stress-induced changes in cell proliferation and survival in the dentate gyrus. Recent reports show that female mice of the BALB/c and a 129 substrain (129SvJ) are quite similar on measures of basal adult neurogenesis including cell proliferation, survival, and neuronal differentiation, although the 129SvJ mice show slightly less survival 4 weeks after BrdU injection (Kempermann and others 1997). Moreover, quantitative assessments of progenitor cell proliferation and immature neuronal differentiation in the dentate gyrus revealed significantly different basal proliferation rates between BALB/cJ and C57Bl/6 strains (2-fold more proliferating cells in C57Bl/6 than in BALB/cJ) (Navailles and others 2008). While neither of these strains responded to chronic antidepressant during adulthood, chronic stress unveiled the effects (Table 1). Finally, to study the effects of antidepressant in nonstressed animals, the choice of a strain is crucial. It is noteworthy that a strain such as 129SvEv mice, exhibiting low numbers of basal proliferating cells within the subgranular zone, is more appropriate in non-stressed conditions than BALB/cJ mice (Holick and others 2008) or C57BL/6 strain (Figs. 3A and 4A). On the contrary, the use of a strain exhibiting a high number of basal proliferating cells, such as C57BL/6 mice, would be better to study the impact of the stress on adult hippocampal neurogenesis, even though the action of antidepressants on neurogenesis is decreasing as a function of age (Couillard-Despres and others 2009).

Table 1. Effects of a Chronic Monoaminergic Antidepressant Treatment on Adult Hippocampal Neurogenesis Stages in Various Mouse Strains and under Various Experimental Conditions

| Mouse Strain | Conditions | Proliferation | Survival | Maturation |
|--------------|---|--|--|--|
| I29SvEv | Antidepressant treatment in nonstressed adult animals | ↑ (Santarelli and others 2003; David and others 2007; Wang and others 2008) | ↑ (Santarelli and others 2003; Wang and others 2008) | ↑ (Santarelli and others 2003; Wang and others 2008) |
| BALB/cj | Antidepressant treatment in nonstressed adult animals | No effect (Holick and others 2008; Huang and others 2008; Navailles and others 2008) | No effect (Huang and others 2008; Navailles and others 2008) | No effect (Holick and others 2008; Huang and others 2008; Navailles and others 2008) |
| | Antidepressant treatment during adolescence | ↑ (Navailles and others 2008) | ↑ (Navailles and others 2008) | ↑ (Navailles and others 2008) |
| | Antidepressant treatment during early life stress | No effect (Navailles and others 2008) | No effect (Navailles and others 2008) | No effect (Navailles and others 2008) |
| | Antidepressant treatment during unpredictable chronic mild stress | ↑ (Surget and others 2008) | Not tested (Surget and others 2008) | Not tested (Surget and others 2008) |
| C57BL/6 | Antidepressant treatment in nonstressed adult animals | No effect (Navailles and others 2008; David and others 2009) | No effect (Navailles and others 2008; David and others 2009) | ↑ (Navailles and others 2008; David and others 2009) |
| | Antidepressant treatment during adolescence | ↑ (Navailles and others 2008) | ↑ (Navailles and others 2008) | ↑ (Navailles and others 2008) |
| | Antidepressant treatment during early life stress | No effect (Navailles and others 2008) | No effect (Navailles and others 2008) | No effect (Navailles and others 2008) |
| | Antidepressant treatment in corticosterone-treated animals | ↑↑ (David and others 2009) | ↑↑ (David and others 2009) | ↑↑ (David and others 2009) |

↑ = stimulation; ↑↑ = strong stimulation.

Animal Models of Anxiety-Depression and Adult Hippocampal Neurogenesis

A better understanding of the role of adult neurogenesis in the pathophysiology and the antidepressant-like activity of drugs might come from the use of animal models of anxiety-depression instead of the use of nonstressed animals. Most of the knowledge we have of the pathophysiology of mood disorders comes from the mechanism of action of molecules effective against these disorders. Currently, there are many treatments for depression, including psychotherapy, electroconvulsive therapy, and antidepressant medications. SSRIs are the most commonly prescribed drugs for the treatment of depression, and several anxiety disorders even though their actions at the molecular and cellular levels still remain poorly understood. In addition, only 50% of patients show full remission following treatment with SSRIs, although up to 80% shows partial responses (Nestler and others 2002). Like the first-generation antidepressants, SSRIs require at least 4 to 6 weeks before achieving therapeutic benefits (Wong and Licinio 2001). The paradox between the

rapid increase in serotonin levels *in vivo* and the delayed onset of antidepressant action has led us to postulate that acute enhancement of serotonin transmission alone is not sufficient for the therapeutic effects of SSRIs, but structural or functional changes that take place over time may be required.

Studies involving the observation of depressed patients have given rise to various hypotheses concerning the etiology of depression, and some of these hypotheses have given rise to corresponding animal models. Many animal models, which have been used for the selection of putative antidepressants, have been based on the simple amine deficiency theory, which postulates that depression arises as a result of a deficiency in biogenic amine neurotransmitters in the synaptic cleft.

To address these caveats, several animal behavioral paradigms that respond to chronic but not subchronic antidepressant treatment have been developed. These include the novelty-suppressed feeding test, the novelty-induced hypophagia test, the chronic mild stress/chronic unpredictable stress test (CMS/UCMS), and the social defeat test (Berton and others 2006; Dulawa and others

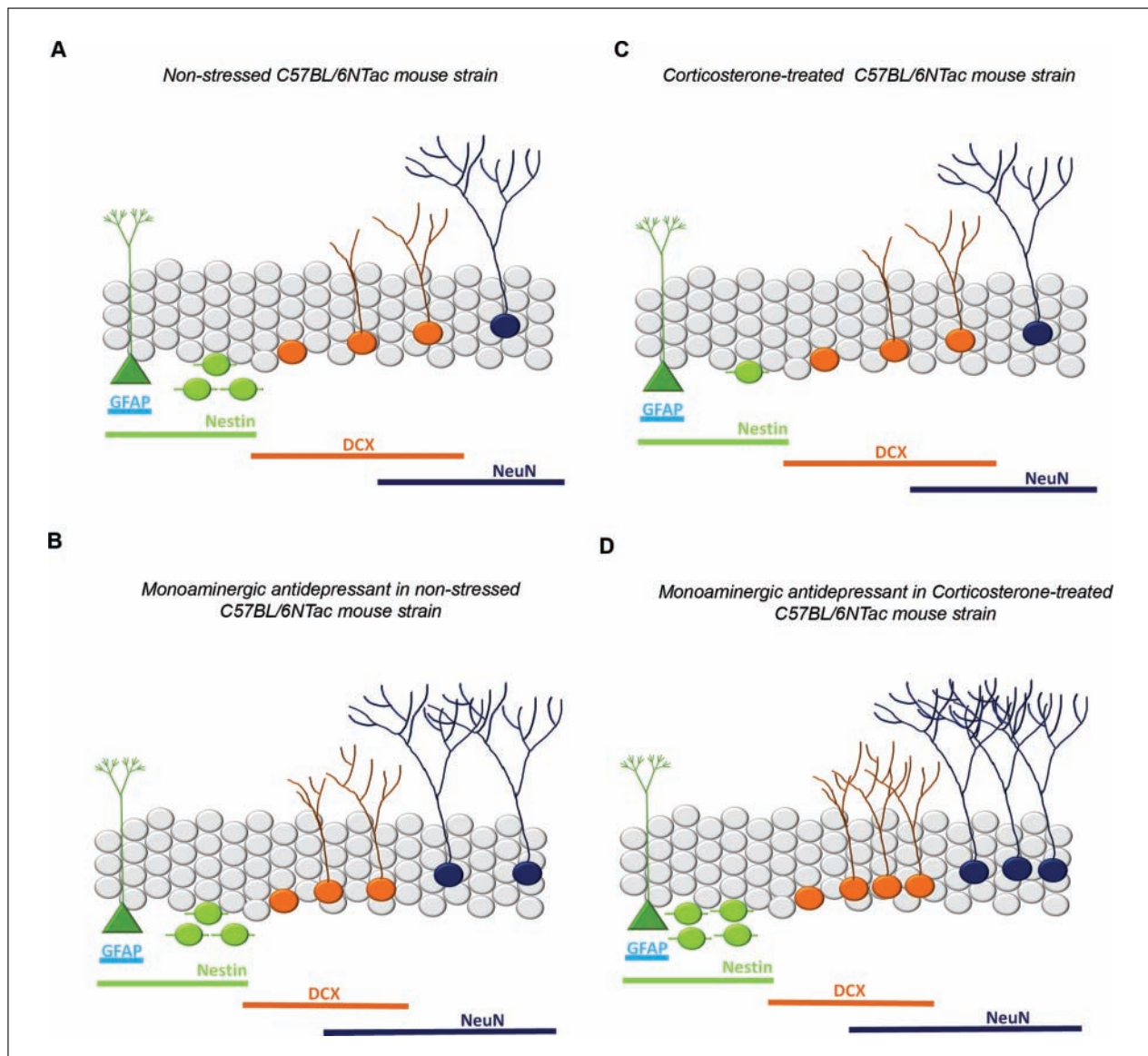


Figure 4. Chronic fluoxetine stimulates dendritic maturation and synaptic plasticity of newborn granule cells in C57BL/6NTac, a possible mechanism for antidepressant action only in corticosterone-treated animals. (A, B) From left to right, anatomical and functional stages during neuronal differentiation and maturation, including quiescent, positive radial glia-like progenitors (green), rapidly amplifying neural progenitors (light green), immature granule cells (orange), and mature granule cells (blue). Bottom panels show immunohistochemical markers for each stage. Strain differences in hippocampal adult proliferation have been reported (Schauwecker 2006; Navailles and others 2008), and C57BL/6 strain exhibits one of the highest numbers of proliferating cells within the subgranular zone, as compared to those of other strains of mice (A). Fluoxetine in C57BL/6NTac strain, contrary to 129SvEv mice, only affects the maturation step (B). (C, D) Chronic corticosterone exposure mimicked the effect of chronic stress on cell proliferation, decreasing the number of BrdU-positive cells in the dentate gyrus of the adult mouse hippocampus (C). The effects of corticosterone on neurogenesis are limited to the proliferation stage and not the survival or maturation of newborn neurons. Interestingly, the effects of fluoxetine on all stages of neurogenesis (proliferation, differentiation, and survival) were more pronounced in corticosterone-treated mice than in controls. It is possible that our model of corticosterone-induced stress may increase the dynamic range in which fluoxetine exerts its effects on different stages of neurogenesis in the adult hippocampus (D).

2004; Santarelli and others 2003). Together, these tests have been applied to the study of the molecular neurobiology of depression, in particular, through testing the

basal behavioral changes to antidepressants in genetically manipulated mice. Unfortunately, environmental stress manipulations in rodents, such as the CMS, are hampered

Table 2. Implications of Functional Integration of Adult-Born Hippocampal Neurons in Antidepressant-Like Activity of Monoaminergic Antidepressant

| Conditions | Species | Strain | Animal Model | Method of Ablation | Monoaminergic Antidepressant | Effects |
|---------------------------------------|---------|-------------|----------------|-----------------------|------------------------------|---|
| No stress | Mouse | I29SvEv | NSF | Low dose of X-ray | Fluoxetine, imipramine | Neurogenesis dependent (Santarelli and others 2003; Wang and others 2008) |
| | Mouse | BALB/cj | FST, NIH | Low dose of X-ray | Fluoxetine | Neurogenesis independent (Holick and others 2008) |
| Chronic mild stress | Rat | Fisher | FST, OF | X-ray | Fluoxetine | Neurogenesis dependent (FST)/independent (OF) (Airan and others 2007) |
| Chronic mild stress | Rat | Wistar | SC, FST, NSF | Antimitotic agent MAM | Fluoxetine | Neurogenesis dependent (NSF)/independent (SC, FST) (Bessa and others 2009) |
| Unpredictable chronic mild stress | Mouse | BALB/cj | CS, ST, NSF, A | Low dose of X-ray | Fluoxetine, imipramine | Neurogenesis dependent (CS, ST, NSF)/independent (A) (Surget and others 2008) |
| Chronic corticosterone administration | Mouse | C57/Bl6NTac | NSF, OF, FST | Low dose of X-ray | Fluoxetine | Neurogenesis dependent (NSF)/independent (OF, FST) (David and others 2009) |

FST = forced swim test; OF = open field; NIH = novelty-induced hypophagia; SC = sucrose consumption; NSF = novelty suppressed-feeding; CS = coat state; ST = splash test; A = actimeter.

by protocol variability and reported difficulties in replication, highlighting the need for a depression model easily replicable between laboratories (see Gourley and Taylor 2009 for review). We decided to supply mice with exogenous corticosterone, and then, we analyzed the behavioral consequences. Corticosterone is a hormone produced by the adrenal gland in response to stress and is found to be elevated in several commonly used animal models of depression including restraint stress, psychosocial stress, forced swimming, and exposure to predator odor. There is also evidence from human studies that depression is often associated with dysfunctions of the hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis (Holsboer 2008). Furthermore, the use of exogenously administered corticosterone has validity as a model to study chronic stress and depression (Gourley and others 2008). Thus, we and other groups (David and others 2009; Ardayfio and Kim 2006; Murray and others 2008; Gourley and others 2008) utilized chronic corticosterone treatment to develop and refine a mouse model displaying hallmark characteristics of anxiety and depression. Chronic treatment with low amounts (35 mg/mL delivered in the drinking water) of the glucocorticoid corticosterone (CORT) was sufficient to induce anxiety/depression as measured by several appropriate behavioral tests. Importantly, in this mouse model, antidepressants are effective only in the corticosterone-treated animals. Thus, the “corticosterone model” mimics observations made in humans in the sense that antidepressants are generally thought to have no major effects in patients who are not

clinically depressed. We have used the “CORT model” to investigate the role of adult hippocampal neurogenesis in the anxiolytic/antidepressant-like action of fluoxetine (David and others 2009).

Antidepressants Elicit Neurogenesis-Dependent and -Independent Effects

In their recent paper, Boldrini and others (2009) suggested that future studies in humans must determine what degree of antidepressant response is linked to increased neurogenesis in adult hippocampus. So far, preclinical studies in rodents using loss-of-function approaches that selectively abolish adult hippocampal neurogenesis have been used to study the relationship between network activity and dentate gyrus neurogenesis and their contributions to the behavioral effects of antidepressants in nonstressed and stressed animals (Table 2).

Antidepressants Elicit Neurogenesis-Dependent and -Independent Effects in Nonstressed Animals

Questions have also been raised regarding the proposal by Santarelli and others (2003) that hippocampal neurogenesis is essential for the manifestation of behavioral improvement after the administration of antidepressants. Since this first study in nonstressed rodents, others have

shown that the behavioral effects of monoaminergic antidepressants are dependent upon the presence of hippocampal neurogenesis (Wang and others 2008). However, in one strain of mice (BALB/cJ), X-rays did not block the response to antidepressants in various tests such as the forced swim test and the novelty-induced hypophagia test (Holick and others 2008). Noteworthy in this latest study and in a recent report, chronic fluoxetine treatment also failed to increase hippocampal neurogenesis (Holick and others 2008; Huang and others 2008). More generally, depending on the experimental conditions and the treatment, the behavioral effects of drugs with anxiolytic/antidepressant-like activities might be mediated via neurogenesis-dependent or -independent pathways. Indeed, beneficial effects of environmental enrichment and exercise on learning and on anxiety-like behavior can occur independently of increased adult hippocampal neurogenesis in mice (Meshi and others 2006). Furthermore, the anxiolytic and antidepressant-like effects of a melanin-concentrating hormone receptor antagonist do not require neurogenesis (David and others 2007). However, X-ray of the hippocampus blocked both the neurogenic and anxiolytic- and antidepressant-like effects of chronic HU210 (potent synthetic cannabinoid) treatment, suggesting that chronic HU210 treatment likely acts via promotion of hippocampal neurogenesis (Jiang and others 2005). Thus, in nonstressed conditions, antidepressants are likely to exert their behavioral effects through neurogenesis-dependent and neurogenesis-independent pathways.

To examine whether antidepressant-induced neurogenesis may simply be an epiphenomenon, the therapeutic efficacy of the antidepressants in subsets of animal models of anxiety/depression, in which a decrease or an ablation of neurogenesis has been done, might be an alternative. In the "CORT model," in some of the neurogenesis readouts in the paper (proliferation and maturation), fluoxetine is much more effective in corticosterone-treated animals, suggesting that a model of stress may increase the dynamic range in which fluoxetine can exert its effects on specific steps of neurogenesis.

Antidepressants Elicit Neurogenesis-Dependent and -Independent Effects in Stressed Animals

To address whether altered neurogenesis is important for the treatment of depression, Deisseroth's group used voltage-sensitive dye imaging to probe hippocampal activity in the CMS in rats and specifically the role of neurogenesis in depression-relevant neurophysiology and behavior (Airan and others 2007). Using irradiation to ablate neurogenesis, Airan and others (2007) also found that antidepressant behavioral efficacy in the forced swim test in rats required intact neurogenesis. Overall, antidepressant treatment was

sufficient to transiently increase neurogenesis and exert behavioral effects long after drug clearance from the system, and this effect was absent in animals lacking neurogenesis (X-ray). Recently, an elegant study in rats confirmed Deisseroth's study by showing that antidepressants retain some but not all their therapeutic efficacy in reducing measured indices of anxiety/depression-like behavior when hippocampal neurogenesis was blocked by a cytostatic agent (Bessa and others 2009). Indeed, using the CMS and the antimetabolic agent MAM, authors showed that the various antidepressants ameliorated CMS-induced behavioral signs of depression to the same extent in vehicle and MAM-treated animals. Conversely, using the NSF paradigm, they found that antidepressant drugs studied (imipramine, fluoxetine) reduced the hyperanxious state observed in CMS-exposed rats, even though neurogenesis was blocked. Overall, authors concluded that antidepressants reestablished neuronal plasticity in the hippocampus.

In the "CORT model," using X-irradiated mice, in which hippocampal neurogenesis was abolished, we demonstrated that antidepressant treatment still elicits some anxiolytic/antidepressant-like effects. Specifically, we found that antidepressant effects in the open field and forced swim test were neurogenesis independent, while effects in the novelty-suppressed feeding test or on coat state were neurogenesis dependent. As such, our study reveals that the behavioral effects of fluoxetine are mediated through both neurogenesis-dependent and -independent actions. Previously, Surget and others (2008) presented important evidence for both neurogenesis-dependent and -independent mechanisms for the reversal of stress-induced behaviors by antidepressant drugs, including fluoxetine. We think that our paper, using a different model of stress, brings a mechanistic approach to further elucidate the neurogenesis-independent pathways. Indeed, we are showing that one potential neurogenesis-independent mechanism mediating the effects of SSRIs may be the β -arrestin signaling pathway.

Concluding Remarks

The idea of fluoxetine, or more general monoaminergic antidepressants, eliciting effects via distinct mechanisms raises the question whether the same reasoning applies to the therapeutic effects of all antidepressant drugs. For example, might antidepressants work through a confluence of effects on both cognitive functions and mood? In the brain, would this translate to a distinction between hippocampal and other limbic structure-dependent effects of antidepressants? In accordance with this hypothesis, it has been suggested that the effects of antidepressants on mood may be neurogenesis independent, while those on anxiety may be neurogenesis dependent (Airan and others

2007; Bessa and others 2009; Surget and others 2008; David and others 2009). This is an important question as developers of future drugs need to determine whether compounds that directly stimulate neurogenesis would be effective as antidepressants or would only ameliorate cognitive deficits.

Authors' Note

Denis J. David and Jingwen Wang contributed equally to this work.

Declaration of Conflicting Interests

The authors declared a potential conflict of interest (e.g., a financial relationship with the commercial organizations or products discussed in this article) as follows: Rene Hen receives compensation as a consultant for Braincells Inc. and AstraZeneca in relation to the generation of novel antidepressants.

Funding

The authors disclosed receipt of the following financial support for the research and/or authorship of this article: Denis David received financial support from Lundbeck Inc. and Servier Laboratories.

References

- Airan RD, Meltzer LA, Roy M, Gong Y, Chen H, Deisseroth K. 2007. High-speed imaging reveals neurophysiological links to behavior in an animal model of depression. *Science* 317(5839):819–23.
- American Psychiatric Association. Task Force on Electroconvulsive Therapy. 1990. The practice of ECT: recommendations for treatment, training and privileging. *Convuls Ther* 6(2):85–120.
- Ardayfio P, Kim KS. 2006. Anxiogenic-like effect of chronic corticosterone in the light-dark emergence task in mice. *Behav Neurosci* 120(2):249–56.
- Banasr M, Soumier A, Hery M, Mocaer E, Daszuta A. 2006. Agomelatine, a new antidepressant, induces regional changes in hippocampal neurogenesis. *Biol Psychiatry* 59(11):1087–96.
- Berton O, McClung CA, Dileone RJ, Krishnan V, Renthall W, Russo SJ, and others. 2006. Essential role of BDNF in the mesolimbic dopamine pathway in social defeat stress. *Science* 311(5762):864–8.
- Bessa JM, Ferreira D, Melo I, Marques F, Cerqueira JJ, Palha JA, and others. 2009. The mood-improving actions of antidepressants do not depend on neurogenesis but are associated with neuronal remodeling. *Mol Psychiatry* 14(8):739, 764–73.
- Boldrini M, Underwood MD, Hen R, Rosoklija GB, Dwork AJ, John Mann J, and others. 2009. Antidepressants increase neural progenitor cells in the human hippocampus. *Neuropsychopharmacology* 34(11):2376–89.
- Cameron HA, McEwen BS, Gould E. 1995. Regulation of adult neurogenesis by excitatory input and NMDA receptor activation in the dentate gyrus. *J Neurosci* 15(6):4687–92.
- Chen ZY, Jing D, Bath KG, Ieraci A, Khan T, Siao CJ, and others. 2006. Genetic variant BDNF (Val66Met) polymorphism alters anxiety-related behavior. *Science* 314(5796):140–3.
- Couillard-Despres S, Wuertinger C, Kandasamy M, Caioni M, Stadler K, Aigner R, and others. 2009. Ageing abolishes the effects of fluoxetine on neurogenesis. *Mol Psychiatry* 14(9):856–64.
- Czeh B, Lucassen PJ. 2007. What causes the hippocampal volume decrease in depression? Are neurogenesis, glial changes and apoptosis implicated? *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 257(5):250–60.
- David DJ, Klemenhagen KC, Holick KA, Saxe MD, Mendez I, Santarelli L, and others. 2007. Efficacy of the MCHR1 antagonist N-[3-(1-{[4-(3,4-difluorophenoxy)phenyl]methyl}(4-piperidyl))-4-methylphenyl]-2-methylpropanamide (SNAP 94847) in mouse models of anxiety and depression following acute and chronic administration is independent of hippocampal neurogenesis. *J Pharmacol Exp Ther* 321(1):237–48.
- David DJ, Samuels BA, Rainer Q, Wang JW, Marsteller D, Mendez I, and others. 2009. Neurogenesis-dependent and -independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. *Neuron* 62(4):479–93.
- Drevets WC. 2001. Neuroimaging and neuropathological studies of depression: implications for the cognitive-emotional features of mood disorders. *Curr Opin Neurobiol* 11(2):240–9.
- Dulawa SC, Holick KA, Gundersen B, Hen R. 2004. Effects of chronic fluoxetine in animal models of anxiety and depression. *Neuropsychopharmacology* 29(7):1321–30.
- Duman RS, Malberg J, Nakagawa S, D'Sa C. 2000. Neuronal plasticity and survival in mood disorders. *Biol Psychiatry* 48(8):732–9.
- Duman RS, Nakagawa S, Malberg J. 2001. Regulation of adult neurogenesis by antidepressant treatment. *Neuropsychopharmacology* 25(6):836–44.
- Eisch AJ, Cameron HA, Encinas JM, Meltzer LA, Ming GL, Overstreet-Wadiche LS. 2008. Adult neurogenesis, mental health, and mental illness: hope or hype? *J Neurosci* 28(46):11785–91.
- Encinas JM, Vaahtokari A, Enikolopov G. 2006. Fluoxetine targets early progenitor cells in the adult brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103(21):8233–8.
- Faulkner RL, Jang MH, Liu XB, Duan X, Sailor KA, Kim JY, and others. 2008. Development of hippocampal mossy fiber synaptic outputs by new neurons in the adult brain. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105(37):14157–62.
- Fukuda S, Kato F, Tozuka Y, Yamaguchi M, Miyamoto Y, Hisatsune T. 2003. Two distinct subpopulations of nestin-positive cells in adult mouse dentate gyrus. *J Neurosci* 23(28):9357–66.
- Gage FH. 2000. Mammalian neural stem cells. *Science* 287(5457):1433–8.

- Garcia AD, Doan NB, Imura T, Bush TG, Sofroniew MV. 2004. GFAP-expressing progenitors are the principal source of constitutive neurogenesis in adult mouse forebrain. *Nat Neurosci* 7(11):1233–41.
- Ge S, Goh EL, Sailor KA, Kitabatake Y, Ming GL, Song H. 2006. GABA regulates synaptic integration of newly generated neurons in the adult brain. *Nature* 439(7076):589–93.
- Ge S, Sailor KA, Ming GL, Song H. 2008. Synaptic integration and plasticity of new neurons in the adult hippocampus. *J Physiol* 586(16):3759–65.
- Gould E, McEwen BS, Tanapat P, Galea LA, Fuchs E. 1997. Neurogenesis in the dentate gyrus of the adult tree shrew is regulated by psychosocial stress and NMDA receptor activation. *J Neurosci* 17(7):2492–8.
- Gould E, Tanapat P, McEwen BS, Flugge G, Fuchs E. 1998. Proliferation of granule cell precursors in the dentate gyrus of adult monkeys is diminished by stress. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95(6):3168–71.
- Gourley SL, Taylor JR. 2009. Recapitulation and reversal of a persistent depression-like syndrome in rodents. *Curr Protoc Neurosci* Chapter 9:Unit 9.32.
- Gourley SL, Wu FJ, Kiraly DD, Ploski JE, Kedves AT, Duman RS, and others. 2008. Regionally specific regulation of ERK MAP kinase in a model of antidepressant-sensitive chronic depression. *Biol Psychiatry* 63(4):353–9.
- Holick KA, Lee DC, Hen R, Dulawa SC. 2008. Behavioral effects of chronic fluoxetine in BALB/cJ mice do not require adult hippocampal neurogenesis or the serotonin 1A receptor. *Neuropsychopharmacology* 33(2):406–17.
- Holsboer F. 2008. How can we realize the promise of personalized antidepressant medicines? *Nat Rev Neurosci* 9(8):638–46.
- Huang GJ, Bannerman D, Flint J. 2008. Chronic fluoxetine treatment alters behavior, but not adult hippocampal neurogenesis, in BALB/cJ mice. *Mol Psychiatry* 13(2):119–21.
- Jayatissa MN, Henningsen K, West MJ, Wiborg O. 2009. Decreased cell proliferation in the dentate gyrus does not associate with development of anhedonic-like symptoms in rats. *Brain Res* 1290:133–41.
- Jiang W, Zhang Y, Xiao L, Van Cleemput J, Ji SP, Bai G, and others. 2005. Cannabinoids promote embryonic and adult hippocampus neurogenesis and produce anxiolytic- and antidepressant-like effects. *J Clin Invest* 115(11):3104–16.
- Kempermann G, Kronenberg G. 2003. Depressed new neurons: adult hippocampal neurogenesis and a cellular plasticity hypothesis of major depression. *Biol Psychiatry* 54(5):499–503.
- Kempermann G, Kuhn HG, Gage FH. 1997. More hippocampal neurons in adult mice living in an enriched environment. *Nature* 386(6624):493–5.
- Kessler RC, Berglund P, Demler O, Jin R, Merikangas KR, Walters EE. 2005. Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. *Arch Gen Psychiatry* 62(6):593–602.
- Laplagne DA, Esposito MS, Piatti VC, Morgenstern NA, Zhao C, van Praag H, and others. 2006. Functional convergence of neurons generated in the developing and adult hippocampus. *PLoS Biol* 4(12):e409.
- Liotti M, Mayberg HS. 2001. The role of functional neuroimaging in the neuropsychology of depression. *J Clin Exp Neuropsychol* 23(1):121–36.
- Malberg JE, Eisch AJ, Nestler EJ, Duman RS. 2000. Chronic antidepressant treatment increases neurogenesis in adult rat hippocampus. *J Neurosci* 20(24):9104–10.
- Manji HK, Drevets WC, Charney DS. 2001. The cellular neurobiology of depression. *Nat Med* 7(5):541–7.
- Meshi D, Drew MR, Saxe M, Ansorge MS, David D, Santarelli L, and others. 2006. Hippocampal neurogenesis is not required for behavioral effects of environmental enrichment. *Nat Neurosci* 9(6):729–31.
- Miller MW, Nowakowski RS. 1988. Use of bromodeoxyuridine-immunohistochemistry to examine the proliferation, migration and time of origin of cells in the central nervous system. *Brain Res* 457(1):44–52.
- Murray F, Smith DW, Hutson PH. 2008. Chronic low dose corticosterone exposure decreased hippocampal cell proliferation, volume and induced anxiety and depression like behaviours in mice. *Eur J Pharmacol* 583(1):115–27.
- Navailles S, Hof PR, Schmauss C. 2008. Antidepressant drug-induced stimulation of mouse hippocampal neurogenesis is age-dependent and altered by early life stress. *J Comp Neurol* 509(4):372–81.
- Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ, Eisch AJ, Gold SJ, Monteggia LM. 2002. Neurobiology of depression. *Neuron* 34(1):13–25.
- Overstreet-Wadiche LS, Bromberg DA, Bensen AL, Westbrook GL. 2006. Seizures accelerate functional integration of adult-generated granule cells. *J Neurosci* 26(15):4095–103.
- Paizanis E, Hamon M, Lanfumey L. 2007. Hippocampal neurogenesis, depressive disorders, and antidepressant therapy. *Neural Plast* 2007:73754.
- Plumpe T, Ehninger D, Steiner B, Klempin F, Jessberger S, Brandt M, and others. 2006. Variability of doublecortin-associated dendrite maturation in adult hippocampal neurogenesis is independent of the regulation of precursor cell proliferation. *BMC Neurosci* 7:77.
- Radley JJ, Jacobs BL. 2003. Pilocarpine-induced status epilepticus increases cell proliferation in the dentate gyrus of adult rats via a 5-HT1A receptor-dependent mechanism. *Brain Res* 966(1):1–12.
- Reif A, Fritzen S, Finger M, Strobel A, Lauer M, Schmitt A, and others. 2006. Neural stem cell proliferation is decreased in schizophrenia, but not in depression. *Mol Psychiatry* 11(5):514–22.
- Revest JM, Dupret D, Koehl M, Funk-Reiter C, Grosjean N, Piazza PV, and others. 2009. Adult hippocampal neurogenesis is involved in anxiety-related behaviors. *Mol Psychiatry* 14(10):959–67.

- Sahay A, Hen R. 2007. Adult hippocampal neurogenesis in depression. *Nat Neurosci* 10(9):1110–5.
- Santarelli L, Saxe M, Gross C, Surget A, Battaglia F, Dulawa S, and others. 2003. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science* 301(5634):805–9.
- Saxe MD, Battaglia F, Wang JW, Malleret G, David DJ, Monckton JE, and others. 2006. Ablation of hippocampal neurogenesis impairs contextual fear conditioning and synaptic plasticity in the dentate gyrus. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103(46):17501–6.
- Schauwecker PE. 2006. Genetic influence on neurogenesis in the dentate gyrus of two strains of adult mice. *Brain Res* 1120(1):83–92.
- Schmidt-Hieber C, Jonas P, Bischofberger J. 2004. Enhanced synaptic plasticity in newly generated granule cells of the adult hippocampus. *Nature* 429(6988):184–7.
- Sheline YI. 1996. Hippocampal atrophy in major depression: a result of depression-induced neurotoxicity? *Mol Psychiatry* 1(4):298–9.
- Soumier A, Banasr M, Lortet S, Masméjean F, Bernard N, Kerkerian-Le-Goff L, and others. 2009. Mechanisms contributing to the phase-dependent regulation of neurogenesis by the novel antidepressant, agomelatine, in the adult rat hippocampus. *Neuropsychopharmacology* 34(11):2390–403.
- Suh H, Consiglio A, Ray J, Sawai T, D'Amour KA, Gage FH. 2007. In vivo fate analysis reveals the multipotent and self-renewal capacities of Sox2+ neural stem cells in the adult hippocampus. *Cell Stem Cell* 1(5):515–28.
- Surget A, Saxe M, Leman S, Ibarguen-Vargas Y, Chalon S, Griebel G, and others. 2008. Drug-dependent requirement of hippocampal neurogenesis in a model of depression and of antidepressant reversal. *Biol Psychiatry* 64(4):293–301.
- Tashiro A, Makino H, Gage FH. 2007. Experience-specific functional modification of the dentate gyrus through adult neurogenesis: a critical period during an immature stage. *J Neurosci* 27(12):3252–9.
- Taupin P. 2007. BrdU immunohistochemistry for studying adult neurogenesis: paradigms, pitfalls, limitations, and validation. *Brain Res Rev* 53(1):198–214.
- Toni N, Teng EM, Bushong EA, Aimone JB, Zhao C, Consiglio A, and others. 2007. Synapse formation on neurons born in the adult hippocampus. *Nat Neurosci* 10(6):727–34.
- van Praag H, Shubert T, Zhao C, Gage FH. 2005. Exercise enhances learning and hippocampal neurogenesis in aged mice. *J Neurosci* 25(38):8680–5.
- Videbech P, Ravnkilde B. 2004. Hippocampal volume and depression: a meta-analysis of MRI studies. *Am J Psychiatry* 161(11):1957–66.
- Wang JW, David DJ, Monckton JE, Battaglia F, Hen R. 2008. Chronic fluoxetine stimulates maturation and synaptic plasticity of adult-born hippocampal granule cells. *J Neurosci* 28(6):1374–84.
- Warner-Schmidt JL, Duman RS. 2007. VEGF is an essential mediator of the neurogenic and behavioral actions of antidepressants. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104(11):4647–52.
- Wong ML, Licinio J. 2001. Research and treatment approaches to depression. *Nat Rev Neurosci* 2(5):343–51.
- Zhao C, Deng W, Gage FH. 2008. Mechanisms and functional implications of adult neurogenesis. *Cell* 132(4):645–60.
- Zhao C, Teng EM, Summers RG Jr, Ming GL, Gage FH. 2006. Distinct morphological stages of dentate granule neuron maturation in the adult mouse hippocampus. *J Neurosci* 26(1):3–11.

ANNEXE 2

Mécanismes des effets comportementaux
de type anxiolytique/ antidépresseur de la fluoxétine(Prozac®)

Implication de la neurogenèse hippocampique



Mécanismes des effets comportementaux de type anxiolytique/ antidépresseur de la fluoxétine (Prozac®)

Implication de la neurogenèse hippocampique

Quentin Rainer, Alain M. Gardier, René Hen, Denis J. David

Q. Rainer, A.M. Gardier, D.J. David :
Université Paris-Sud EA 3544,
Faculté de pharmacie,
92296 Châtenay-Malabry Cedex, France.
R. Hen : Department of Psychiatry,
Department of Neuroscience,
Columbia University, New York,
NY 10032, États-Unis.
denis.david@u-psud.fr

La dépression et l'anxiété sont les principales causes d'incapacité dans le monde et leur prévalence est élevée, 7 à 20 % chez l'homme et 11 à 27 % chez la femme. Les inhibiteurs sélectifs de recapture de la sérotonine (ISRS) sont les médicaments les plus couramment prescrits dans le traitement de la dépression et de plusieurs troubles anxieux, dont l'anxiété généralisée. Leur découverte représente un progrès important, mais beaucoup de questions restent en suspens concernant les mécanismes moléculaires et cellulaires qui sous-tendent leurs effets, également l'étiologie de ces troubles. Les modèles animaux d'anxiété/dépression sont fréquemment utilisés pour le criblage de nouveaux composés. De nombreuses incertitudes demeurent sur l'efficacité de ces modèles et leur pertinence clinique [1]. Il n'existe naturellement pas d'animaux se trouvant dans un « état dépressif » et, en clinique humaine, les antidépresseurs induisent très peu d'effets chez les individus sains. Un modèle animal pertinent doit répondre à plusieurs critères : une validité prédictive (les traitements efficaces en clinique doivent l'être dans le modèle), une validité phénoménologique (le modèle est capable d'induire les symptômes de la pathologie), une validité théorique (la place du modèle par rapport au cadre théorique). Certains de ces modèles peuvent s'avérer assez efficaces, du fait de leur bonne validité prédictive lors

de tests de criblage en pharmacologie, mais demeurent insuffisants en ce qui concerne l'étude de la physiopathologie de la dépression et des mécanismes d'action des traitements. Sur la base de ces différentes validités, le stress modéré chronique (CMS) chez le rongeur, initialement développé par Willner (*voir Encadré*), représente le modèle animal le plus approprié pour étudier aussi bien la physiopathologie des troubles de l'humeur que leur traitement. Ce modèle animal est très pertinent puisqu'il permet d'induire des états comportementaux proches des symptômes observés dans la dépression chez l'Homme [2], notamment une dérégulation de l'axe hypothalamo-hypophysaire (HH) et donc une augmentation des concentrations plasmatiques de corticostérone¹ chez les animaux [3]. Une alternative intéressante à ce modèle consiste à administrer directement aux animaux un excès de corticostérone exogène par voie orale.

Modélisation de l'état anxieux et dépressif chez l'animal

Dans notre étude, nous avons modélisé un état anxiodépressif chez la souris par un excès de glucocorticoïdes (modèle CORT, *Figure 1*), afin d'étudier les conséquences comportementales,

cellulaires et moléculaires de l'administration chronique d'antidépresseurs (ISRS : la fluoxétine et un tricyclique : l'imipramine). Nous montrons, grâce à des tests prédictifs de l'activité de ces médicaments, qu'un traitement chronique avec chacun de ces antidépresseurs bloque les altérations comportementales induites par une exposition à long terme à la corticostérone [4]. Il est aussi important de noter que ce modèle CORT reproduit les observations faites chez l'Homme, en ce sens que les antidépresseurs n'ont généralement pas d'effets majeurs chez les patients qui ne sont pas cliniquement déprimés.

Traitement antidépresseur et neurogenèse hippocampique

En outre, nous avons utilisé ce modèle CORT pour faire le lien entre le phénotype comportemental résultant de l'administration d'antidépresseurs et les conséquences cellulaires et moléculaires, notamment sur la neurogenèse hippocampique chez la souris adulte. Des résultats récents suggèrent que cette neurogenèse est nécessaire à l'apparition des effets comportementaux des ISRS chez les rongeurs adultes [5-7]. Fait intéressant, lorsque nous avons étudié différentes étapes de la neurogenèse (prolifération et maturation), la fluoxétine s'est révélée être beaucoup plus efficace chez les animaux traités par de la corticostérone (modèle CORT). Ce

¹ Corticostérone ou le cortisol chez l'Homme : hormone produite dans la glande surrénale en réponse au stress.

Stress modéré chronique (CMS) : le CMS consiste en l'exposition de rongeurs à divers paramètres de stress sociaux et environnementaux, de faible intensité, qui sont réalisés suivant une séquence aléatoire. Les effets induits par le CMS peuvent être prévenus par un traitement antidépresseur chronique.

Le test de champ (OF) ouvert : c'est l'un des plus utilisés en psychopharmacologie. Il est réalisé en plaçant l'animal dans une cage de 1 600 cm², ouverte pendant 30 minutes. Les mouvements de l'animal sont mesurés par un système par infrarouge (*activity monitor*, Sandown Scientific, United Kingdom) [13]. L'*open-field* est aussi un modèle animal utilisé afin de prédire une activité de type anxiolytique. Pour cela, une aire virtuelle représentant un carré de 12,3 cm de côté est définie. En général, les animaux présentent un haut degré d'évitement de l'aire centrale par rapport à la périphérie. Les anxiolytiques comme les benzodiazépines augmentent le nombre d'entrées et le temps passé dans l'aire centrale. Au final, les variables mesurées dans l'*open-field* sont l'activité ambulatoire totale, le nombre d'entrées dans l'aire centrale, le temps passé dans le centre de l'arène et le nombre de redressements. Ce modèle peut aussi être utilisé pour une mesure simple de l'activité locomotrice et donc permettre également l'interprétation du test de la nage forcée, afin de rechercher les effets sédatifs ou hyperlocomoteurs éventuels des antidépresseurs. Il est utilisé également pour mettre en évidence l'effet anxiogénique d'un ISRS administré à dose unique et son effet anxiolytique après administration chronique.

Novelty suppressed feeding (NSF) : il s'agit d'un test de conflit dans lequel est présenté à un animal privé d'alimentation un granulé de nourriture placé au centre d'une enceinte éclairée, ouverte. Ce paradigme provoque un comportement conflictuel chez la souris, entre la volonté de se nourrir (à jeun depuis 24 heures) et la peur de s'aventurer au centre du compartiment fortement éclairé. La variable mesurée est la latence à se nourrir. Les souris étant privées de nourriture 24 heures avant le test, nous nous assurons aussi que l'effet observé est bien un effet antidépresseur-like en vérifiant que la consommation de nourriture dans la propre cage de la souris n'est pas modifiée par la molécule testée.

résultat suggère que dans des conditions de stress chronique, un nouvel état physiologique particulier s'installe, et faciliterait l'action d'une augmentation de sérotonine dont l'effet sur la neurogenèse serait plus important que dans des conditions normales. Dans un deuxième temps, nous avons disséqué les effets comportementaux d'un ISRS selon qu'ils font ou non intervenir un processus de neurogenèse. Cela revenait à poser la question suivante : la stimulation de la fluoxétine sur la neurogenèse est-elle nécessaire et/ou suffisante pour induire des effets comportementaux ?

Pour répondre à cette question nous avons éliminé sélectivement la neurogenèse chez la souris adulte par irradiation sélective de l'hippocampe par les rayons X, technique mise au point par l'équipe du Professeur R. Hen à New York [5]. Cette approche nous a permis de montrer que, lorsque la neurogenèse

hippocampique est supprimée dans le modèle CORT, la fluoxétine induit des effets comportementaux dans un seul des tests utilisés, le test de l'*open field* (OF) (voir Encadré) alors que l'effet de type anxiolytique-antidépresseur dans un autre test, le *novelty suppressed feeding* (NSF) (voir Encadré) est supprimé. Ces résultats originaux permettent donc de proposer un nouveau concept : les effets de type anxiolytique-antidépresseur d'un seul et même médicament, la fluoxétine, interviennent à la fois par des mécanismes dépendants et indépendants, du processus de neurogenèse (en accord avec [6]). Si les effets de la fluoxétine sont relayés par des mécanismes distincts, se pose la question de l'application du même raisonnement aux effets thérapeutiques de la fluoxétine. Les antidépresseurs peuvent-ils agir par l'intermédiaire d'effets convergents, certains

agissant sur les fonctions cognitives et d'autres sur l'humeur ? Peut-on distinguer dans le cerveau les effets des antidépresseurs sur l'hippocampe et sur d'autres structures limbiques ? Une telle dissociation a été suggérée [8] : les effets des antidépresseurs sur l'humeur seraient indépendants d'un processus de neurogenèse, tandis que les effets sur l'anxiété seraient plutôt neurogenèse-dépendants. Ces questions ont toutes leur importance, surtout pour les laboratoires pharmaceutiques souhaitant développer des médicaments plus efficaces et mieux tolérés. Il sera donc important de déterminer rapidement si de nouveaux composés qui stimuleraient directement la neurogenèse hippocampique [9] seraient aussi efficaces que les antidépresseurs actuels ou amélioreraient seulement des déficits cognitifs.

Un rôle pour la β -arrestine dans l'effet de la fluoxétine

Conformément à l'idée que l'essentiel des effets antidépresseurs s'exerce dans

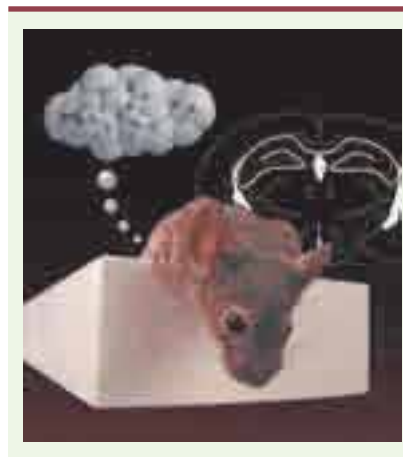


Figure 1. Modélisation de l'anxiété/dépression chez la souris. Cette photo représente une souris penchée au-dessus d'un bras ouvert, dans le test du labyrinthe en croix surélevé, test classique pour mesurer l'anxiété. Le nuage de pensée dévoile la structure moléculaire de la corticostérone, utilisée dans notre modélisation d'un état d'anxiété/dépression. Nos résultats montrent que l'hippocampe est impliqué dans certaines réponses aux antidépresseurs.

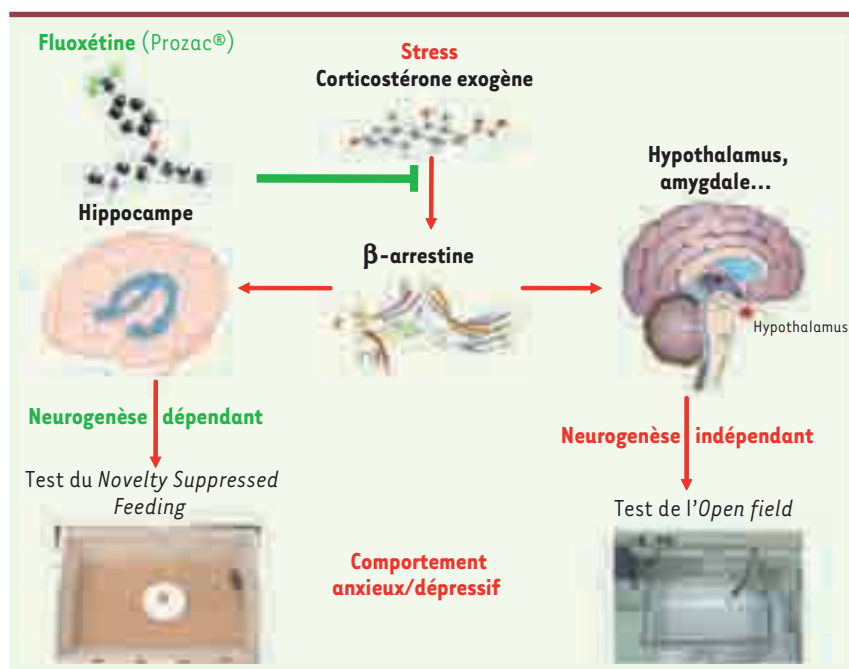


Figure 2. Schéma synthétique expliquant le mécanisme d'action du Prozac® dans le modèle d'anxiété/dépression basé sur l'élévation des concentrations en glucocorticoïdes. Ce schéma représente l'effet du stress prolongé par administration de corticostérone exogène sur l'expression de la β -arrestine, différentes structures cérébrales, ainsi que les modifications comportementales dans les tests. La fluoxétine corrige l'état anxiodépressif et la diminution de l'expression de β -arrestine induits par la corticostérone, en empruntant des circuits dépendants ou non de la neurogenèse. Les flèches rouges représentent les voies et effets du stress. La flèche verte représente l'effet de la fluoxétine sur le réseau dans des conditions de stress.

plusieurs régions du cerveau, nous avons ainsi montré que, dans un modèle expérimental faisant intervenir une élévation des concentrations plasmatiques de corticostérone, un traitement chronique par la fluoxétine entraîne des effets sur l'expression des gènes, non seulement dans l'hippocampe, mais aussi dans l'hypothalamus et l'amygdale. D'autres études ont préalablement suggéré que la fluoxétine exerce des fonctions extra-hippocampiques, par exemple la restauration de la plasticité dans le cortex visuel [10]. Fait intéressant, nos résultats d'expression génique ont démontré que le traitement chronique par de la corticostérone permet d'étudier les mécanismes moléculaires qui sous-tendent l'anxiété et la dépression. En effet, parmi les gènes d'intérêt étudiés, seuls trois d'entre eux, intervenant dans des voies de signalisation ont montré des changements d'expression, dont celui codant pour la β -arrestine. Ainsi, dans l'hypothalamus, alors qu'un traitement par de la corticostérone réduit l'expression de β -arrestine chez la souris, un traitement par de la fluoxétine rétablit une expression physiologique. Nous avons focalisé nos travaux sur le rôle de la β -arrestine, en faisant l'hypothèse

que c'est un déterminant moléculaire potentiel des effets de la fluoxétine ; nous avons utilisé un modèle de souris génétiquement modifiées, dont le gène codant la β -arrestine 2 est invalidé (la mutation de la β -arrestine 1 est létale). Les résultats antérieurs de l'équipe de Marc Caron suggéraient que ces souris β -arrestine 2 *knock-out* peuvent avoir un phénotype anxieux [11]. Dans cette étude, les auteurs avaient proposé que les effets du lithium, un médicament utilisé dans le traitement des troubles bipolaires, passent par l'activation de la voie β -arrestine 2/Akt/GSK3 β . Dans notre étude, nous avons constaté que les souris β -arrestine 2 *knock-out*, dans la plupart des tests de comportement, sont insensibles à un traitement chronique avec la fluoxétine [4]. Nos résultats confirment que les effets de la fluoxétine chez la souris passent par l'activation de la voie β -arrestine (Figure 2). Au final, ces résultats font émerger l'idée de l'existence de mécanismes communs, permettant à la fois la réponse au traitement des troubles bipolaires et de la dépression majeure unipolaire. Ces pathologies pourraient être liées par des déterminants génétiques communs, comme par exemple un modulateur du

récepteur des glucocorticoïdes (GR), le FKBP5 (*FK506 binding protein 5*)² [12]. ♦

Neurogenesis-dependent and independent effects of anti-depressant drugs

CONFLIT D'INTÉRÊTS

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

RÉFÉRENCES

1. Langui D, Lachapelle F, Duyckaerts C. Modèles animaux des maladies neuro-dégénératives. *Med Sci (Paris)* 2007 ; 23 : 180-6.
2. Holsboer F. How can we realize the promise of personalized antidepressant medicines? *Nat Rev Neurosci* 2008 ; 9 : 638-46.
3. Grippo AJ, Sullivan NR, Damjanoska KJ, et al. Chronic mild stress induces behavioral and physiological changes, and may alter serotonin 1A receptor function, in male and cycling female rats. *Psychopharmacology* 2005 ; 179 : 769-80.
4. David DJ, Samuels BA, Rainer Q, et al. Neurogenesis-dependent and independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. *Neuron* 2009 ; 62 : 479-93.
5. Santarelli L, Saxe M, Gross C, et al. Requirement of hippocampal neurogenesis for the behavioral effects of antidepressants. *Science* 2003 ; 301 : 805-9.

² Le tacrolimus, ou FK506, est un médicament immunosuppresseur utilisé en transplantation d'organes découvert en 1984. C'est un produit naturel de l'actinomycète (champignon microscopique).

6. Surget A, Saxe M, Lema n S, et al. Drug-dependent requirement of hippocampal neurogenesis in a model of depression and of antidepressant reversal. *Biol Psych* 2008 ; 64 : 293-301.
7. Wang JW, David DJ, Monckton JE, et al. Chronic fluoxetine stimulates maturation and synaptic plasticity of adultborn hippocampal granule cells. *J Neurosci* 2008 ; 28 : 1374-84.
8. Bessa JM, Ferreira D, Melo I, et al. The mood-improving actions of antidepressants do not depend on neurogenesis but are associated with neuronal remodeling. *Mol Psychiatry* 2009 ; 14 : 764-73.
9. Gourley SL, Kiraly DD, Howell JL, et al. Acute hippocampal brain-derived neurotrophic factor restores motivational and forced swim performance after corticosterone. *Biol Psych* 2008 ; 63 : 353-9.
10. Maya Vetencourt JF, Sale A, Viegi A, et al. Maffeu L. The antidepressant fluoxetine restores plasticity in the adult visual cortex. *Science* 2008 ; 320 : 385-8.
11. Beaulieu JM, Marion S, Rodriguiz RM, et al. A beta-arrestin 2 signaling complex mediates lithium action on behavior. *Cell* 2008 ; 132 : 125-36.
12. Willour VL, Chen H, Toolan J, et al. Family-based association of FKBP5 in bipolar disorder. *Mol Psychiatry* 2009 ; 14 : 261-8.
13. Dulawa SC, Holick KA, Gundersen B, Hen R. Effects of chronic fluoxetine in animal models of anxiety and depression. *Neuropsychopharmacology* 2004 ; 29 : 1321-30.

NOUVELLE

Pluripotence : une définition à géométrie variable

Laure Coulombel

Médecine/Sciences et Inserm U935,
Hôpital Paul Brousse,
94817 Villejuif Cedex, France.
laure.coulombel@inserm.fr

➤ Affirmer la pluripotence d'une cellule n'est pas chose simple ; de multiples critères existent (Tableau 1), qui n'ont pas la même valeur, ce qui entretient un certain « laxisme » dans la définition de cette propriété [1]. Les puristes n'accorderont ce label qu'aux cellules capables de former, à elles seules, un individu entier viable et fertile, et du bout des lèvres à celles qui contribuent « uniquement » à la formation de chimères post-natales fertiles. Critères impossibles à valider chez l'homme, et, de fait, beaucoup se refusent à qualifier de pluripotentes les cellules souches embryonnaires (CSE) humaines ou les cellules reprogrammées humaines de type iPS (*induced pluripotent stem cells*). Les moins exigeants se satisferont de critères phénotypiques : pour eux, une cellule qui, dans différentes conditions de culture, exprime des marqueurs de tissus dérivés des trois feuillets embryonnaires (ectoderme, endoderme, mésoderme) sera déclarée « pluripotente ». Ce n'est évidemment pas suffisant compte tenu de l'expression souvent « aberrante » de beaucoup de protéines en culture ; il faudrait au minimum démontrer que la cellule exprimant ces marqueurs phénotypiques d'un tissu *in vitro* est capable d'effectuer une fonction caractéristique de ce tissu dans un modèle *in vivo* ; chez l'homme, on se

heurte à nouveau aux limites des systèmes xénogéniques, la transplantation de cellules humaines à des souris, aussi immunodéprimées soient-elles (modèle le plus fréquemment utilisé), étant loin de refléter leur fonction physiologique chez l'humain. Cela pose avec acuité la question du choix de modèles précliniques acceptables pour l'évaluation de cellules pluripotentes humaines dans une perspective thérapeutique. Actuellement les essais les plus probants sont faits chez le singe, en situation allogénique, avec toutes les contraintes qu'impose le développement de cellules pluripotentes dans cette espèce [2]. Dans le cas des CSE (ou iPS), murines ou humaines, la formation de tératomes chez la souris immunodéficiente est un compromis acceptable pour définir la pluripotence d'une population. Mais il faut que l'analyse histologique et histo-chimique reconnaisse dans ces tumeurs des structures tissulaires caractéristiques (épithélium, glandes, vaisseaux, etc.) issues de la différenciation des 3 feuillets embryonnaires [3]. La capacité de créer une organisation tissulaire complexe, même anarchique, représente en effet un argument supplémentaire de pluripotence par rapport à la seule expression cellulaire d'un potentiel de différenciation dans une boîte de culture.

Une étape supplémentaire, inapplicable aux cellules humaines, exploite la capacité qu'ont ces CSE et iPS, greffées dans un blastocyste préimplantatoire, de contribuer, une fois les blastocystes « chimères » réimplantés dans des femelles pseudo-gestantes, à l'établissement d'animaux chimères viables et fertiles (Figure 1) [4-6]. Remises dans leur environnement d'origine, la masse interne des blastocystes, ces CSE reprennent en quelque sorte le cours de leur histoire naturelle là où elle s'était arrêtée lorsqu'on avait dissocié ces blastocystes pour l'établissement des lignées. Dans le cas des cellules somatiques reprogrammées (iPS), beaucoup d'eau a passé sous les ponts, depuis le stade blastocyste, et c'est une histoire complètement nouvelle qu'entament ces cellules. Dans ces chimères, la plupart des tissus, y compris les cellules germinales, contiennent des cellules différenciées issues des CSE (ou iPS) ; mais cette stratégie ne prouve pas que ces cellules peuvent assurer, seules, sans le support des cellules du blastocyste hôte, le développement d'animaux viables, entièrement dérivés des CSE ou iPS. Le croisement de souris chimères certes aboutira à des sourceaux entièrement dérivés des CSE ou iPS, mais dans ce cas, on analyse le potentiel des gamètes plus que celui des CSE ou iPS.

Effets comportementaux et neurogéniques des antidépresseurs dans un nouveau modèle d'anxiété/dépression chez la Souris adulte

Les pathologies dépressives se caractérisent par des symptômes hétérogènes impliquant de nombreuses régions cérébrales. L'une d'entre elles, l'hippocampe, est le siège d'un processus physiologique, appelé neurogenèse, qui, chez l'adulte, serait impliqué dans l'étiologie de la dépression et la réponse au traitement antidépresseur. L'objectif de ce travail a été d'étudier le rôle des 4 étapes du processus de neurogenèse hippocampique dans l'action des antidépresseurs dans un modèle physiopathologique de la dépression, chez la Souris adulte.

Mots-clefs

Dépression ; Anxiété ; Neurogenèse ; Hippocampe ; Antidépresseur ; Agomélatine ; Sérotonine ; Corticostérone ; Modèle animal.

PÔLE : Toxicologie et Pharmacologie

EA3544 « Sérotonine et Neuropharmacologie »

UNIVERSITÉ PARIS-SUD 11

UFR «FACULTÉ DE PHARMACIE DE CHATENAY-MALABRY »

5, rue Jean Baptiste Clément

92296 CHÂTENAY-MALABRY Cedex